UNIVERSIDAD DE MURCIA

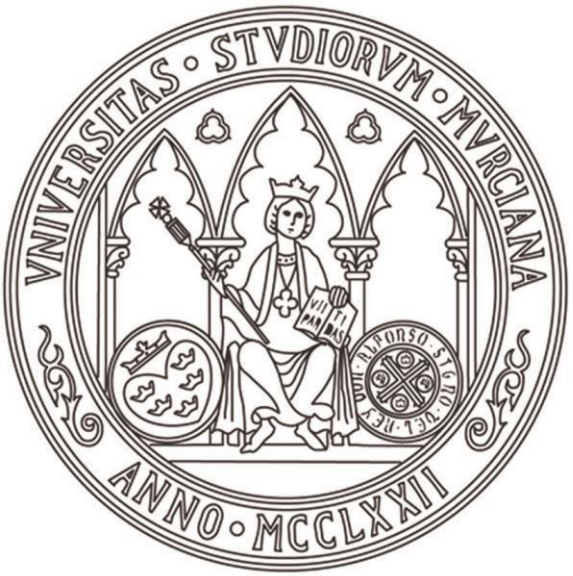
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Factores pronósticos de gravedad dependientes del huésped en la infección por SARS-CoV-2.

D.ª Ana María Piqueras Sánchez

2024



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Factores pronósticos de gravedad dependientes del huésped en la infección por SARS-CoV-2.

Autor: D.ª Ana María Piqueras Sánchez

Director/es: D. José Antonio Díaz Manzano y D. Diego Hellín Meseguer

UNIVERSIDAD DE
MURCIA

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Ana María Piqueras Sánchez

doctorando del Programa de Doctorado en

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Factores pronósticos de gravedad dependientes del huésped en la infección por SARS-CoV-2

y dirigida por,

D./Dña. José Antonio Díaz Manzano

D./Dña. Diego Hellín Meseguer

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 6 de septiembre de 2024

Fdo.: Ana María Piqueras Sánchez

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Claudio y Encarni, mis hermanos Claudio, Daniel, David y Marina, mi tío Paco y al resto de mi familia que me ha apoyado en todo momento en este gran proyecto y han favorecido a su desarrollo brindándome su ayuda siempre que la he necesitado.

A mi prima Elena, por estar presente en todo momento, aunque sea en la distancia, por transmitirme sus ánimos, su apoyo incondicional y creer en mi para realizar este proyecto.

Al doctor José Antonio Díaz Manzano por dirigir e idear con tanta ilusión aquel día durante una guardia en el confinamiento este proyecto y al doctor Diego Hellín Meseguer, por dirigir esta tesis.

A mi querido amigo José, por su fundamental y gran ayuda, porque sin él esta tesis no habría podido salir adelante.

Al doctor Juan Cabezas por su ayuda en el análisis y procesamiento de los receptores nasales.

A los doctores Enrique Bernal y Alfredo Minguela por brindarme su base de datos de su proyecto previo, de donde pude obtener mi base de datos final.

A mis compañeros del servicio de Otorrinolaringología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, por ayudarme a obtener la muestra necesaria para mi base de datos.

A mis amigos, por creer y confiar en mí. Porque gracias a vuestros ánimos este trabajo ha podido salir adelante.

A todos los pacientes que aceptaron de forma altruista participar en este estudio.

Gracias a todos los que habéis sido partícipes de este proyecto y lo habéis hecho posible.

“El científico encuentra su recompensa en lo que Henri Poincare llama placer de la comprensión, y no en las posibilidades de aplicación que cualquier descubrimiento pueda conllevar”.

Albert Einstein

RESUMEN

Introducción: El virus de SARS-CoV-2 es un virus ARN monocatenario procedente de la familia Coronaviridae, de reciente descubrimiento, que ocasionó una pandemia global provocando muchas muertes en todo el mundo. Este tipo de virus entra en las células que finalmente serán infectadas gracias a las enzimas ACE2, TMPRSS2, furina y NRP-1. Dentro de la variedad de síntomas de esta enfermedad se encuentra la disfunción olfatoria y la disgeusia, que se han categorizado dentro de las afectaciones leves.

Justificación: La aparición de esta enfermedad genera un amplio campo de estudio en cuanto a la patogenia, clínica, diagnóstico y tratamiento, por lo que se necesitan estudios que analicen este virus con el fin de encontrar métodos preventivos y tratamientos que consigan hacer frente al SARS-CoV-2.

Objetivos: El objetivo de este proyecto es realizar una cuantificación relativa de la expresión de la ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1 en el epitelio nasal o faríngeo de pacientes diagnosticados de COVID-19 y correlacionarlo con la gravedad de la enfermedad según la Escala de la Gravedad propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la disgeusia y la disfunción olfatoria, así como valorar este último síntoma comparándolo con variables demográficas (edad, sexo y raza), clínicas (estancia en UCI, tabaco, HTA, DM y asma) y analíticas (carga viral, dímero D, grupo sanguíneo y gen 2DS4).

Material y métodos: Se realizó un estudio analítico observacional transversal y multicéntrico, con una muestra de 104 pacientes procedentes de la Región de Murcia que padecieron la enfermedad por COVID-19 en el año 2020. Se empleó la prueba de Shapiro-Wilk y modelos lineales con distribución binomial para explorar las asociaciones entre el número de receptores y su estatus con la necesidad de ventilación mecánica, presentar disfunción olfatoria y disgeusia. Para la comparación de la disfunción olfatoria con las variables previamente mencionadas se realizó la prueba exacta de Fisher para las variables cualitativas y un análisis de regresión logística binaria para las variables cuantitativas.

Resultados: Ninguno de los receptores analizados mostraron resultados significativos respecto a la gravedad, excepto los valores medios de ACE2 y NRP1, que se asociaron a una enfermedad leve. Tampoco se obtuvieron hallazgos significativos en la asociación de los cuatro receptores y la presencia de disfunción olfatoria y disgeusia. Las mujeres, los jóvenes y los normotensos presentaron mayor grado de disfunción olfatoria.

Discusión: Los resultados sugieren que no hay significancia estadística entre el número de receptores nasales y la gravedad de la enfermedad por COVID-19 que podría verse afectado por el tamaño muestral, aunque algunos hallazgos tiendan a relacionarse con el aumento de gravedad al hacerlo el número de receptores, como la furina. ACE2 y NRP1 mostraron una asociación estadísticamente significativa en la probabilidad de padecer una enfermedad leve, en contra de los hallazgos referenciados en la literatura. En cuanto a la disfunción olfatoria y disgeusia, al no obtener resultados concluyentes, no podemos afirmar que estos receptores sean clave para el desarrollo de estos síntomas, aunque esto podría verse afectado por otros factores externos no analizados en nuestro estudio. Al analizar la disfunción olfatoria en nuestra muestra, se observó una menor incidencia en hombres, personas mayores e hipertensos, coincidiendo con estudios previos.

Conclusiones: Los valores medios de ACE2 y NRP1 resultaron ser factores protectores frente a la gravedad del COVID-19. En la disfunción olfatoria no se obtuvieron hallazgos significativos comparándolos con variables sociodemográficas, clínicas y analíticas que pudieran estar relacionadas con la aparición de este síntoma, excepto en personas normotensas, el sexo femenino y ser joven, que resultaron ser más prevalentes en los pacientes con disfunción olfatoria.

ABSTRACT

Introduction: The SARS-CoV-2 virus, a single-stranded RNA virus from the Coronaviridae family. It triggered a global pandemic, leading to a significant number of deaths worldwide. This virus enters infected cells through interactions with the ACE2, TMPRSS2, furin, and NRP1 enzymes. Among the symptoms, olfactory dysfunction and dysgeusia have been identified, which are generally categorized as mild manifestations of the disease.

Justification: The recent discovery of SARS-CoV-2 has led to substantial uncertainly regarding its pathogenesis, symptoms, diagnosis, and treatment. Therefore, it is crucial to conduct new studies about this virus to develop effective preventive measures and treatments against COVID-19.

Objective: The goal of this study is to quantify the levels of the expression of ACE2, TMPRSSS2, furina and NRP1 levels in the nasal or oropharyngeal epithelium in patients who had COVID-19 and correlate with disease severity as proposed by the WHO Severity Scale. Also, we compared these receptors with olfactory disfunction and dysgeusia. As well as assess the prevalence of olfactory dysfunction and some demographical (age, sex and raze), clinical (ICU, smoke status, HTA, DM, asthma) and analytic variables (viral load, dimer D, blood group and 2DS4 gen).

Material and methods: A cross-sectional observational analytical and multicentric study was carried out with a sample of 104 patients from the Region of Murcia who had COVID-19 disease in 2020. We made the Shapiro-Wilk test and linear models with binomial distribution were implemented to explore the associations of the expression of receptors and status with the need for mechanical ventilation, presenting olfactory disfunction or dysgeusia. To compare olfactory dysfunction with the variables previously mentioned, the Fisher test was performed for the qualitative variables and a logistic regression analysis test for the quantitative variables.

Results: The results suggest that there is no significant association between the expression levels of receptors and disease severity, except for the average ACE2 and NPR1 values, which play a protective role against the disease according to our study. No significant findings were observed concerning the comparison in terms of the comparison of these four receptors with the presence of olfactory dysfunction and dysgeusia. In our sample, significant differences were observed in terms of normotension, female sex, and younger patients comparing with and without olfactory dysfunction.

Discussion: Most results suggest a lack of statistical significance between the expression levels of nasal receptors and COVID-19 disease severity, which could be affected by sample size. However, some findings indicate a trend towards increased severity with higher receptor expression, such as furin. ACE2 and NRP1 demonstrated a statistically significant association in the probability of being protective factors of COVID-19 severity, against the literature. We did not obtain conclusive results for olfactory dysfunction and dysgeusia, suggesting that these receptors may not be the sole factors in the development of these symptoms. Regarding olfactory dysfunction in our analysed patients, a lower incidence was observed in hypertension, older and male sex, according to the literature.

Conclusion: Mean values of ACE2 and NRP1 were found to be protective factors against COVID-19 severity. In olfactory dysfunction, no significant findings were obtained comparing them with sociodemographic, clinical and analytic variables that could be related to the occurrence of this symptom, except in normotensive people, youth and female gender, which were more prevalent in patients with olfactory dysfunction.

ÍNDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN 21

1.1. ENFERMEDAD POR COVID-19 21

1. Microbiología 21

2. Origen 27

3. Epidemiología 29

4. Formas de contagio 34

5. Clínica 35

6. Diagnóstico 38

7. Tratamiento 46

8. Vacuna 48

9. Pandemia por COVID-19 50

1.2. RELACIÓN DE ACE2, TMPRSS2, FURINA Y NRPL1 CON COVID-19 53

1. Estructura y función de la ACE2 53

2. Estructura y función TMPRSS2 54

3. Estructura y función de la furina 56

4. Estructura y función de la NRP1 57

5. Relación de ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1 con el SARS-CoV-2 59

1.3. EL OLFATO Y SU RELACIÓN CON EL COVID-19 61

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO 66

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS 71

3.1. HIPÓTESIS 71

3.2. OBJETIVOS PRINCIPALES 71

3.3. OBJETIVOS SECUNDARIOS 71

4. MATERIAL Y MÉTODOS 74

4.1. TIPO DE ESTUDIO 74

4.2. VARIABLES 75

4.3. CRONOLOGÍA 76

4.4. POBLACIÓN DEL ESTUDIO 76

1. Criterios de inclusión 77

2. Criterios de exclusión 77

4.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA 78

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 79

1. Análisis de los receptores y la gravedad. 79

2. Análisis de la disfunción olfatoria. 81

5. RESULTADOS 84

5.1. RECEPTORES Y SU RELACIÓN CON LA GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD 84

5.2. EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CON LA PRESENCIA DE DISFUNCIÓN OLFATORIA Y DISGEUSIA. 99

5.3. ANÁLISIS DE LOS PACIENTES CON DISFUNCIÓN OLFATORIA POR COVID-19 123

6. DISCUSIÓN 144

7. LIMITACIONES 170

8. CONCLUSIONES 173

9. ANEXOS 176

9.1. ANEXO I: RESOLUCIÓN FAVORABLE DEL CEIM PARA EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN 176

9.2. ANEXO II: HOJA DE INFORMACIÓN PARA PACIENTES Y CONSENTIMIENTO INFORMADO 177

9.3. ANEXO III: PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA MUESTRA NASAL Y FARÍNGEA DE LOS PACIENTES ANALIZADOS. 184

9.4. ANEXO IV: INFORME DE VIABILIDAD DE BIOBANCO 188

9.5. ANEXO V: TEST BAST-24 190

9.6. ANEXO VI: TABLAS DE RESULTADOS CON BASE DE DATOS COMPLETA E IMPUTADA. 191

9.7. ANEXO VII: FIGURAS DE RESULTADOS SIN USAR TÉCNICAS DE IMPUTACIÓN MÚLTIPLE. 198

10. BIBLIOGRAFÍA 223

LISTA DE TABLAS

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variantes del COVID-19. 23

Tabla 2. Factores de riesgo para la enfermedad grave por COVID-19. 32

Tabla 3. Síntomas del COVID-19. 36

Tabla 4. Causas de falsos negativos y falsos positivos en PCR. 39

Tabla 5. Grado de recomendación de las diferentes pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2. 40

Tabla 6. Pruebas diagnósticas del COVID-19. 44

Tabla 7. Vacunas contra el COVID-19. 49

Tabla 8. Escala de Gravedad según la Organización Mundial de la Salud. 74

Tabla 9. Datos descriptivos de los pacientes de estudio. 86

Tabla 10. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y gravedad del COVID según la Escala de la Organización Mundial de la Salud en pacientes 92

Tabla 11. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y gravedad del COVID según la Escala de la Organización Mundial de la Salud en pacientes 98

Tabla 12. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y disfunción olfatoria en pacientes. 104

Tabla 13. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y disfunción olfatoria en pacientes. 110

Tabla 14. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y disgeusia en pacientes. 116

Tabla 15. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y disgeusia en pacientes. 122

Tabla 16. Regresión logística binaria para disfunción olfatoria y la edad. 123

Tabla 17. Disfunción olfatoria y sexo. 124

Tabla 18. Prueba exacta de Fisher en comparación con disfunción olfatoria y sexo. 125

Tabla 19. Disfunción olfatoria y raza. 126

Tabla 20. Prueba exacta de Fisher de disfunción olfatoria y raza 126

Tabla 21. Días de duración de la disfunción olfatoria 127

Tabla 22. Disfunción olfatoria y estancia en UCI. 128

Tabla 23. Prueba exacta de Fisher de disfunción olfatoria y estancia en UCI. 128

Tabla 24. Disfunción olfatoria y hábito tabáquico. 130

Tabla 25. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y hábito tabáquico. 130

Tabla 26. Disfunción olfatoria e HTA. 132

Tabla 27. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y HTA. 132

Tabla 28. Disfunción olfatoria y DM. 134

Tabla 29. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y DM. 134

Tabla 30. Disfunción olfatoria y asma 136

Tabla 31. Prueba exacta de Fisher en relación con asma y disfunción olfatoria. 136

Tabla 32. Regresión logística binaria para disfunción olfatoria y dímero D. 138

Tabla 33. Regresión logística binaria para disfunción olfatoria y carga viral. 139

Tabla 34. Disfunción olfatoria y grupo sanguíneo 140

Tabla 35. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y el grupo sanguíneo. 140

Tabla 36. Disfunción olfatoria y Gen 2DS4. 142

Tabla 37. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y el gen 2DS4. 142

Tabla 38. Tipos de reactivos empleados para la medición de las muestras. 185

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2. 24

Figura 2. Patogénesis del SARS-CoV-2. 27

Figura 3. Probable origen del SARS-CoV-2. 28

Figura 4. Periodos medios de transmisibilidad según la gravedad de los casos de COVID-19 y periodos de detección de RNA de SARS-CoV-2 mediante PCR y de anticuerpos mediante técnicas serológicas. 41

Figura 5. Estimación de la detección en test del SARS-CoV-2 en relación con el tiempo de inicio de síntomas. 41

Figura 6. Datos sobre la vacunación del COVID-19 en España. 50

Figura 7. Cronología de eventos clave en la pandemia del COVID-19. 51

Figura 8. Promedio móvil de 7 días de los nuevos casos confirmados de COVID-19 por continente. 52

Figura 9. Estructura de la ACE2. 53

Figura 10. Estructura de la TMPRSS2. 55

Figura 11. Estructura de la furina. 57

Figura 12. Estructura de la neuropilina-1 (NRP1). 58

Figura 13. Furina y ventilación con técnicas de imputación múltiple. 88

Figura 14. ACE2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple. 89

Figura 15. NRP1 y ventilación con técnicas de imputación múltiple. 90

Figura 16. TMPRSS2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple. 91

Figura 17. Estatus del nivel de furina y ventilación con técnicas de imputación múltiple. . 94

Figura 18. Estatus de niveles de ACE2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple. 95

Figura 19. Estatus de niveles de NRP1 y ventilación usando técnicas de imputación múltiple. 96

Figura 20. Estatus de niveles de TMPRSS2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple. 97

Figura 21. Furina y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple. 100

Figura 22. ACE2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple..... 101

Figura 23. NRP1 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple. 102

Figura 24. TMPRSS2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple. 103

Figura 25. Estatus de furina y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.. 106

Figura 26. Estatus de ACE2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple. 107

Figura 27. Estatus de NRP1 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple. 108

Figura 28. Estatus de TMPRSS2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple. 109

Figura 29. Furina y disgeusia con técnicas de imputación múltiple..... 112

Figura 30. ACE y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 113

Figura 31. NRP1 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 114

Figura 32. TMPRSS2 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 115

Figura 33. Estatus de niveles de furina y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 118

Figura 34. Estatus de niveles de ACE2 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 119

Figura 35. Estatus de niveles de NRP1 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 120

Figura 36. Estatus de niveles de TMPRSS2 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple. 121

Figura 37. Edad y disfunción olfatoria. 124

Figura 38. Sexo y disfunción olfatoria. 125

Figura 39. Raza y disfunción olfatoria. 127

Figura 40. UCI y disfunción olfatoria. 129

Figura 41. Estatus de fumador y disfunción olfatoria. 131

Figura 42. HTA y disfunción olfatoria. 133

Figura 43. DM y disfunción olfatoria. 135

Figura 44. Asma y disfunción olfatoria. 137

Figura 45. Dímero D y disfunción olfatoria. 138

Figura 46. Carga viral y disfunción olfatoria. 139

Figura 47. Grupo Sanguíneo y disfunción olfatoria. 141

Figura 48. Gen 2DS4 y disfunción olfatoria. 142

Figura 49. Furina y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 198

Figura 50. ACE2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 199

Figura 51. NRP1 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 200

Figura 52. TMPRSS2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 201

Figura 53. Estatus de niveles de furina y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 202

Figura 54. Estatus de niveles de ACE2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 203

Figura 55. Estatus de niveles de NRP1 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 204

Figura 56. Estatus de niveles de TMPRSS2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple. 205

Figura 57. Furina y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple..... 206

Figura 58. ACE2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple. 207

Figura 59. NRP1 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple. 208

Figura 60. TMPRSS2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple..... 209

Figura 61. Estatus de niveles de furina y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple. 210

Figura 62. Estatus de niveles de ACE2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple. 211

Figura 63. Estatus de niveles de NRP1 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple. 212

Figura 64. Estatus de niveles de TMPRSS2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple. 213

Figura 65. Furina y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 214

Figura 66. ACE2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple..... 215

Figura 67. NRP1 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 216

Figura 68. TMPRSS2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 217

Figura 69. Estatus de niveles de furina y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 218

Figura 70. Estatus de niveles de ACE2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 219

Figura 71. Estatus de niveles de NRP1 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 220

Figura 72. Estatus de niveles de TMPRSS2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple. 221

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

2DS4: Gen de receptor de células Natural Killer.

ACE2: Enzima convertidora de angiotensina-2.

ADNc: ácido desoxirribonucleico.

Ag: Antígeno.

ARN: ácido ribonucleico.

ARNm: ácido ribonucleico mensajero.

BAST-24: test ssensorial validado sobre la capacidad olfativa y gustativa.

BPC: Buena Práctica Clínica.

CEIm: Comité Ético investigador Médico.

CI: intervalo de confianza.

DM: Diabetes Mellitus.

dNTPs: High-quality deoxynucleotide triphosphates.

EE. UU.: Estados Unidos.

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

EMA: Agencia Europea de Medicamentos

FCS: furin cleavage site (sitio de anclaje de la furina).

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos.

FR: Frecuencia respiratoria.

FiO2: fracción inspirada de oxígeno.

GADPH: gen Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase.

IgG: Inmunoglobulina G.

IgM: Inmunoglobulina M.

IL-6: Interleukina 6.

IMIB: Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria

$MgCl_2$: cloruro de magnesio.

Nm: nanómetro.

NRPL1: Neuropilina-1.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: odds ratio.

p: significancia estadística.

PaO2: Presión parcial de oxígeno.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

QOD-NS: Questionnaire of Olfactory Disorders - Negative Statements.

RAAS: renina-angiotensina-aldosterona.

REF: Referencia.

RI: Rango intercuartilico.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

RT: retrotranscripción.

RX: Radiografía simple de Rayos X.

SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo.

SNC: Sistema Nervioso Central.

StRf: satellite tracking toolkit for radio observations.

TAC: Tomografía Axial Computarizada.

TMPRSS2: Proteasa-serina transmembrana 2.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

VOC: variante de preocupación.

VOHC: variante de gran consecuencia.

VOI: Variante de interés.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ENFERMEDAD POR COVID-19

1. Microbiología

Coronavirus 2 es un virus ARN (ácido ribonucleico) monocatenario procedente de la familia *Coronaviridae* del orden *Nidovirale* y subfamilia *Orthocoronavirinae*, las cuales comparten una serie de características como: genomas virales muy largos, tienen una capacidad de replicación muy elevada, poseen muchas propiedades enzimáticas y cuentan con una amplia variedad de abanico ribosómico gracias a la gran cantidad de genes no estructurales que poseen (1).

La familia *Coronaviridae* incluye más de 24 especies, clasificadas con las letras α, β, λ y δ. Sin embargo, solamente las α y las β pueden ser patógenas con respecto a los humanos y mamíferos (2). Coronavirus 2 pertenece a la familia β de los *Coronaviridae*, al igual que el SARS-CoV (diagnosticado en China en 2002) y MERS-CoV (diagnosticado en la Península Arábica en 2012), los cuales provocaron dos grandes brotes en sus respectivos años de descubrimiento (1,3,4). Debido a la gran viabilidad de infectar a diferentes tipos de huéspedes y su gran diversidad genética, da lugar a que surjan numerosas mutaciones de este virus (5).

Este Coronavirus es el responsable de la enfermedad COVID-19, diagnosticada por primera vez en Wuhan (China) en el año 2019 (3,6).

En la actualidad existen 6 tipos de Coronavirus que producen un síndrome respiratorio agudo: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV y MERS-CoV. Los cuatro primeros producen un síndrome mucho menos lesivo que el SARS-CoV, MERS-CoV y el SARS-CoV-2 (2).

Actualmente, han sido detectadas numerosas variantes desde el inicio de la pandemia del SARS-CoV-2. Estas variantes poseen un mecanismo de patogenicidad similar, sin embargo, son diferentes en cuanto al grado de virulencia y de contagiosidad.

Estas se pueden clasificar dependiendo del riesgo que conlleve para la salud pública en (7):

- Variante bajo monitoreo (VBM): Aquellas con un impacto alto sobre la salud pero que ya no se detectan o circulan a niveles muy bajos. No presenta apenas riesgo para la salud pública.
- Variante de interés (VOI): son aquellas con modificaciones genéticas en la unión al receptor, con una menor eficacia frente a los anticuerpos o a los tratamientos. Aumentan considerablemente la proporción de casos.
- Variante de preocupación (VOC): Variantes con una mayor transmisibilidad con aumento de casos graves. Generan una menor efectividad de los tratamientos y/o vacunas. Son las que más están monitorizadas y las que mayor riesgo conllevan.
- Variante de gran consecuencia (VOHC): evidencia clara de un impacto significativo en las medidas de prevención, diagnóstico y tratamiento del COVID-19. Estas variantes pueden causar una reducción significativa en la efectividad de las vacunas, un incremento

en la virulencia o cambios en la presentación clínica de la enfermedad y una disminución de la efectividad de los tratamientos disponibles. Actualmente no hay variantes clasificadas bajo esta categoría.

Tabla 1. Variantes del COVID-19.

Variante	Linaje Pango	Estado Actual	Fecha de Designación
Alfa	B.1.1.7 y Q	VBM	VOC: 29 de diciembre de 2020, VBM: 21 de septiembre de 2021
Beta	B.1.351 y descendientes	VBM	VOC: 29 de diciembre de 2020, VBM: 21 de septiembre de 2021
Gamma	P.1 y descendientes	VBM	VOC: 29 de diciembre de 2020, VBM: 21 de septiembre de 2021
Delta	B.1.617.2 y descendientes	VBM	VOC: 15 de junio de 2021, VBM: 14 de abril de 2022
Épsilon	B.1.427 y B.1.429	VBM	VOC: 19 de marzo de 2021, VOI: 26 de febrero de 2021, VBM: 21 de septiembre de 2021
Eta	B.1.525	VBM	VOI: 26 de febrero de 2021, VBM: 21 de septiembre de 2021
Iota	B.1.526	VBM	VOI: 26 de febrero de 2021, VBM: 21 de septiembre de 2021
Kappa	B.1.617.1	VBM	VOI: 7 de mayo de 2021, VBM: 21 de septiembre de 2021
Ómicron	B.1.1.529 y descendientes	VOC	VOC: 26 de noviembre de 2021
Zeta	P.2	VBM	VOI: 26 de febrero de 2021, VBM: 21 de septiembre de 2021
Mu	B.1.621, B.1.621.1	VBM	VBM: 21 de septiembre de 2021
Flirt	X.1.5	VBM	VBM: 15 de mayo de 2024

VOC: Variante de preocupación; VOI: Variante de interés; VBM: Variante bajo monitoreo.

Fuente: *Centro para el control y la Prevención de Enfermedades (https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fvariants%2Fvariant-info.html)* (7)

1.1.1.1. Espícula o glicoproteína S

Los Coronavirus son virus ARN de cadena positiva que presentan espículas o peplómeros en su envoltura, con un tamaño de 80-160 nm (nanómetros). La espícula o glicoproteína de pico (S), es la que aporta la característica forma de corona. Esta proteína se encuentra dividida por dos subunidades, la S1 y la S2, las cuales se subdividen en 3 dominios (A, B y C). Dependiendo del tipo de Coronavirus, predominará más una subunidad que otra, como, por ejemplo, en el SARS-CoV y SARS-CoV-2 predominan el dominio B (2).

Las mutaciones correspondientes al dominio de unión al receptor (RBD) de la espícula (S) genera muchas diferencias a la hora de interaccionar con diferentes receptores, como la ACE2 (enzima convertidora de angiotensina), siendo cruciales 6 aminoácidos del RBD para establecer la correcta unión con diferentes receptores (8).

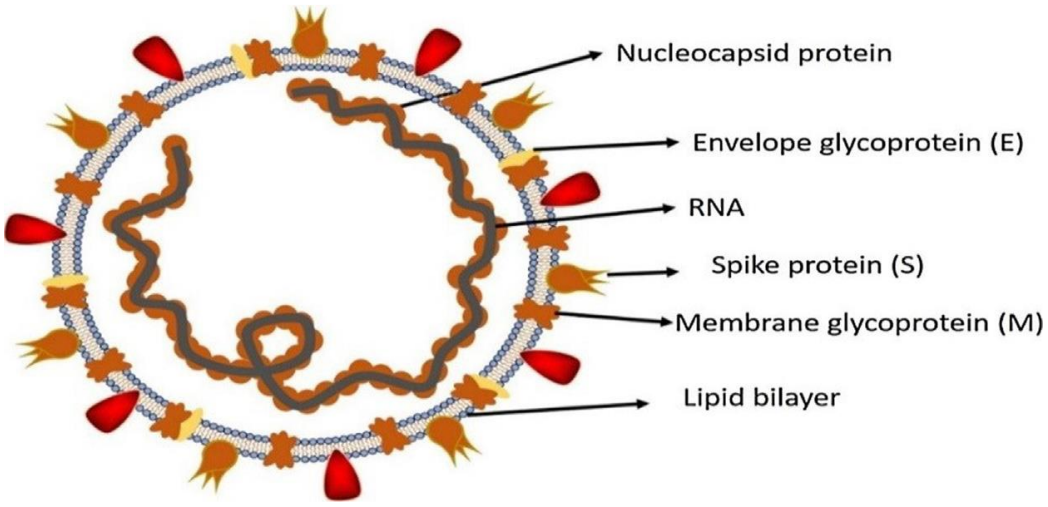


Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2.

Fuente: ***Ullah H, Ullah A, Gul A, Mousavi T, Khan MW. Novel coronavirus 2019 (COVID-19) pandemic outbreak: A comprehensive review of the current literature. Vacunas. mayo de 2021;22(2):106-13.*** **(9)**

1.1.1.2. Patogénesis

El SARS-CoV-2 penetra en la célula mediante la unión con sus receptores específicos. En el caso del MERS-CoV, se une con el receptor DPP4, sin embargo, el SARS-CoV y SARS-CoV-2 se unen específicamente a la ACE2 y al CD90L (2,4,10).

Las subunidades S1 (se encarga de la unión con el receptor) y S2 (facilita la fusión de la membrana de la célula del huésped y el virus) de la proteína S del SARS-CoV-2 contienen 4 aminoácidos que permiten la introducción de la enzima furina, la cual proporciona un fuerte anclaje de la proteína S y la encima convertidora de angiotensina (ACE2) (2,11). Esta unión proporciona una afinidad 20 veces mayor con su receptor en comparación con el SARS-CoV, lo que explica que sea menos transmisible que el SARS-CoV-2 y que el aumento de la expresión de ACE2 puede proporcionar una mayor susceptibilidad a la entrada de este último virus (9,12).

Los últimos estudios también destacan la neuropilina (NRP1) como receptor importante a la hora de la transmisión del virus, aunque no está del todo clara su función en la patogenia del SARS-CoV-2 pero impresiona de unirse a la ACE2 y favorecer la entrada del virus al organismo. La NRP1 parece estar implicado en varios aspectos del proceso infectivo, incluida la posible propagación a través del bulbo olfativo y el sistema nervioso central (SNC), así como el aumento de la expresión del virus en los pulmones (13,14).

Una vez establecida la unión con su receptor, la nucleocápside y el ARN mensajero penetran en el citoplasma de la célula huésped gracias a la proteólisis realizada por la proteína

serina transmembrana tipo II (TMPRSS2) mediante endocitosis o de forma directa a través del receptor (15). Para que todo este mecanismo se produzca es necesario el anclaje de la furina con la espícula (S) (16,17).

El ARN introducido comienza a crear numerosos tipos de enzimas que son procesadas por las ARN polimerasas. Dichas enzimas son: proteína de envoltura (E), la proteína de la membrana (M), la proteína de la nucleocápside (N), la espícula (S), la hemaglutinina-esterasa (HE) y otras varias proteínas. Estas son las que permiten introducir el genoma vírico en la membrana de Golgi o en el retículo endoplasmático. Finalizando el proceso, las enzimas preformadas, junto con la nucleocápside, comienzan a formar el nuevo virus, el cual se libera por exocitosis o fusión con la membrana plasmática (1,2,9).

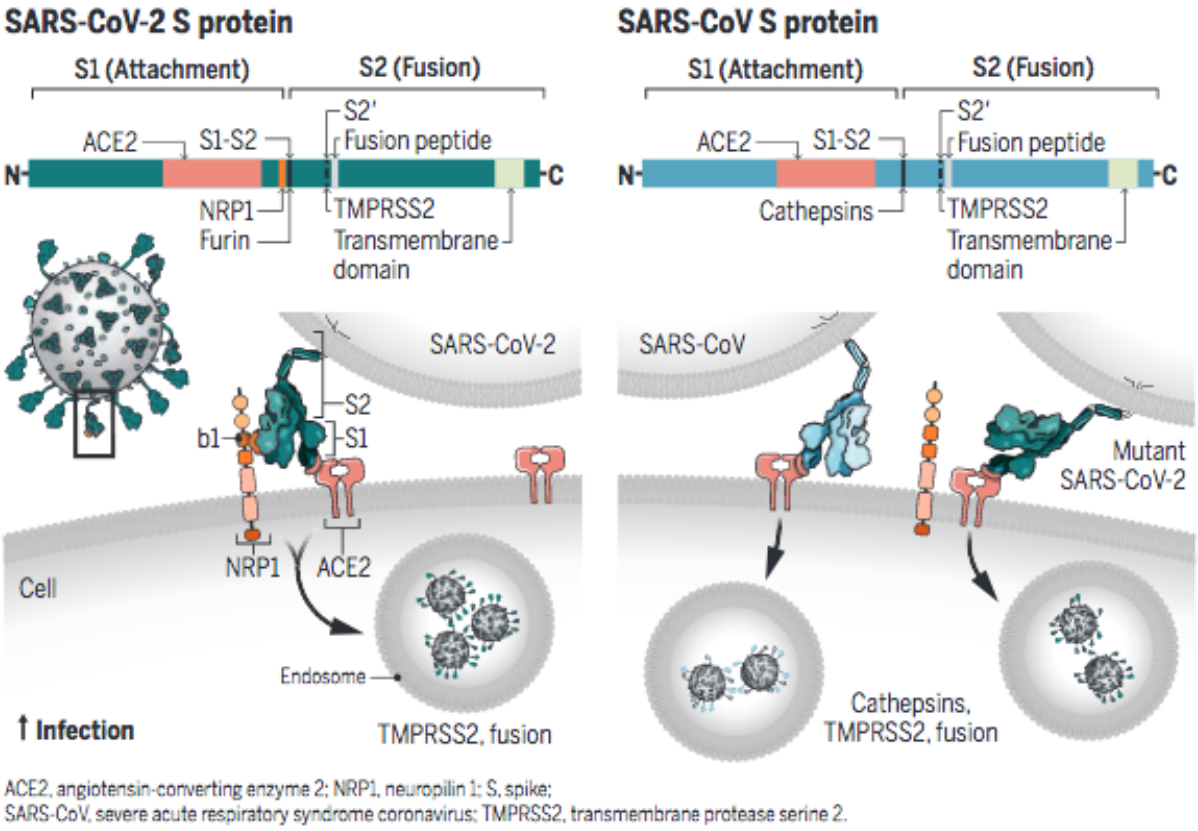


Figura 2. Patogénesis del SARS-CoV-2.

Fuente: ***Margaret Kielian ,Enhancing host cell infection by SARS-CoV-2.Science370,765-766(2020).DOI:10.1126/science.abf0732 (18)***

2. Origen

El Coronavirus fue diagnosticado por primera vez en los años 60. Si bien es cierto que el origen del SARS-CoV-2 no está del todo claro, la hipótesis más aceptada fue que el virus se transmitió mediante el contagio de un huésped intermediario al ser humano. La mayoría de los casos registrados en Wuhan en diciembre de 2019 tenían en común el haber estado en el mercado chino de Huanan de dicha ciudad donde se vendía aves de corral, serpientes, murciélagos y otros animales de granja (1).

El SARS-CoV y MERS-CoV actúan de forma similar al SARS-CoV-2, afirmándose en la literatura que su origen procede de los murciélagos, por lo que la hipótesis más apoyada es que el SARS-CoV-2 también derivase de dicho mamífero. Sin embargo, el SARS-CoV y MERS-CoV suelen trasmitirse mediante huéspedes intermediarios como los camellos, antes de contagiar a los humanos, por lo que también podría plantearse dicha procedencia.

Los últimos estudios publicados afirman que en pangolines de Malaya se encontraron numerosas coincidencias genómicas con respecto SARS-CoV-2, coincidiendo el genoma en un 90,55-91,02% (4,9,19), por lo que las nuevas hipótesis sugieren el principal origen del SARS-CoV-2 en los pangolines, sin embargo, a día de hoy, el origen exacto sigue siendo desconocido.

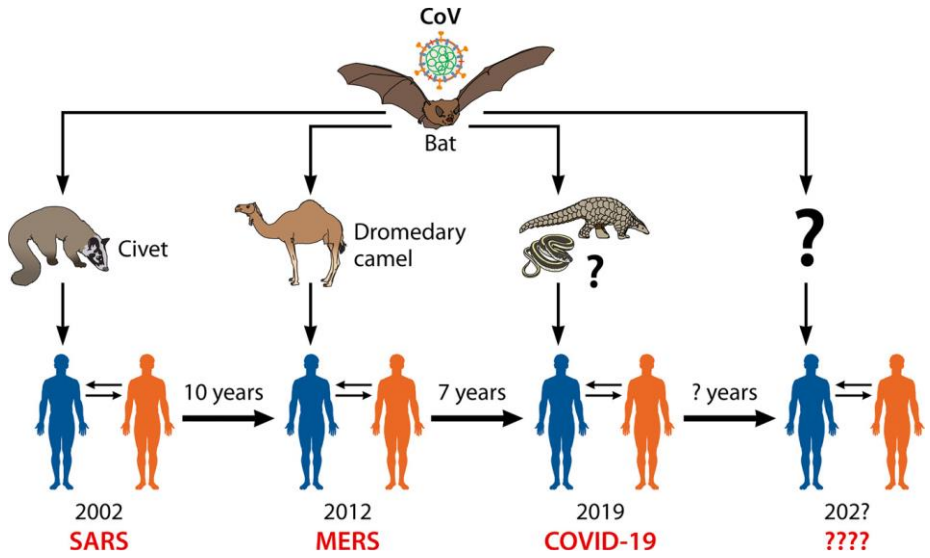


Figura 3. Probable origen del SARS-CoV-2.

Fuente: de *Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019 –COVID-19. Clin Microbiol Rev. 2020;33(4):48 (5).*

3. Epidemiología

El periodo de incubación del SARS-CoV-2 está en torno a los 14 días tras la exposición, sin embargo la mayoría de casos ocurren a los 5 días tras el contacto, pero depende en gran parte también de la variante causante del cuadro (por ejemplo, en la variante Ómicron se ha registrado periodos de incubación más cortos, en torno a los 3 días (5,20–23)), sin embargo, estos datos son variables debido a la gran variabilidad que aportan los pacientes asintomáticos.

Este tipo de virus posee menos transmisibilidad y contagiosidad comparándolo con otros más virulentos como el Ébola o la gripe aviar (5).

El riesgo relativo de transmisión de la enfermedad se encuentra entre 1,4 y 2,5 según algunos estudios, pudiendo alcanzar un 3,28 según otros autores, sin embargo, es difícil poder establecer el riesgo real entre la población global (5,21).

La tasa de letalidad de la infección por SARS-CoV-2 podría ser significativamente menor debido a la existencia de infecciones asintomáticas y leves que no han sido detectadas y, por lo tanto, no han sido incluidas en las estadísticas oficiales. Según múltiples análisis se estima que esta tasa de contagio se sitúa en un rango que oscila entre el 0,15% y el 1%, presentando variaciones sustanciales en función de la ubicación geográfica y los diferentes grupos de población considerados de alto riesgo (24,25). En un metaanálisis que evaluó exhaustivamente el número total de infecciones comunitarias a través de detalladas encuestas de seroprevalencia en un amplio espectro de 53 países, incluyendo diversos entornos con

diferentes niveles de recursos disponibles, llevado a cabo previamente a la disponibilidad generalizada de la vacuna, se descubrió que la tasa de letalidad de la infección mostró variaciones significativas en función de la edad de los individuos analizados. Se pudo observar que la tasa de incidencia de la enfermedad fue del 0,005% a la edad de un año, experimentó una disminución al 0,002% a los siete años, y posteriormente aumentó de manera exponencial a lo largo de la vida: alcanzando el 0,006% a los 15 años, el 0,06% a los 30 años, el 0,4% a los 50 años, el 2,9% a los 70 años y finalmente el 20% a los 90 años (26). En una investigación realizada en la provincia de Columbia Británica se llevaron a cabo análisis de los niveles de anticuerpos específicos dirigidos contra la proteína nucleocápside del virus SRAS-CoV-2. Se pudo observar que la mediana de la Tasa de Mortalidad disminuyó significativamente de un 0,47% en el año 2020 a un 0,06% en el año 2022 (27).

A pesar de la significativa disminución de las tasas de mortalidad por COVID-19 en los últimos años (28), la tasa de mortalidad intrahospitalaria sigue manteniéndose en niveles superiores a los de la gripe estacional (29–32). Entre los pacientes hospitalizados al comienzo de la pandemia, el riesgo de desarrollar enfermedad crítica o fatal era considerablemente elevado (33–38). En un estudio llevado a cabo en Estados Unidos con más de 16.000 pacientes hospitalizados por COVID-19 entre marzo y diciembre de 2020, se observó una tasa de letalidad del 11,4% en términos generales, con variaciones mensuales que oscilaron entre el 7,1% y el 17,1% (39,40). A lo largo del curso de la pandemia, se han registrado descensos progresivos en las tasas de mortalidad intrahospitalaria, incluso antes de la implementación de la vacunación a gran escala (41–44). En un análisis de la base de datos de salud electrónica que abarcó a más de 10,000 pacientes en los Estados Unidos que fueron

hospitalizados debido a COVID-19 o influenza en el período comprendido entre octubre de 2022 y enero de 2023, se observó que la tasa de mortalidad a los 30 días para los pacientes con COVID-19 alcanzó el 5,97%, superando significativamente la tasa de mortalidad registrada en los pacientes afectados por influenza, que fue del 3,75% (32).

Las posibles razones detrás de la mejora en las tasas de letalidad relacionadas con la enfermedad del COVID-19 son difíciles de determinar. Sin embargo, se sugiere que la optimización de los protocolos de tratamiento en los centros hospitalarios y una distribución más eficiente de los recursos médicos podrían estar contribuyendo a esta mejora.

En entornos con recursos limitados, las tasas de mortalidad intrahospitalaria pueden ser significativamente más altas que las reportadas en regiones con mayores recursos. Por ejemplo, según los resultados de una investigación llevada a cabo en el año 2020 en un total de 57 centros hospitalarios distribuidos en 10 naciones del continente africano, donde se identificó una mediana de dos médicos especialistas en cuidados intensivos por cada establecimiento y un total de 86 enfermeras especializadas en el área, se evidenció una tendencia preocupante hacia un aumento en los índices de mortalidad dentro de dichas instalaciones sanitarias (45).

El número de casos durante las oleadas de 2020 y 2021 ascendieron a los 674 millones y las muertes ascienden a 6 millones a nivel mundial en el dicho periodo, siendo América el continente que más muertes reportó durante la pandemia (42,44).

Entre la población con riesgo de contraer la enfermedad se encuentran los hombres, ser fumador, adultos y con comorbilidades como la hipertensión arterial, obesidad, enfermedad cardiovascular, enfermedades respiratorias crónicas o diabetes mellitus (1,12,46,47).

Tabla 2. Factores de riesgo para la enfermedad grave por COVID-19.

Factores de riesgo para enfermedad grave por COVID-19
> 65 años
Asma
Cáncer
Enfermedad cerebrovascular
Enfermedad renal crónica
Enfermedad pulmonar crónica
Enfermedad hepática crónica
DMI y DMII
Alteraciones cardiacas
Alteraciones mentales
Obesidad (IMC > 30 kg/m^2) o sobrepeso (IMC > 25 a 29 kg/m^2)
Embarazo
Inmunodeficiencias primarias
Talasemia
Trasplante de órganos o hemáticos
Consumo de tóxicos
Tuberculosis
Uso de medicamentos inmunosupresores
Fibrosis quística
Alteraciones neurológicas (demencia)

Fuente: *Centers for Disease Control and Prevention. Risk for COVID-19 infection, hospitalization, and death by age group* (48).

La incidencia de la enfermedad varió mucho a lo largo de los meses y entre los diferentes continentes, siendo hasta 2021 Estados Unidos (EE. UU.) el país que más incidencia registró (49).

Según diferentes estudios realizados, la edad media con mayor mortalidad es de 81 años (1).

La mortalidad y la morbilidad varían mucho entre los diferentes países, pudiendo explicarse por las diferentes campañas de vacunación realizadas en los distintos territorios analizados, donde se observó que en los países con políticas de vacunación más estrictos tuvieron una menor mortalidad comparándolos con aquellos con políticas de vacunación más laxas (50). Sin embargo, otras variables a tener en cuenta fueron: el estado económico del país, proporción de población anciana y la evolución de la pandemia en dicho país (51).

Los periodos de mayor contagio se producen entre el 7 al 10 día de la infección debido a que en este periodo la carga viral se encuentra más elevada (52). Sin embargo, el riesgo de transmisión varía mucho dependiendo de la clase de exposición, siendo importante el tipo y la duración de ésta, si se han llevado a cabo medidas preventivas (53) y la población de riesgo comentado anteriormente.

El entorno que más contagio provoca es el familiar, aunque se ha demostrado que las reuniones multitudinarias en espacios cerrados aumentan mucho esta probabilidad (53,54).

El riesgo de contagio de paciente asintomático es menor que de uno con síntomas, al igual que en pacientes presintomáticos (55,56).

El tiempo de recuperación de los síntomas del COVID-19 es muy variable, dependiendo de varios factores como la edad, el estado de vacunación o la existencia previa de comorbilidades. Generalmente el periodo de recuperación suele ser corto (días-semanas), pero algunos pacientes que han tenido una enfermedad severa suelen tardar más en recuperarse de los síntomas (entre 2 y 3 meses). Los síntomas persistentes más reportados han sido: disnea, dolor torácico, fatiga, problemas de memoria y tos persistente (57). También se ha evidenciado un aumento de las secuelas cardiacas y pulmonares en estos pacientes (58,59).

4. Formas de contagio

El contagio del SARS-CoV-2 puede ocurrir por varias vías de propagación. La principal vía de contagio es la de persona a persona, producida por los aerosoles o las gotitas de Pflügge que pueden transmitirse mediante el estornudo, tos o al hablar y entrar éstas en contacto con la mucosa oral, nasal o conjuntival de la persona contagiada (1,21).

Al comienzo de la pandemia, la vía de transmisión por fómites entraba dentro de las formas de contagio, sin embargo, meses después la OMS descartó esta vía. Si bien es cierto que se puede transmitir por el contacto de estos fómites con las vías respiratorias superiores a través de las manos contaminadas (9).

La forma de propagación aérea sigue siendo evaluada en numerosos centros con el fin de comprobar si el virus se transmite y mantiene en el aire, sin obtener claros resultados concluyentes (60).

La transmisión oro-fecal fue reportada en determinados estudios, sobre todo, en poblaciones con una higiene sociosanitaria muy baja. Sin embargo, no concluyeron que fuese una vía principal de contagio en el SARS-CoV-2 (5,61,62).

Los contagios transplacentarios también han sido declarados en determinadas series de casos, aunque esta vía es muy infrecuente (5,9,19,62).

No hay claras evidencias de que una vía de transmisión animal-humano en la actualidad aunque el origen del COVID-19 sugiere que fuera de un animal, pero no se contempla actualmente como método de propagación (63).

A modo de conclusión, la principal vía de contagio se produce por la penetración de los aerosoles, gotitas de Pflügge o a través de manos contaminadas en las vías respiratorias superiores, por lo que las medidas de prevención más importantes son: mascarilla, distancia social de 1.5-2 metros y una correcta higiene de manos (1,11).

5. Clínica

Cada vez van apareciendo más síntomas que han demostrado tener relación con el COVID-19 (11).

La gravedad de la enfermedad puede variar desde los casos asintomáticos al fallo multiorgánico.

Los síntomas más comunes al inicio de la pandemia fueron fiebre, fatiga y tos seca (1,11,12). También se relacionaron con la enfermedad la anorexia, mialgia, disnea, expectoración, odinofagia, anosmia, disgeusia, rinorrea, diarrea, dolor abdominal, náuseas y congestión conjuntival (2,5,10,11). Los síntomas gastrointestinales son más frecuentes en la población infantil (61). Actualmente, los más relacionados con este virus son los síntomas respiratorios, como la sensación de congestión nasal (64).

También se han descrito alteraciones dermatológicas, como lesiones papulomaculosas, urticarias y lesiones vesiculares así como nodulares de color violáceo en los dedos, siendo más frecuentes en adolescentes y adultos jóvenes que pueden incluso aparecer semanas después de la infección por COVID-19 (65–68).

Tabla 3. Síntomas del COVID-19.

Síntomas reportados en el COVID-19 (7,64,69)
Rinorrea y/o congestión nasal (75%)
Cefalea (70-75%)
Odinofagia (70%)
Tos (45-50%)
Escalofríos (40%)
Fiebre (35%)
Mialgias (30%)
Confusión (25-30%)
Anosmia o disfunción olfatoria (25-30%)
Dolor torácico o presión (20-25%)
Náuseas o vómitos (15-20%)

Diarrea (15-20%)
Disnea (5%)
Disgeusia o alteraciones en el gusto (3-4%)
Congestión conjuntival (<1%)
Alteraciones dermatológicas (<1%)

La neumonía es la complicación más frecuente asociada al COVID-19. Este tipo de neumonía no tiene un patrón determinado que lo haga ser distinguido de otros virus y que facilite el diagnóstico (70–72).

Durante las primeras oleadas, entre el 10-14% de los pacientes mostraron al inicio complicaciones severas de la enfermedad (6,12), requiriendo cuidados intensivos en el 18% de los pacientes graves (33,36,73), sin embargo, el porcentaje disminuyó en gran medida con el inicio de la vacunación.

Dentro de las complicaciones graves encontramos el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), acidosis metabólica, shock séptico, coagulopatía y fallo multiorgánico (10,11). El tromboembolismo pulmonar también ha sido descrito en los pacientes con complicaciones severas (estudios reportan incidencias de entre el 10 al 40% durante la pandemia), sobre todo aquellos con una estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de forma prolongada (37,74–77).

La fiebre muy elevada, junto con la dificultad respiratoria y dolor torácico pueden hacernos sospechar una neumonía (2). La cianosis se ha visto más relacionada con la población infantil (1).

También podemos encontrar arritmias, infartos cardiacos y renales produciéndose en el 4-5% de los pacientes hospitalizados (11,70,71,73,78,79).

Han sido descritos a su vez enfermedades inmunológicas relacionadas con el COVID-19 como el síndrome de Guillain-Barré que suele producirse a los 5-10 días de haber contraído la infección (80) o el síndrome de Kawasaki, más frecuente en los niños (81).

Los procesos neurodegenerativos se han incrementado en pacientes con infección por COVID-19, viéndose afectados, principalmente, la región límbica así como otras como la corteza parahipocampal (82). También se ha documentado aumento de biomarcadores asociados a daños neuronales, que podrían justificar las alteraciones en el olfato y su relación con el córtex cerebral (83).

Las sobreinfecciones bacterianas se han visto reportadas en pacientes diagnosticados de COVID-19, pero con una incidencia baja (en torno un 16%). Los patógenos más frecuentes son: *Klebsiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae,* y *Staphylococcus Aureus* (84–87).

6. Diagnóstico

1.1.6.1. Analítica

Las alteraciones analíticas son diversas, predominando alteraciones en el porcentaje de linfocitos (tanto leucocitosis como leucopenia) y neutrófilos, aumento de lactato

deshidrogenasa, aumento de enzimas hepáticas, ferritina, albuminemia, creatin- kinasa, bilirrubina, Proteína C Reactiva y Dímero D (5,11,71,72,88).

Estas sirven para apoyar el diagnóstico de COVID-19, pero no lo confirman. Además, pueden servir para monitorizar la gravedad de la enfermedad (como el aumento de la ferritina, linfopenia o aumento del dímero D), pero no indican curación (5,84).

1.1.6.2. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Es la prueba de elección para la detección del SARS-CoV-2. Detecta al virus mediante una amplificación de los ácidos nucleicos del mismo. Los más empleados para su detección son: E (screening de primera línea), el RdRp (estudio de confirmación) y el N (estudio adicional de confirmación) (90). Es la prueba más sensible y específica en la actualidad, con una sensibilidad conjunta del 85-90% y una especificidad casi del 100% (91).

Tabla 4. Causas de falsos negativos y falsos positivos en PCR.

Falsos negativos (5-40%)	Falsos positivos (infrecuentes)
Escasa o insuficiente muestra	Contaminación cruzada
estadios muy incipientes de la enfermedad con poca carga viral	Error en etiquetado
Transporte inadecuado	
Error en etiquetado	

Fuente*: Langa LS, Sallent LV, Díez SR. Interpretación de las pruebas diagnósticas del COVID-19. FMC - Form Médica Contin En Aten Primaria. marzo de 2021;28(3):167-73.* (91,92)

La más empleada es la PCR de muestra de exudado nasofaríngeo y orofaríngeo (11). Esta prueba permite detectar ácidos nucleicos presentes en el virus en exudados broncoalveolares, esputos, exudados nasofaríngeos, biopsias pulmonares mediante broncoscopio, exudados orofaríngeos, heces, sangre y orina. Sin embargo, cada tejido muestra una diferente sensibilidad y especificidad (5).

La muestra que más sensibilidad y especificidad aporta es el lavado broncoalveolar, sin embargo, no se obtiene de rutina por ser un método invasivo (5).

Tabla 5. Grado de recomendación de las diferentes pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2.

Muestra	Capacidad de detección
Lavado broncoalveolar	+++
Esputo	+++
Exudado nasofaríngeo	+++
Biopsia de tejido pulmonar	++
Exudado orofaríngeo	++
Heces	+
Sangre	+
Orina	+

+++: fuerte; ++: moderada; +: baja. Fuente: *Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019 –COVID-19. Clin Microbiol Rev. 2020;33(4):48* (5).

Es importante recalcar que, en los estadios tempranos de la enfermedad, la PCR puede dar falsos negativos, por lo que la especificidad aumenta en los siguientes días de contraer la enfermedad (5). Por ello, las guías recomiendan realizarla en el 7º día de incubación ya que va ascendiendo la capacidad de detección hasta ese día y a partir de ahí va disminuyendo (91).

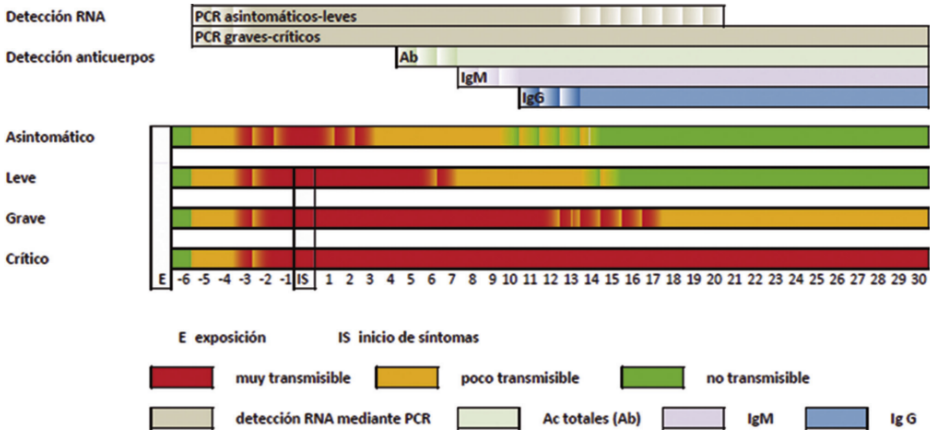


Figura 4. Periodos medios de transmisibilidad según la gravedad de los casos de COVID-19 y periodos de detección de RNA de SARS-CoV-2 mediante PCR y de anticuerpos mediante técnicas serológicas.

Fuente: ***Instituto Carlos III en colaboración con la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Interpretación de las pruebas diagnósticas frente a SARS-CoV-2; V 2.0 [Acceso 24 de abril de 2020. https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/INTERPRETACION_DE_LAS_PRUEBAS.pdf].***

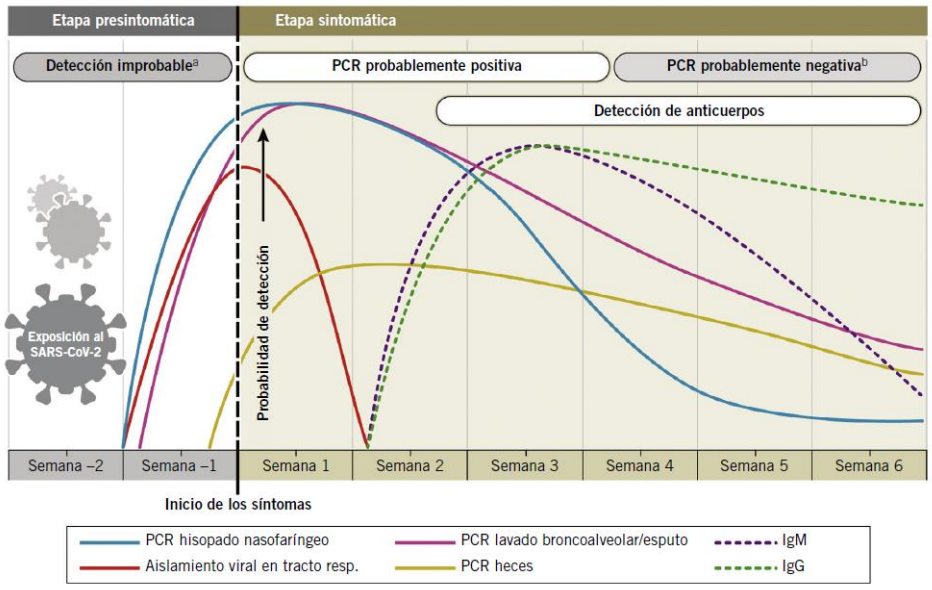


Figura 5. Estimación de la detección en test del SARS-CoV-2 en relación con el tiempo de inicio de síntomas.

[a]La detección solo ocurre si los pacientes reciben un seguimiento proactivo desde el momento de la exposición. [b]Es más probable que se registre un resultado negativo que positivo de PCR de hisopo nasofaríngeo. Fuente: Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA. 2020;323:2249–51. doi:10.1001/jama.2020.8259 [Acceso libre - https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2765837]9.

1.1.6.3. Prueba de detección de antígenos (Ag)

Detectan las proteínas específicas del virus, como la proteína N y las subunidades de la espícula (S1 y S2). Las muestras se obtienen, al igual que la PCR, del exudado nasofaríngeo, orofaríngeo o esputo (91).

Se deben realizar en los primeros días del inicio de los síntomas (5-7 días) (91). Además, esta prueba, a diferencia de la PCR, no suele detectar niveles bajos del virus, por lo que en los primeros días de la infección es muy poco sensible.

Su sensibilidad es del 95%, mientras que su especificidad es del 95-99%. Sin embargo, en asintomáticos varían los datos. No existe mucha evidencia científica actualmente que avale esta prueba en estos casos (91).

Los test de antígenos han sido empleados en las etapas más avanzadas de la pandemia como método "casero" de diagnóstico, de screening en eventos multitudinarios y para realizar una evaluación de los contactos estrechos (93).

1.1.6.4. Serología

La serología permite detectar los anticuerpos generados por el virus tras desencadenar una respuesta inmunológica. Las muestras empleadas son: sangre, plasma o suero (91).

La Inmunoglobulina M (IgM) nos informa de una infección activa, mientras que la Inmunoglobulina G (IgG) indica una infección pasada. Sin embargo, su correlación con la infección varía mucho a lo largo de la literatura (94,95).

Se recomienda realizar la prueba a partir de las 3-4 semanas, siendo entre el día 8-14 el periodo de mayor capacidad para detectar la IgM y entre los días 15-21 se produciría la seroconversión a IgG (91).

La sensibilidad a las 3 semanas ronda el 90% y la especificidad varía entre el 90% y 99%, sin embargo, estos valores varían mucho dependiendo del kit de detección usado (91).

Recientes estudios avalan que la capacidad de detección de anticuerpos a los 3 meses sería mínima o indetectable, sin embargo, aún existe mucha incertidumbre en la literatura encontrando estudios que demuestran que los niveles de IgG pueden ser detectados incluso 8 meses después de la infección (19,91,96,97).

A continuación presentamos una tabla comparativa de las diferentes pruebas diagnósticas anteriormente comentadas:

Tabla 6. Pruebas diagnósticas del COVID-19.

Tipo de test	Uso clínico	Espécimen	Características	Procesamiento
PCR	Diagnóstico de la infección actual	Tracto respiratorio superior e inferior	Alta sensibilidad y especificidad Los resultados dependen mucho del tipo y de cómo se ha obtenido la muestra, además del momento en el que contrajo la enfermedad	15 min - 8 horas
Test de antígenos	Diagnóstico de la infección actual	Exudados nasofaríngeos o nasales	Menos sensibilidad que la PCR. La sensibilidad es mayor en pacientes sintomáticos durante los primeros 5-7 días del inicio de los síntomas	< 1 hora
Serología (anticuerpos)	Diagnóstico de la primoinfección (o pasadas de 3-4 semanas)	Sangre	La sensibilidad y especificidad son muy variables El desarrollo de anticuerpos requiere de varios días (por ejemplo, IgG aparece después de 14 días de los síntomas)	15 min – 2 horas

Fuente: *Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2: A Narrative Review. Ann Intern Med 2020; 172:726 y Weissleder R, Lee H, Ko J, Pittet MJ. COVID-19 Diagnostics in Context. Sci Transl Med 2020; 12:eabc1931* (92,98).:

1.1.6.5. Pruebas de imagen

Las pruebas más empleadas son la Radiografía Simple de Tórax (Rx) y la Tomografía Axial Computarizada (TAC) torácica para la detección de neumonías.

En la radiografía de tórax, es frecuente encontrar patrones de neumonía atípica como consolidaciones y opacidades en vidrio deslustrado, bilaterales y periféricas (99).

El TAC de Tórax es más sensible que la radiografía de tórax y se observan de forma predominante parcheados multifocales de forma bilateral, con consolidación y patrones de fibrosis pulmonar en los casos más graves (5,11). Esta prueba de imagen puede ser muy inespecífica en los estadios iniciales de la enfermedad (5,100,101).

La ecografía pulmonar se utiliza en casos muy seleccionados, donde podemos encontrar hallazgos como adelgazamiento de la pleura, consolidaciones pulmonares o patrones de broncograma aéreo. Es una técnica con una baja especificidad por lo que no se suele emplear (102–105).

Las pruebas de imagen no se realizan de rutina excepto cuando hay sospecha de neumonía. La prueba de elección es la Rx de tórax, empleando el TAC para los casos con Rx de tórax normales y alta sospecha de infección respiratoria (106).

7. Tratamiento

En la actualidad no existe un tratamiento plenamente efectivo contra el SARS-CoV-2, sin embargo, se cuenta con terapias adyuvantes que mejoran la sintomatología del cuadro (5,9).

El tratamiento se suele emplear para aquellos pacientes con COVID-19 moderado pero que además presenten riesgo de progresar la enfermedad.

Existen multitud de ensayos clínicos actuales que pretenden demostrar la eficacia de diferentes fármacos contra este virus (107). Las estrategias para el tratamiento del SARS-CoV-2 que se están desarrollando son: fármacos que bloqueen la entrada al virus en el organismo, fármacos que eviten su replicación y que disminuyan una posible fuerte respuesta inmunitaria frente al virus (5).

Por una parte, se empleó al principio de la pandemia antibióticos de amplio espectro para las posibles sobreinfecciones bacterianas (9). Su uso actual no está indicado debido a que la sobreinfección bacteriana no está contemplada como factor frecuente en el COVID-19 (108,109).

También se han descrito el uso de diferentes antivirales, como el Nirmatrelvir-ritonavir, Oseltamivir, Remdesivir, Favipiravir, Umifenovir, Molnupariv ir y Clofazimina, pero ninguno ha demostrado eficacia plena como tratamiento de elección del SARS-CoV-2 (9,110).

Al principio de la pandemia, la cloroquina, la hidroxicloroquina y la azitromicina se utilizaron en pacientes graves hospitalizados y en algunos casos como tratamiento ambulatorio en aquellos con neumonía por COVID-19. Sin embargo, meses después la OMS desaconsejó su uso por su alto riesgo/beneficio que producía (5,107,111).

También se usaron los corticoesteroides sistémicos para disminuir la cascada de inflamación que produce la infección, pero esta terapia no está exenta de efectos adversos por lo que su indicación debe ser individualizada (9,107,112). Se ha contemplado el uso de corticoides inhalados, sin embargo hacen falta más ensayos controlados y aleatorizados para recomendar dicha terapia (110,112,113).

El empleo de otras terapias como la oxigenoterapia y la sueroterapia o la terapia con plasma son utilizadas en los casos más graves (5,114).

La anticoagulación o la metformina, que fueron terapias usadas al inicio de la pandemia, también están desaconsejadas en la actualidad como tratamiento frente al COVID-19 (115,116).

Terapias con anticuerpos monoclonales contra la interleukina 6 (IL-6), interleukina que favorece a la inflamación de las vías respiratorias inferiores, como el Tocilizumab, han demostrado disminuir el componente inflamatorio pulmonar y son fármacos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) contra la enfermedad. En el momento actual, otros fármacos monoclonales están en investigación para

su posible desarrollo contra el COVID-19 (5,9,117–119). El único anticuerpo monoclonal autorizado hasta la fecha contra la variante Omicron es el Bebtelovimab.

8. Vacuna

Desde el inicio de la pandemia, multitud de laboratorios pusieron todo su empeño en crear una vacuna efectiva con el fin de frenar este virus.

Las vacunas pueden actuar de diferentes formas a la hora de proporcionar protección frente al COVID-19 (120):

- Vacunas ARNm: contiene material del propio virus, lo que provoca una reacción en nuestro organismo de inmunidad, el cual empieza a crear la proteína del virus y desarrolla el mecanismo inmunológico con la formación de Linfocitos T y B.
- Vacunas de subunidades proteicas: incluyen proteínas del virus (las más frecuentes son las subunidades de la espícula), en vez del virus completo.
- Vacunas de vectores: utilizan un virus modificado diferente al SARS-CoV-2. Introducen dentro de un vector viral material genómico, lo que desencadena el mecanismo inmunológico frente a este virus.

Existen numerosas vacunas en el periodo actual que actúen contra el COVID-19:

Tabla 7. Vacunas contra el COVID-19.

Compañía	Tipo de vacuna	Estado de desarrollo	Dosis
BioNTech/Pfizer (Comirnaty)	ARNm	Autorizada por EMA	2 + recuerdo
Moderna (Spikevax)	ARNm	Autorizada por EMA	2 + recuerdo
AstraZeneca (Vaxzevria)	Vector (adenovirus)	Autorizada por EMA	2 + recuerdo
Janssen (Jcovden)	Vector (adenovirus)	Autorizada por EMA	1 + recuerdo
Novavax (Nuvaxovid)	Subunidad proteica	Autorizada por EMA	2 + recuerdo
Hipra (Bimervax)	Subunidad proteica	Autorizada por EMA	2 + recuerdo
Sanofi Pasteur/GSK (VidPrevtyn Beta)	Subunidad proteica	Autorizada por EMA	2 + recuerdo
Valneva (COVID-19 Vaccine Valneva)	Vector	Autorizada por EMA	2 + recuerdo

Fuente: *Gobierno de España frente a la Estrategia de Vacunación COVID-19* (121).

Actualmente se comercializan en España la de las empresas Pfizer/BioNTech, Moderna, AstraZeneca, Janssen, Novavax y Sanofi Pasteur (122).

A fecha de agosto de 2024, se han administrado más de 81.907.344 dosis en España (121).

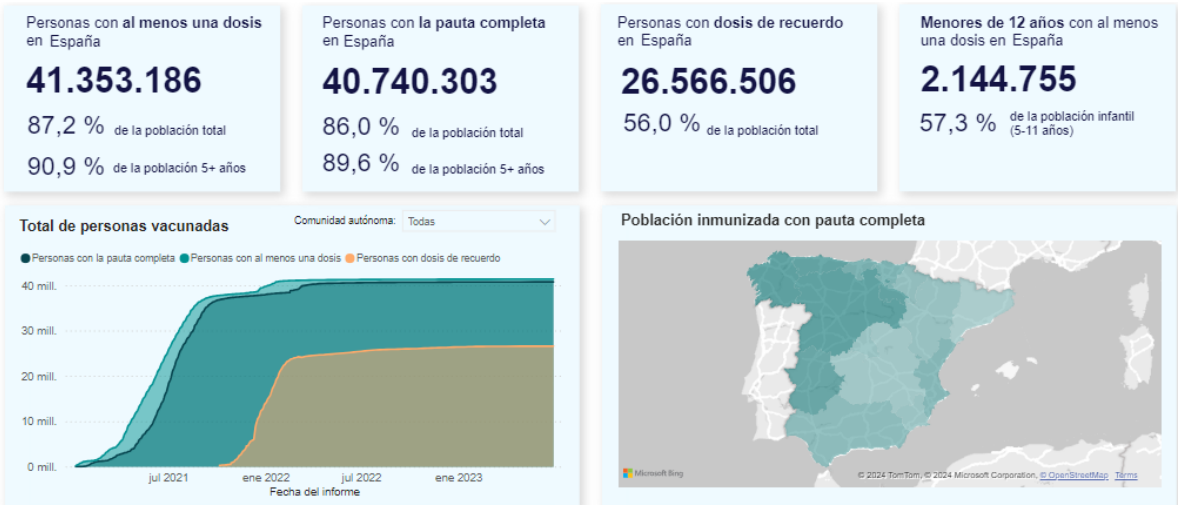


Figura 6. Datos sobre la vacunación del COVID-19 en España.

Fuente: ***Ministerio de Sanidad.***

En términos generales, la efectividad alcanzó al inicio de las campañas de vacunación unos niveles altos en diferentes grupos epidemiológicos. La efectividad promedio se sitúa en el 76% para mujeres y 80% para hombres frente a infección, 77% y 81%, respectivamente, frente a infección sintomática, 93% frente hospitalización en ambos sexos, y 92% y 91% respectivamente frente a fallecimiento. El desarrollo de las vacunas ha permitido disminuir la presión hospitalaria y la mortalidad considerablemente (69,121,123).

9. Pandemia por COVID-19

La pandemia por COVID-19 ha supuesto en un corto periodo de tiempo un gran aumento de la mortalidad y morbilidad en todo el planeta, una crisis económica mundial y una saturación del sistema sanitario internacional con escasez de recursos, requiriendo una

colaboración a nivel internacional con el fin de investigar dicho virus y establecer diferentes estrategias preventivas y curativas (1).

El inicio de la pandemia por SARS-CoV-2 sucedió en una ciudad de China (Wuhan) a finales de diciembre de 2019. Tras su descubrimiento, se extendió a gran velocidad a Japón, Tailandia, Corea del Sur, Irán y Singapur. Posteriormente, en Europa, comenzaron a reportar casos Italia, España y el Reino Unido. En América, EE. UU. rápidamente comenzó a detectar miles de casos en los primeros meses. En febrero de 2020 la OMS nombró al virus como SARS-CoV-2 y la enfermedad que producía como COVID-19. No fue hasta marzo del 2020 cuando la OMS declaró la enfermedad por COVID-19 como pandemia mundial (19). En mayo de 2020 habían ya confirmados 4 millones de infectados en todo el mundo (1,124).

A principios de julio de 2020, se registraban 10 millones de casos confirmados y 500.000 muertes en todo el planeta (2), siendo en esa fecha el continente más afectado América con 5 millones de casos, seguido de Europa con 2 millones de casos .

Figura 7. Cronología de eventos clave en la pandemia del COVID-19.

Fuente: Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat Rev Microbiol. marzo de 2021;19(3):141-54 (19).

La pandemia mundial ha generado grandes pérdidas económicas, provocando una crisis tanto económica como sanitaria con desaparición de recursos y limitando en las diferentes olas la capacidad de tratamiento de pacientes más graves por el colapso del sistema sanitario a nivel mundial (5).

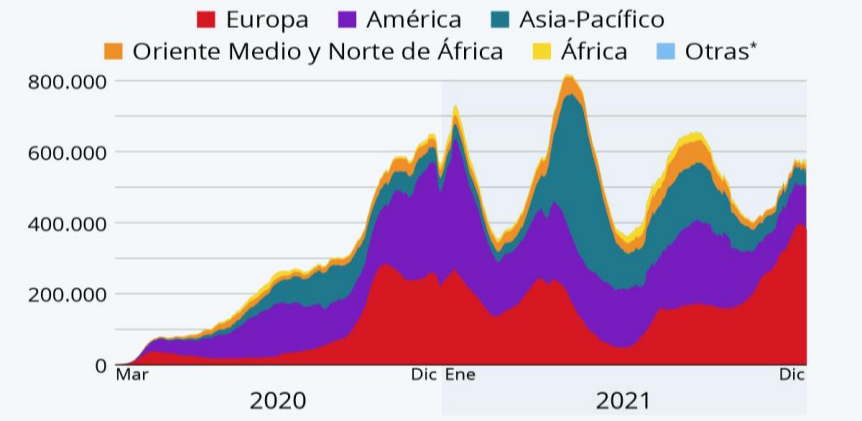


Figura 8. Promedio móvil de 7 días de los nuevos casos confirmados de COVID-19 por continente.

Fuente libre: *OMS*.

Debido a las restricciones sociosanitarias impuestas por los diferentes países, la pandemia ha cursado varias olas con picos muy altos de incidencia y muy bajos, con mucha desigualdad entre los diferentes continentes.

La tasa de mortalidad ha disminuido considerablemente gracias a la efectividad de las vacunas y las medidas de higiene. En EE. UU., la tasa de muertes reportada bajó desde 116 a 61 muertes por cada 100.000 personas. En Inglaterra se registró una disminución del ratio de mortalidad de 4,48 por cada 1000 personas/año en el 2020 a 0,68 por cada 1000 personas/año en 2022 (125).

1.2. RELACIÓN DE ACE2, TMPRSS2, FURINA Y NRPL1 CON COVID-19

1. Estructura y función de la ACE2

La ACE2 es la enzima convertidora de angiotensina II, puerta de entrada del SARS-CoV-2 al organismo (6,126). Es una enzima que se encarga de regular el sistema de renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) (11,73).

Favorece al control de la presión arterial y frenar la acción vasodilatadora. También regula el sistema de la aldosterona liberándola para provocar la retención de agua y sodio en el riñón (126).

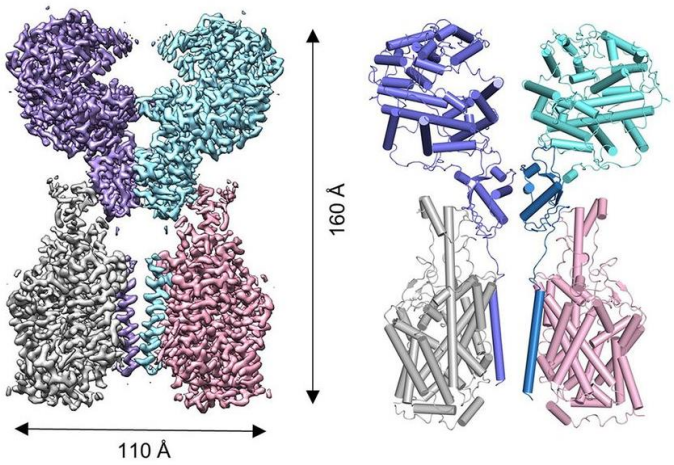


Figura 9. Estructura de la ACE2.

Fuente: ***Renhong Yan et al. ,Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2.Science367,1444-1448(2020).DOI:10.1126/science.abb2762*** **(127).**

Posee numerosos polimorfismos, por lo que no se expresa igual en todos los organismos. Se encuentra en el cromosoma X (Xp22.2) y está compuesta por 805 aminoácidos (11).

La ACE2 se encuentra muy elevada en la mucosa de la vía respiratoria superior (6,128). También se encuentra en otros tejidos en menor porcentaje como en el gastrointestinal, pulmones, hígado, corazón, tiroides, tejido adiposo y glándulas adrenales (10,73,129).

La variabilidad de expresión de la ACE2 se halla también entre hombres y mujeres y diferentes razas (126), expresándose fundamentalmente en hombres y en razas no caucásicas.

Hay diversos factores que influyen en la mayor expresión de la ACE2, como el tabaco, la hipoxia, el estrés y mediadores inflamatorios como el IFN-α, el IFN-β o el IFN-γ (12,129,130) y puede reducirse en el asma o en la rinitis alérgica (131).

2. Estructura y función TMPRSS2

La TMPRSS2 es una proteína fusión de membrana que se encuentra expresada en las células epiteliales y endoteliales en diferentes tejidos como el respiratorio y el gastrointestinal (15).

Se encarga de las funciones de proteólisis, regulación de la entrada de determinados virus a la célula huésped y autoprocesamiento de diversas proteínas. Es una enzima

proinflamatoria cuando es activada por diferentes interleucinas como la IL6, IL13 (73,131) y la catepsina L (132).

Algunas patologías pueden aumentar su expresión en las vías respiratorias superiores, como el asma y la rinitis alérgica (131).

Esta enzima sigue patrones parecidos a la hora de su expresión en los diferentes tejidos que la enzima convertidora de angiotensina II, siendo un poco más selectiva por las células endoteliales del tejido gastrointestinal que la ACE2 (15,61).

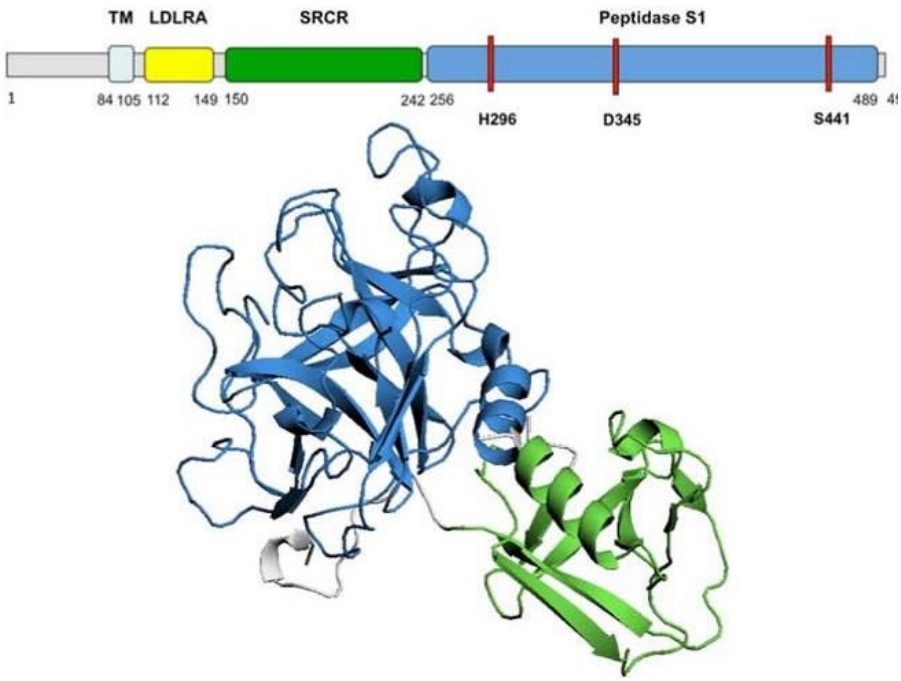


Figura 10. Estructura de la TMPRSS2.

Fuente: ***News-Medical (fuente libre)*** **(133).**

3. Estructura y función de la furina

Es una proteína transmembrana tipo I que se encarga de realizar la catálisis de diferentes proteínas del sistema secretor. Está compuesta por gran cantidad de aminoácidos que se unen entre sí a través de enlaces peptídicos para formar una cadena polipeptídica. (16,134). Esta proteína es muy sensible a los cambios tanto extracelulares como intracelulares, como, por ejemplo, la hipoxia aumenta su expresión. Es una proteína esencial para la maduración de proteínas y funciones biológicas, donde se encuentra la regulación del crecimiento celular, funciones en la inmunidad y homeostasis del organismo (135).

Actualmente se encuentra en gran auge ya que se ha visto que influye en multitud de patologías como trastornos cardiovasculares, enfermedades neurológicas, cáncer y enfermedades infecciosas (134,136). Se encuentra expresada en las glándulas salivares, placenta, hígado, hueso, cerebro, páncreas y riñón (137,138).

Numerosos estudios demuestran que una expresión deficiente de furina puede favorecer a alteraciones psicológicas en enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas. En pacientes con enfermedad de Alzheimer se ha demostrado que tienen un descenso de niveles de furina en el córtex, o en los pacientes con esquizofrenia en el prefrontal. Sin embargo, en los pacientes con epilepsia podemos ver estos niveles aumentados en el córtex temporal (17,134).

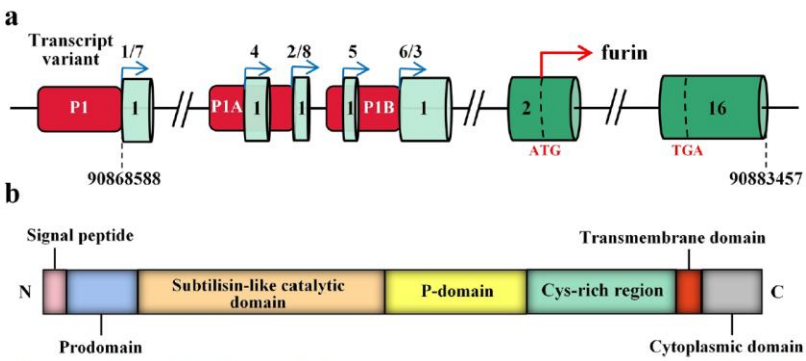


Fig. 1 Human *FURIN* gene and furin protein structures. **a** The human *FURIN* gene consists of 16 exons and encodes eight different transcript variants driven by three known promoters, P1, P1A and P1B. Exons are shown as green boxes and introns are shown as lines. The red boxes indicate the three promoter regions. The blue arrows indicate the positions where different transcripts start. The red arrow indicates the translational start, and the start codon (ATG) and stop codon (TGA) are marked with dotted lines. **b** Furin protein contains an N-terminal signal peptide, a prodomain, a subtilisin-like catalytic domain, a middle P-domain, a cysteine-rich region, a transmembrane helix domain and a C-terminal cytoplasmic domain

Figura 11. Estructura de la furina.

Fuente: ***Zhang Y, Gao X, Bai X, Yao S, Chang YZ, Gao G. The emerging role of furin in neurodegenerative and neuropsychiatric diseases. Transl Neurodegener. 2022 Aug 23;11(1):39. doi: 10.1186/s40035-022-00313-1. PMID: 35996194; PMCID: PMC9395820*** **(134).**

La furina parece tener una zona clave (FCS: *furin cleavage site*) para el ensamblaje a las subunidades S1 y S2 de la espícula del SARS-CoV-2, lo que favorece la unión de la célula a su huésped y favorecer su entrada (16,17) .

4. Estructura y función de la NRP1

La neuropilina-1 (NRP1) es una proteína con actividad de catálisis que se expresa de forma muy diferente en las distintas especies y juega un papel fundamental en las infecciones víricas o en determinados tipos de cáncer como el de cérvix, glioblastomas, meduloblastomas, mama, próstata y páncreas (139).

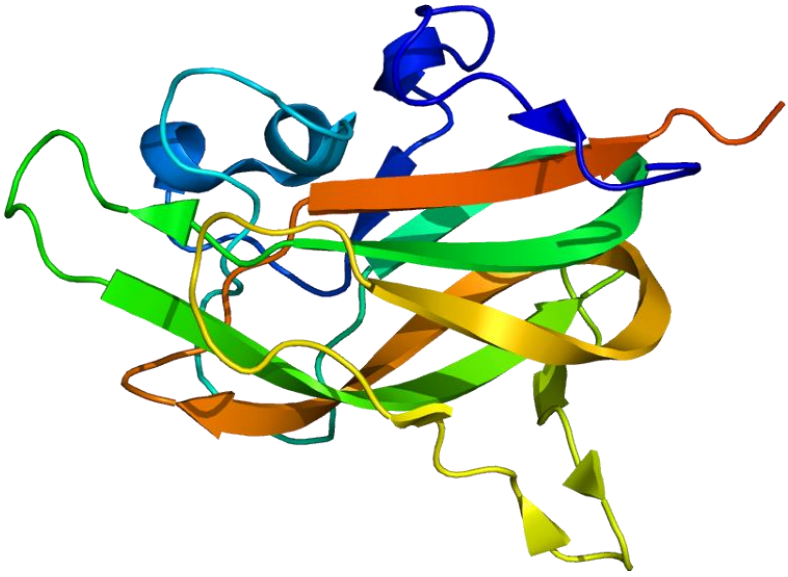


Figura 12. Estructura de la neuropilina-1 (NRP1).

Fuente: ***imagen libre de pymol.org.***

Esta proteína se encuentra en las células endoteliales, musculares y mesenquimales, así como en el tejido olfatorio, pulmonar o en el neuronal, donde juegan un papel importante (13,140).

Una de las funciones más importantes de esta proteína es favorecer la permeabilidad capilar y la angiogénesis. También parece tener un papel relevante en enfermedades reumatológicas o incluso en encefalomielitis (13).

Se piensa que la neuropilina-1 juega también un papel fundamental en el neuroepitelio olfatorio, donde se ha visto que en su mala función puede estar relacionada con síndromes como el de Kallman, donde el paciente padece hipogonadismo y anosmia (140).

5. Relación de ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1 con el SARS-CoV-2

La ACE2 y la TMPRSS2 son enzimas imprescindibles a la hora de la entrada del virus en el organismo (4,126). La ACE2 establece la unión con la subunidad de la espícula así como una conexión importante que permite la activación de la TMPRSS2 y favorece a la fusión y endocitosis del virus en la célula humana (73,141).

Numerosos estudios evidencian el grado de expresión de estos dos receptores en la mucosa de las vías respiratorias tanto superiores como inferiores en la población normal (12,73,126,130,131,142,143).

- Hombres > mujeres.
- Adultos > niños.
- Fumadores > no fumadores.
- Asiáticos > Caucásicos, afroamericanos.
- Vías respiratorias superiores > Vías respiratorias inferiores.
- Menor expresión en pacientes asmáticos (ACE2). Mayor expresión en pacientes asmáticos (TMPRSS2).

Li y colaboradores (10) demostraron que la expresión de la ACE2 en las vías respiratorias inferiores era mayor en el caso de los hombres adultos, a diferencia de las mujeres y los niños. También afirmaron que una mayor expresión de ACE2 en los pulmones

en pacientes de edad avanzada y en varones provoca un aumento de la gravedad de la enfermedad. No obstante, en pacientes jóvenes o mujeres, una mayor expresión de ACE2 en los pulmones les confiere una mayor respuesta inmunológica frentes al virus.

A modo de conclusión, podemos decir que la ACE2 y TMPRSS2 son dos enzimas con diferentes funciones que se encuentran en numerosos tejidos como las vías respiratorias, el gastrointestinal, corazón, etc. La ACE2 posee numerosos polimorfismos, por lo que no se expresa igual en los diferentes organismos (11). Ambos receptores tienen niveles muy variables dependiendo del sexo, edad, raza o patologías previas (12,73,126,130,131,142,143). Existen algunos puntos controvertidos sobre la expresión de la ACE2 y la proteasa TMPRSS2 en el epitelio nasal y en las vías aéreas inferiores. Sin embargo, la mayoría de los estudios coinciden en que se encuentra más elevadas en la vía respiratoria superior, lo que justifica que ésta sea la principal puerta de entrada para el SARS-CoV-2 (10).

En un primer momento se pensaba que la ACE2 y la TMPRSS2 eran las proteínas que jugaban el papel más importante en la infección por COVID-19, sin embargo, tras descubrirse que la furina también forma parte del cuadro patogénico, se postula que sin esta proteasa la infección no se produciría, ya que es imprescindible el ensamblaje del SARS-CoV-2 al sitio de anclaje de la furina y el virus para poder establecer unión con la ACE2 y la TMPRSS2 (17).

Aún no se ha esclarecido el papel que juega en el COVID-19 la neuropilina-1, sin embargo, parece tener un papel fundamental en la anosmia que produce el virus al unirse a

la ACE2 y favorecer la entrada del virus a la célula huésped (14). También se ha reportado en algunos artículos su probable relación con el neuroepitelio olfatorio (13,14,140).

1.3. EL OLFATO Y SU RELACIÓN CON EL COVID-19

El COVID-19 ha dado lugar a una amplia variedad de síntomas y complicaciones relacionadas con la infección por el SARS-CoV-2. Dentro de la clínica de este virus encontramos alteraciones en el sentido del olfato y del gusto (144), con una prevalencia de en torno al 60,1% (144). La disfunción olfatoria presenta un patrón con mayor afectación en mujeres y personas jóvenes, con menor presencia de esta disfunción en pacientes hospitalizados (151,152). Sin embargo, aún no existe consenso sobre la alteración del olfato en la enfermedad del COVID-19 que ha variado a lo largo de los últimos años y la aparición de nuevas variantes (145).

La expresión de la ACE2 y la TMPRSS2 se encuentra muy elevada en todo el epitelio olfatorio, pudiendo tener relación con las alteraciones olfatorias y el COVID-19 (15). Sin embargo, parece que el papel fundamental lo juega la NRP1 y su relación con el neuroepitelio olfatorio y el SARS-CoV-2 (13,14).

Algunos estudios afirman que la alteración olfatoria podría predecir la severidad de la enfermedad, relacionándose su manifestación con los casos más leves (145–147).

La fisiopatología de la alteración olfatoria no está aclarada aún (148), pero parece que este virus al igual que otros virus respiratorios, puede afectar al olfato por dos causas: causa

inflamatoria, por edema e inflamación de la mucosa y causa neuronal, con afectación del neuroepitelio olfatorio (146). La expresión y la distribución de la ACE2 explica como el SARS-CoV-2 penetra el SNC y lo inflama tanto directa como indirectamente, lo que indica la pérdida del olfato al dañar el nervio olfatorio y, mediante un transporte axonal retrogrado, el virus es capaz de entrar al SNC (148,149).

Otra hipótesis que se postula es que la NRP1, que se expresa en gran medida en el neuroepitelio olfatorio, se une de forma directa al SARS-CoV-2 y produce diferentes alteraciones olfatorias. Esto ha sido estudiado en autopsias realizadas a pacientes fallecidos de COVID-19 donde se encontró en gran cantidad NRP1 en las células neuroolfatorias (150).

Dentro de las disfunciones olfatorias, podemos encontrar dos tipos: las que producen una alteración en la percepción (causas cualitativas, donde encontramos las fantosmias o cacosmias) y las que producen una alteración de la intensidad (causas cuantitativas, como la hiposmia o la anosmia). Las más observadas en esta enfermedad son las causas cuantitativas sin otra sintomatología otorrinolaringológica acompañante (en el 79% de los casos), siendo el primer síntoma en torno a 11% de los casos según algunos estudios y un 20% como único síntoma (146,151).

La duración de las alteraciones olfatorias es muy variable. El SARS-CoV-2 es uno de los virus que más rápidamente permite recuperar el olfato (días o semanas, generalmente entre 1-2 semanas), estando la media de recuperación de 9,03 días (145,153) a diferencia de otros virus clásicos que afectan al olfato, con recuperación del mismo en meses (146), aunque hay estudios que reportan recuperaciones a los 4 meses (154) respecto al SARS-CoV-2. La

recuperación del olfato es inversamente proporcional a la severidad de la pérdida (151). Cuando dura más de 4-12 semanas desde el inicio de la sintomatología, lo clasificaríamos como COVID-19 persistente, con una prevalencia muy variable en la literatura (5-50%) (144,145).

La evaluación del olfato se puede realizar tanto con pruebas subjetivas (155,156), como la Escala Analógica Visual (EVA) o la olfatometría, que mide tanto la capacidad de distinguir olores como la cantidad de olor percibido; o con pruebas objetivas como los potenciales evocados olfatorios (de difícil interpretación), el electroolfatograma, el cual mide la actividad eléctrica del epitelio olfatorio nasal, la resonancia magnética funcional visualizando bulbo y tracto olfatorio activándose con estímulos olfativos y la biopsia mucosa olfatoria (157). Las pruebas objetivas reportan más alteraciones olfatorias que las pruebas subjetivas (145).

Dentro de las pruebas objetivas, la más empleada ha sido la RMN funcional, ya que es una prueba no invasiva que permite cuantificar la actividad cerebral tras un estímulo olfatorio. Sin embargo, su uso de rutina aún no está aprobado (157,158).

No existe un tratamiento específico para la recuperación de la disfunción olfatoria (145). No obstante, algunos estudios postulan que el tratamiento con corticoterapia intranasal puede favorecer a la recuperación de la funcionalidad al disminuir la inflamación de la mucosa nasal (159). Otros afirman que no mejora significativamente la anosmia, por lo que no existe clara indicación para pautarlos de forma rutinaria, recomendándose en los casos asociados a rinosinusitis crónica (160–162).

En otros estudios apoyan la rehabilitación olfatoria con el entrenamiento olfatorio, que consiste en la exposición repetida a distintos odorantes durante al menos 21 días. Parece que este último ha demostrado la mejora de los umbrales sensitivos y la capacidad de identificación y discriminación de olores (145).

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La pandemia por COVID-19 ha supuesto una emergencia sanitaria a nivel mundial. Al ser un virus de reciente aparición, surge de especial interés la investigación sobre el mismo y su patogenia, sus principales síntomas y signos, pruebas diagnósticas, medidas preventivas y su tratamiento más eficaz (6). En la actualidad, numerosos proyectos de investigación evalúan los diferentes factores que versan sobre este virus.

El SARS-CoV-2 produce gran variedad de sintomatología y afectación a diferentes grupos poblacionales, dando lugar a una importante morbilidad y mortalidad, sobre todo en pacientes con patología previa (como la diabetes y la hipertensión) y edad avanzada (15). Además, la aparición de nuevas variantes con sus diferencias clínicas y patológicas resulta de gran desafío a la hora de la lucha contra este virus.

La entrada del SARS-CoV-2 a las células diana en los diferentes tejidos como en la mucosa nasal, bronquial, pulmones, íleon, colon e hígado (73), es iniciada por interacciones entre las glicoproteínas del virus y receptores, como la enzima convertidora de angiotensina (ACE2) gracias a la furina (2,11). Posteriormente, es procesado por una serin-proteasa transmembrana plasmática tipo II (TMPRSS2), la cual es esencial para que el virus pueda fragmentar la proteína S viral, paso necesario para su entrada en el citoplasma y producir el daño en diferentes células del huésped, como las respiratorias y células de soporte del epitelio olfatorio, que justificaría los síntomas de disfunción olfatoria (15). También es importante

destacar la NRP1, que, en su unión con la ACE2, podría favorecer a la entrada del virus y replicación (13).

Existen algunos puntos controvertidos sobre la expresión de la ACE2 y la proteasa TMPRSS2 en el epitelio nasal y en las vías aéreas inferiores, como, por ejemplo, si la expresión de dichas proteínas es menor en niños que en adultos, dónde se localizan y en qué células, si se expresan también en orofaringe, y si hay relación entre su expresión con los síntomas nasales y con la gravedad de la enfermedad (126,143). Estos datos pueden ser de interés a la hora de diseñar posibles estrategias de prevención y tratamiento de la enfermedad por coronavirus.

Además, los datos de prevalencia de la alteración olfatoria son muy variables (10), generalmente basados en encuestas de autoevaluación y con series de pacientes con escasa muestra y gran discrepancia en la recuperación del olfato y el gusto (6,130,163). La pérdida de olfato y gusto suele ser uno de los síntomas iniciales de la enfermedad en los casos leves y puede ayudar al diagnóstico precoz (143).

Ante el gran número de controversias existentes en esta nueva enfermedad y la importancia de un mejor conocimiento de los procesos fisiopatológicos para poder enfocar la infección por SARS-CoV-2, nos planteamos el presente estudio para conocer la expresión de la ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1, en un grupo de pacientes con infección pasada en la Región de Murcia en los años 2020 y 2021, lo cual sin duda podría repercutir en un diagnóstico más precoz y nos podría dar información desde el punto de vista preventivo, pronóstico y terapéutico. Así mismo se evaluará la disfunción olfatoria en estos pacientes por

el interés de esclarecer la fisiopatología y mecanismo de acción de este virus a nivel nasal y correlacionarlo con otras variables sociodemográficas, clínicas y analíticas.

Este proyecto de investigación pretendió establecer un método mínimamente invasivo, mediante una toma de muestra del exudado nasal (o faríngeo si no se pudo obtener el nasal), que permitiese identificar qué pacientes tendrían más riesgo de presentar una peor evolución de la enfermedad dependiendo de la expresión en mucosa nasal de los receptores ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1. También se estudió la asociación de estos cuatro receptores y la presencia de disfunción olfatoria y disgeusia. Se correlacionaron, así mismo, variables demográficas como la edad, sexo y raza, variables clínicas como haber sido ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos durante la enfermedad por COVID-19, ser fumador o no fumador, patologías previas de base (hipertensión, diabetes mellitus y asma) y parámetros analíticos como el dímero D, carga viral, grupo sanguíneo y presencia del gen 2DS4 comparándolas con la disfunción olfatoria que padecieron los pacientes de nuestra muestra. Destacamos estos últimos parámetros por su relación demostrada con el COVID-19 en numerosos estudios. Se ha evidenciado el aumento del dímero D en los pacientes infectados de COVID-19 (164). También se relaciona la carga viral con un aumento de la capacidad infectiva del SARS-CoV-2 (46,47). Ciertos grupos sanguíneos se han visto correlacionados con la gravedad, destacando el grupo sanguíneo A (165). Un estudio reciente analizó varios genes KIR y su implicación con la defensa inmunitaria realizada por el organismo contra el COVID-19. De estos destacamos el gen 2DS4, por su demostrada relación con la gravedad en la enfermedad producida por el SARS-CoV-2 según el estudio

de Bernal et al (166). Por todo esto, nos pareció relevante analizar estos parámetros analíticos e inmunológicos en nuestra muestra.

En este estudio no se compararon tratamientos, por lo que el único riesgo que pudo originar fueron los relacionados con la extracción de la muestra (técnica similar a la toma de muestra para estudio PCR del virus).

El estudio fue realizado de acuerdo con el protocolo de Buena Práctica Clínica (BPC) y los requisitos legales pertinentes.

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

La hipótesis principal supuso que los niveles de receptores de ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1 en la mucosa nasofaríngea podrían estar directamente relacionados con la gravedad de la enfermedad, lo cual podría predecir mediante un exudado nasofaríngeo qué pacientes con COVD-19 van a presentar una enfermedad leve o grave.

3.2. OBJETIVOS PRINCIPALES

El objetivo principal de este proyecto fue realizar una cuantificación relativa de la expresión de la ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1 en el epitelio nasal o en su defecto orofaríngeo de pacientes diagnosticados de COVID-19 y correlacionarlo con la gravedad de la enfermedad según la Escala de la Gravedad propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

3.3. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Los objetivos secundarios fueron:

1. Valorar las características sociodemográficas del estudio.

2. Valorar la relación entre la expresión de los receptores con la presencia de disfunción olfatoria y disgeusia.

3. Analizar la presencia de disfunción olfatoria en los pacientes de nuestra muestra que lo padecieron durante su enfermedad por COVID-19.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio analítico observacional transversal multicéntrico, mediante el estudio molecular de una muestra del exudado nasal y/o faríngeo en pacientes que previamente hayan padecido la enfermedad de COVID-19, documentada mediante una prueba PCR, con sintomatología de mayor o menor gravedad, medido mediante la Escala de gravedad de la OMS (167) .

Tabla 8. Escala de Gravedad según la Organización Mundial de la Salud.

Escala Gravedad OMS	
Grupos	Criterios clínicos
1	Sin ingreso
2	Ingreso con oxígeno ambiente
3	Oxígeno a bajo flujo
4	Ventilación no invasiva u oxígeno a alto flujo
5	Ventilación invasiva
6	Muerte

Esta tabla presenta varias categorías de gravedad del COVID-19, incluyendo si el paciente requirió ingreso hospitalario, oxígeno, ventilación no invasiva o ventilación invasiva.

También se analizaron categorías combinadas. Por una parte, agrupamos la Escala de Gravedad de la OMS en pacientes que precisaron o no ventilación (grupos 1-3) versus ventilación invasiva (grupos 4-5).

Así mismo se agrupó los ítems de esta escala dependiendo de si habían empleado ventilación no invasiva o no precisaron ventilación (grupos 1-4) o necesitaron ventilación invasiva (grupo 5).

También dividimos la Escala de Gravedad de la OMS según si precisaban ingreso o no, agrupando el grupo 1 y 2 frente el 4 y 5 (no se registró ningún paciente en el grupo 3 ni 6).

4.2. VARIABLES

Las variables analizadas en este estudio fueron:

1. Expresión en mucosa nasal o faríngea de ACE2.
2. Expresión en mucosa nasal o faríngea de TMPRSS2.
3. Expresión en mucosa nasal o faríngea de furina.
4. Expresión en mucosa nasal o faríngea de NRP1.
5. Edad.
6. Sexo.
7. Raza.
8. Gravedad de la enfermedad mediante clasificación de gravedad propuesta por la Organización Mundial de la Salud (Tabla 8).
9. Disfunción olfatoria.
10. Disgeusia.
11. Estancia en UCI.

12. Hábito tabáquico.
13. Presencia o no de hipertensión.
14. Presencia o no de DM.
15. Presencia o no de asma.
16. Carga viral.
17. Dímero D.
18. Grupo sanguíneo.
19. Gen 2DS4.

4.3. CRONOLOGÍA

Las fases del estudio fueron:

- Recogida de las muestras en octubre de 2020.
- Procesamiento de las muestras entre noviembre de 2020 y marzo de 2021.
- Análisis de los resultados para elaboración del informe final a partir de marzo de 2021.

4.4. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Se seleccionó una muestra de 104 pacientes de entre una población de 201 pacientes mayores de 18 años que padecieron la enfermedad de COVID-19 confirmada mediante PCR positiva y que fueron tratados en los hospitales Virgen de la Arrixaca, Reina Sofía y Morales Meseguer de la ciudad de Murcia durante marzo de 2020 y marzo de 2021, incluidos una vez

que alcanzaron la estabilidad clínica en el día 75 (fundamentalmente para evitar sesgos debido a los tratamientos aplicados) y observados 120 días después del inicio de los síntomas. A estos pacientes se les tomó una muestra de exudado nasal (o faríngeo cuando no se pudo obtener el nasal, el cual solo fue extraído en un paciente) para analizar las diferentes proteínas descritas anteriormente (ACE2, TMPRSS2, furina y NRP-1). El proyecto contó con la aprobación del Comité Ético del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (Anexo I). La recogida de datos y almacenamiento de datos se realizó de forma anonimizada. La participación en el registro no implicó modificación del proceso diagnóstico ni del manejo clínico.

1. Criterios de inclusión

- Pacientes diagnosticados de COVID-19 con prueba PCR positiva en el tiempo reclutado.
- Tener voluntad de participar en el estudio y firmado el Consentimiento Informado para la extracción de muestras.
- Edad mayor de 18 años.

2. Criterios de exclusión

- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes fallecidos.
- Pacientes que no cumplen con los criterios de inclusión.

4.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

En primer lugar los pacientes fueron informados del proceso y firmaron un consentimiento informado que fue explicado verbalmente, donde se detallaba todo el procedimiento, que debían leer y comprender (Anexo II).

Las muestras se tomaron mediante un frotis con un hisopo del exudado nasal y en caso de imposibilidad para extraer este último, se realizó mediante un exudado orofaríngeo (solo se obtuvo de un paciente por gran dismorfia septal e imposibilidad para obtención de la muestra por la nariz).

La toma de muestras se realizó con los siguientes equipos de protección individual:

- Bata.
- Mascarilla FFP2 o FFP3.
- Guantes.

Para la toma de muestra del exudado nasofaríngeo se introdujo un hisopo fino y flexible por una narina y luego por la otra. El hisopo se mantuvo unos segundos y luego se retiró lentamente girándolo. En el caso de la toma de muestra orofaríngea, se procedió a frotar por las paredes posterior y laterales orofaríngeas un hisopo grueso durante unos segundos.

Se detalla en el Anexo III el conjunto de acciones que se realizaron para procesar la muestra del exudado obtenido. En resumen, se procedió en primer lugar a centrifugar la muestra y retrotranscribirla. Posteriormente se amplificó el material obtenido para su análisis

y se volvió a centrifugar la muestra. La expresión de los receptores obtenidos se comparó con la expresión del gen GADPH para obtener las unidades totales de cada receptor.

El material se remitió al BIOBANCO-IMIB (Anexo IV) donde se almacenó y custodió.

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

1. Análisis de los receptores y la gravedad

Para evaluar la distribución normal de los datos se emplearon gráficos de densidad y de cuantiles, reforzados con la prueba de Shapiro-Wilk. Para las variables categóricas, los datos se presentan como frecuencia absoluta (n) y frecuencia relativa (%), mientras que las variables continuas se presentan como medianas y rangos intercuartílicos debido a su distribución no normal. Dado que no hubo una interacción significativa entre la edad, el sexo o la raza con el número de receptores (es decir, ACE2, TMPRSS2, furina y NRP1) en relación con la necesidad de ventilación, disfunción olfatoria o disgeusia ($p > 0,05$ para todos los casos), no se realizaron análisis estratificados por estas variables sociodemográficas.

Se implementaron modelos lineales generalizados con distribución binomial para explorar las asociaciones del número de receptores o el estatus (nivel bajo, nivel medio, nivel alto) con la necesidad de ventilación mecánica, presentar disfunción olfatoria o disgeusia en los pacientes del estudio. Estos modelos utilizaron técnicas robustas para gestionar la heteroscedasticidad y los valores atípicos a través del paquete *robustbase* (168).

Específicamente, los modelos lineales generalizados con distribución binomial se implementaron utilizando el enfoque "*Mqle*", que ajusta el modelo lineal generalizado utilizando estimadores robustos de tipo *Mallows o Huber*.

Además, se estimaron las probabilidades predichas (%) (junto con sus intervalos de confianza (IC) del 95%) de necesitar ventilación, presentar disfunción olfatoria o disgeusia en función del número de receptores o de sus estatus.

Todos los modelos se ajustaron para ciertas covariables, incluyendo edad, sexo y raza. Asimismo, para minimizar el posible sesgo causado por la exclusión de casos con datos faltantes, realizamos análisis adicionales utilizando métodos de imputación múltiple. Para llevar a cabo estos análisis, utilizamos el paquete *mice* para evaluar los valores que faltaban en los datos. Supusimos que la falta de datos se producía aleatoriamente y, por tanto, utilizamos el paquete *mice* para sustituir esos valores perdidos empleando imputaciones múltiples mediante ecuaciones encadenadas (169). Para garantizar una precisión suficiente, generamos un total de 10 conjuntos de datos con imputaciones múltiples, siguiendo la recomendación de establecer un número de imputaciones (m) superior a 100 veces la mayor proporción de información faltante (es decir, 9,6%) (170).

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico R (versión 4.4.0), junto con *RStudio* (2024.04.1+748). La significación estadística se fijó en un valor $p < 0,05$.

2. Análisis de la disfunción olfatoria.

Se analizaron variables sociodemográficas (edad, sexo y raza), clínicas (estancia en UCI, estatus de fumador, HTA, DM y asma) y analíticas (carga viral, dímero D, grupo sanguíneo y gen 2DS4) comparándolas con la presencia de disfunción olfatoria en los pacientes de nuestra muestra. Para ello se realizaron tablas cruzadas entre las variables categóricas (raza, sexo, estancia en UCI, estatus de fumador, HTA, DM, asma, grupo sanguíneo y gen 2DS4) analizadas con la prueba exacta de Fisher. Para el análisis de las variables cuantitativas (edad, dímero D y carga viral) se llevó a cabo un análisis de regresión logística binaria para estudiar la asociación de éstas y la disfunción olfatoria. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico SPSS (versión 28.0.0) para Windows (SPSS® Inc., Chicago, IL). La significación estadística se fijó en un valor de $p < 0,05$.

Se midió el grado de disfunción olfatoria mediante el test de olfato de Barcelona (BAST-24, Anexo V). Esta prueba consiste en exponer al paciente a 24 odorantes químicos, de los cuales 20 evalúan el I par craneal y 4 el V par. La puntuación obtenida se clasifica de la siguiente manera (171):

- Identificación de 20-18 odorantes: olfato excelente.
- Identificación de 17-15 odorantes: olfato muy bueno.
- Identificación de 14-13 odorantes: olfato bueno.
- Identificación de 12-11 odorantes: hiposmia leve.
- Identificación de 10-8 odorantes: hiposmia moderada.

- Identificación de 7-5 odorantes: hiposmia grave.
- Identificación de 4-1 odorantes: anosmia.
- No identifica ningún odorante: probable simulador.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. RECEPTORES Y SU RELACIÓN CON LA GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD

En la Tabla 9 se muestran los datos demográficos de la muestra analizada. Para una mayor precisión, se analizó la base de datos, por un lado, con todos los casos (incluyendo las pérdidas) y por otro lado la base de datos sin incluir las pérdidas (base de datos imputada). Se adjunta en el Anexo VI las tablas con ambas bases de datos para la visualización y consulta del lector. Se presenta así mismo los gráficos obtenidos usando técnicas de imputaciones múltiples en este apartado y sin usar técnicas de imputación múltiples en el apartado de Anexo VII.

Observamos que el 66,3% de la muestra estaba formada por hombres (69 pacientes) seguida de un 33,7% de mujeres (35 pacientes). La mediana de edad se situó en torno a 58,5 años, con un rango intercuartílico (RI) de 16,2 años.

Destaca un alto porcentaje de pacientes caucásicos, en total un 81,7% de la muestra (85 pacientes), a diferencia de los no caucásicos, que corresponden a un 18,3% (19 pacientes).

A continuación, se calculó la mediana de los cuatro receptores analizados (furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2). La mediana de unidades para el receptor furina fue de 212,3

unidades en contando con los casos perdidos y sin contar con ellos es de 212. Para el receptor ACE2, la mediana se situó en 2098,3 unidades. La NRP1, en 1904,3 unidades contando con los casos perdidos y sin contar con ellos en 1897,7 unidades. Por último, en cuanto a la TMPRSS2, la mediana fue de 113 unidades.

Para comparar los resultados con la gravedad, se empleó la Escala de Gravedad propuesta por la OMS (167).

Un 58,1% no necesitaron ventilación (61 pacientes), frente a un 41,3% que precisaron ventilación (43 pacientes).

El 89,4% fue no invasiva o no requirieron ventilación (93 pacientes) frente al 10,6% que precisó ventilación invasiva (11 pacientes).

Los pacientes que precisaron ingreso fueron el 61,5% (64 pacientes) frente a los 38,5% que no lo precisaron (40 pacientes).

Al agrupar la muestra por necesidad de ventilación (grupos 1-3) o no (grupos 4-5), se presentó una mayor homogeneización que agrupándola según si habían precisado ventilación no invasiva o no habían requerido ventilación (grupos 1-4) o invasiva (grupo 5), por lo que se decidió hacer la comparativa mediante esta agrupación.

En la disgeusia, un 63,5% de los pacientes negaron padecerla (66 pacientes) frente al 36,5% que sí que la describían como parte de sus síntomas (39 pacientes). En cuanto a la

disfunción olfatoria, el 62,5% no declaró haberla padecido (65 pacientes), frente a un 37,5% que sí refirió tenerla (39 pacientes).

Tabla 9. Datos descriptivos de los pacientes de estudio.

Variables		Base de datos imputada
Edad	Mediana (RI)	58,5 (16,2)
Sexo	Hombre (%)	69 (66,3)
	Mujer (%)	35 (33,7)
Raza	Caucásico (%)	85 (81,7)
	No caucásico (%)	19 (18,3)
Furina (unidades)	Mediana (RI)	213,0 (103,8)
ACE2 (unidades)	Mediana (RI)	2098,3 (1311,7)
NRP1 (unidades)	Mediana (RI)	1897,7 (1599,8)
TMPRSS2 (unidades)	Mediana (RI)	113,0 (54,0)
Gravedad COVID-19 (estatus) †	Sin ingreso (%)	40 (38,5)
	Ingreso con oxígeno (%)	21 (20,2)
	Ventilación no invasiva (%)	32 (30,8)
	Ventilación invasiva (%)	11 (10,6)
Gravedad COVID-19 (ventilación) †	No ventilación (%)	61 (58,7)
	Ventilación (%)	43 (41,3)
Gravedad COVID-19 (ventilación invasiva) †	No ventilación invasiva (%)	93 (89,4)
	Ventilación invasiva (%)	11 (10,6)
Gravedad COVID-19 (ingreso) †	Ingreso (%)	64 (61,5)
	No ingreso (%)	40 (38,5)
Disgeusia	No (%)	66 (63,5)
	Sí (%)	38 (36,5)
Disfunción olfatoria	No (%)	65 (62,5)
	Sí (%)	39 (37,5)

† Según la Escala de Gravedad de la Organización Mundial de la Salud (167). ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; COVID-19, Coronavirus Disease 2019; NRP1, neuropilin-1; *p*, significancia estadística; RI, rango intercuartílico; TMPRSS2, transmembrane serine protease 2.

En la siguiente tabla mostramos los resultados obtenidos al realizar un análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores (furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2) y la gravedad del COVID según la Escala de Gravedad de la OMS en la muestra de pacientes obtenidos, presentando el modelo tanto ajustado por edad, sexo y raza como sin ajustarlo. Se exponen los valores por 100 unidades ya que las unidades de los receptores evaluados son muy elevadas y todos los valores tenderían a ir a 0, sin ser representativos.

En la tabla presentamos el valor de la *odds ratio* (OR), el rango intercuartílico (ET), el intervalo de confianza (CI) y la significancia estadística (*p*). Mostramos así mismo el modelo ajustado por edad, sexo y raza y sin ajustar por estas variables.

- Modelo no ajustado:

Furina: Por cada aumento de 100 unidades en el número de furina, el riesgo de COVID-19 grave aumentó en un 34% (OR = 1,34) en la base de datos imputada. Sin embargo, estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas (p = 0,152).

ACE2: Por cada aumento de 100 unidades en el número de ACE2, el riesgo de COVID-19 grave aumentó en un 2% (OR = 1,02), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,401).

NRP1: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de NRP1 y la gravedad de COVID-19 (p = 0,798).

TMPRSS2: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de TMPRSS2 y la gravedad de COVID-19 (p = 0,517).

- Modelo ajustado:

Furina: Después de ajustar por factores de confusión, el aumento en el riesgo de COVID-19 grave asociado con cada 100 unidades de furina fue del 38% (OR = 1,38) en la base de datos imputada. Estas asociaciones tampoco fueron estadísticamente significativas (p = 0,157).

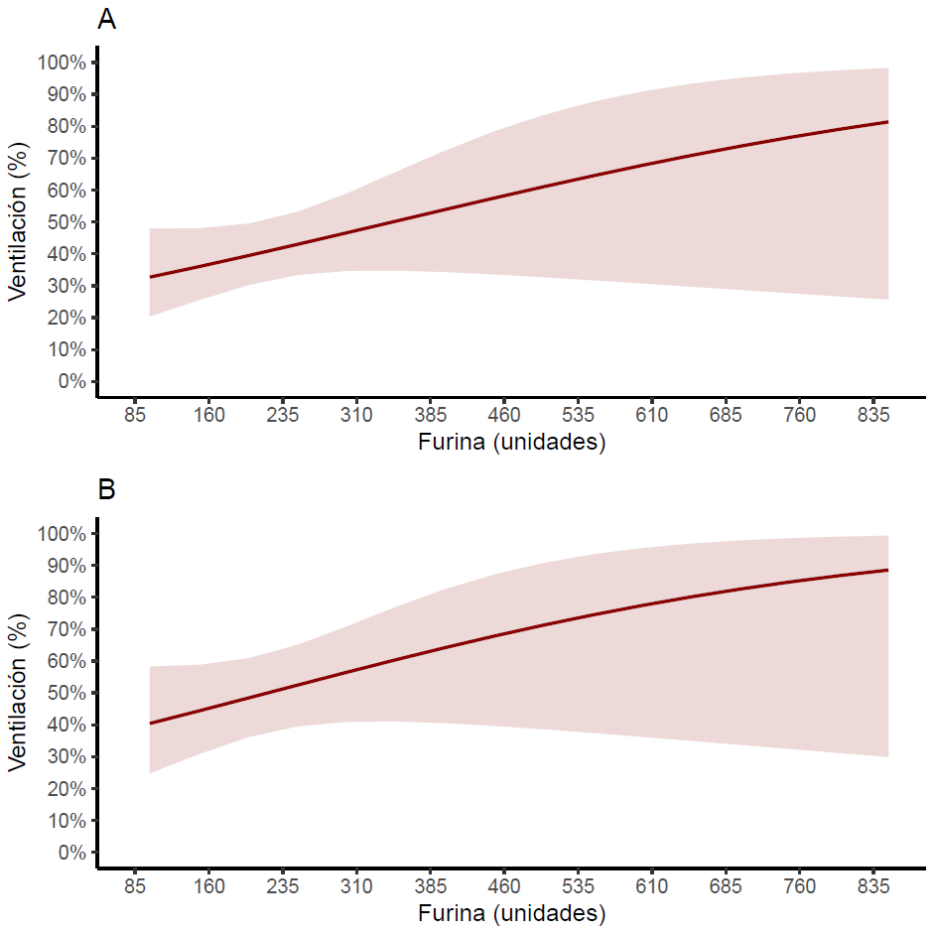


Figura 13. Furina y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de furina en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

ACE2: No se observó una asociación estadísticamente significativa entre el número de receptor de la ACE2 y la gravedad del COVID-19 después del ajuste por sexo, edad y raza (p = 0,890).

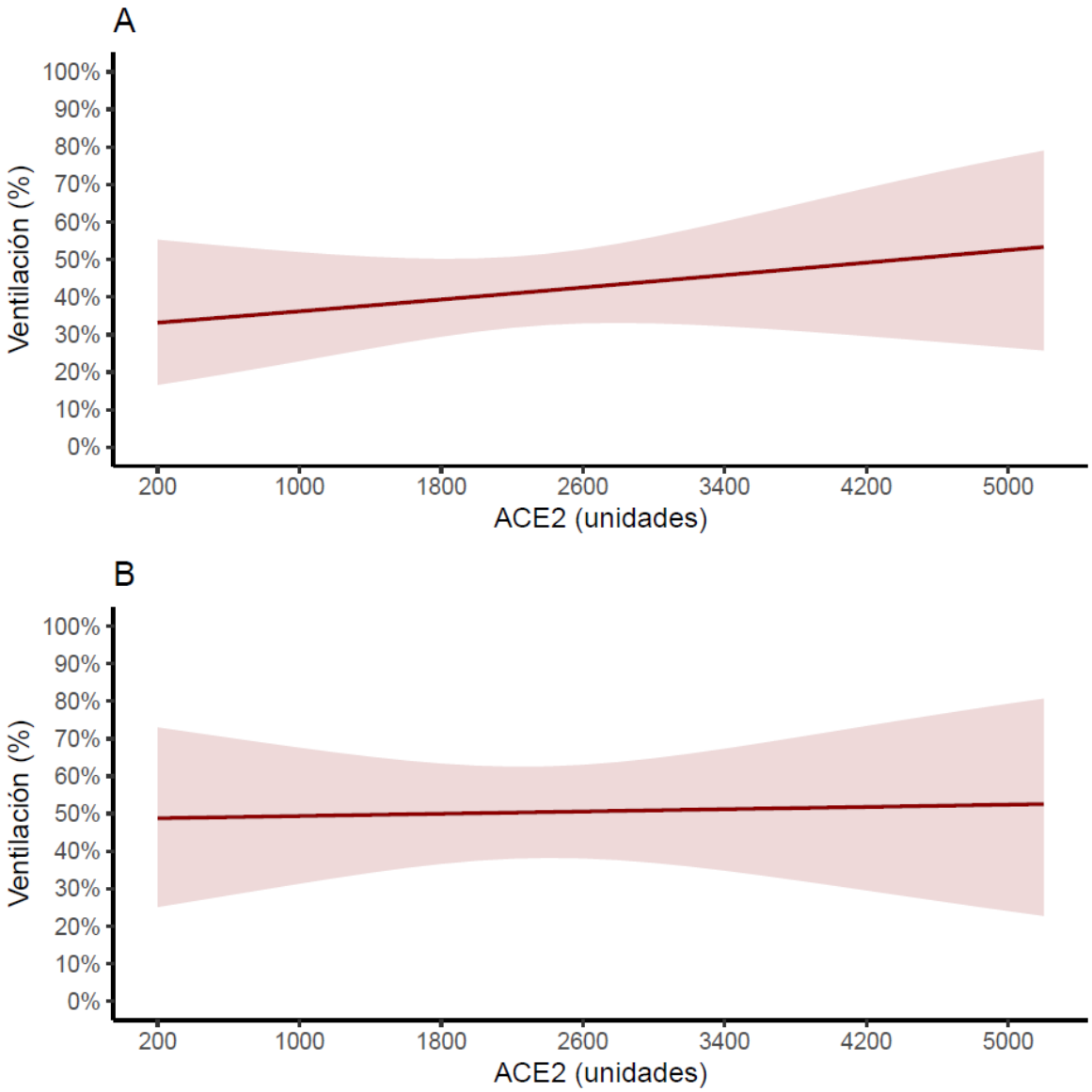


Figura 14. ACE2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de ACE2 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

NRP1: Tampoco se observó una asociación estadística al comparar la NRP1 con la gravedad del COVID-19 (p = 0,788).

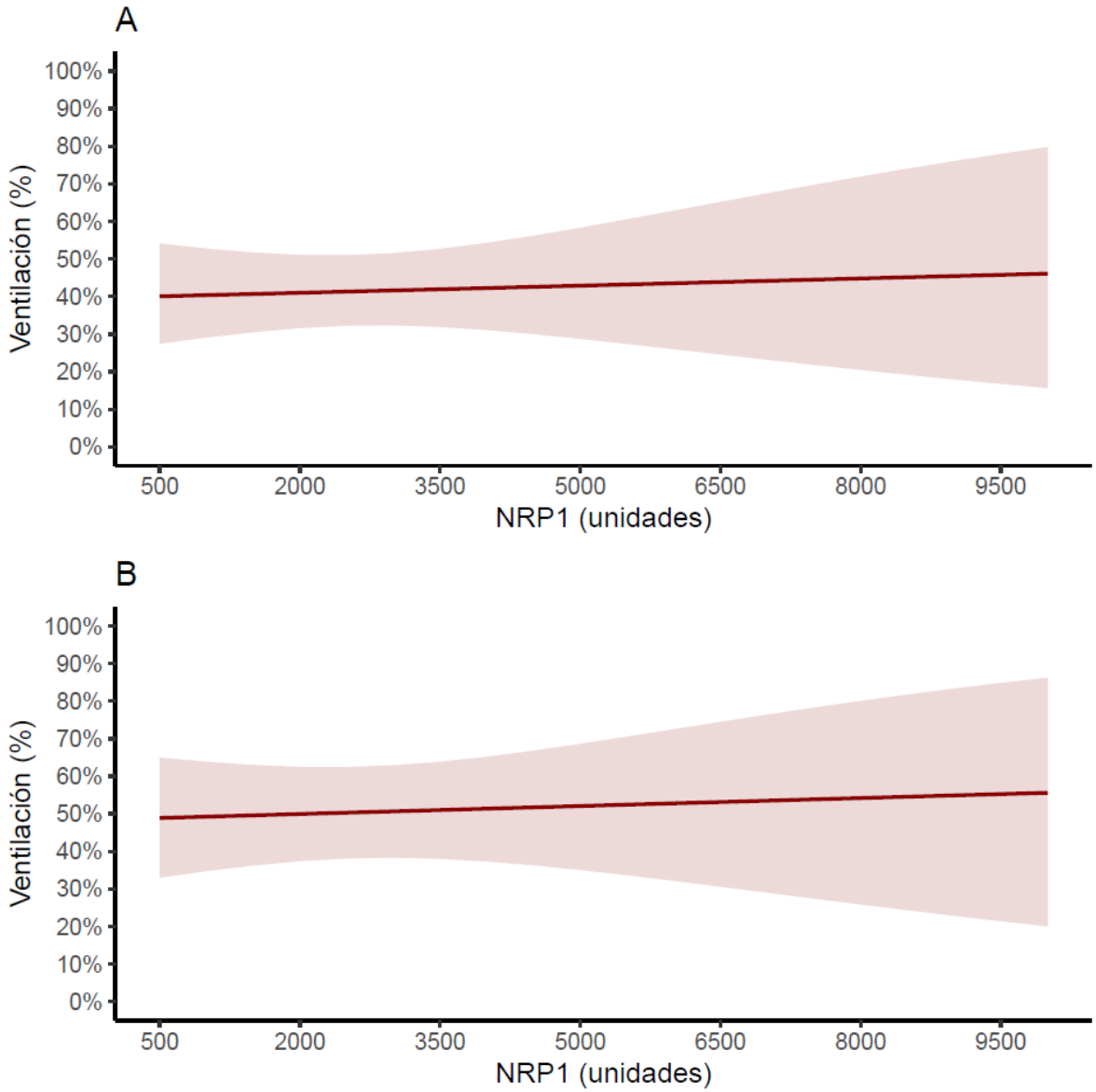


Figura 15. NRP1 y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de NRP1 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

TMPRSS2: Por último, tampoco se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de estos receptores y la gravedad de COVID-19 después del ajuste por edad, sexo y raza (p = 0,764).

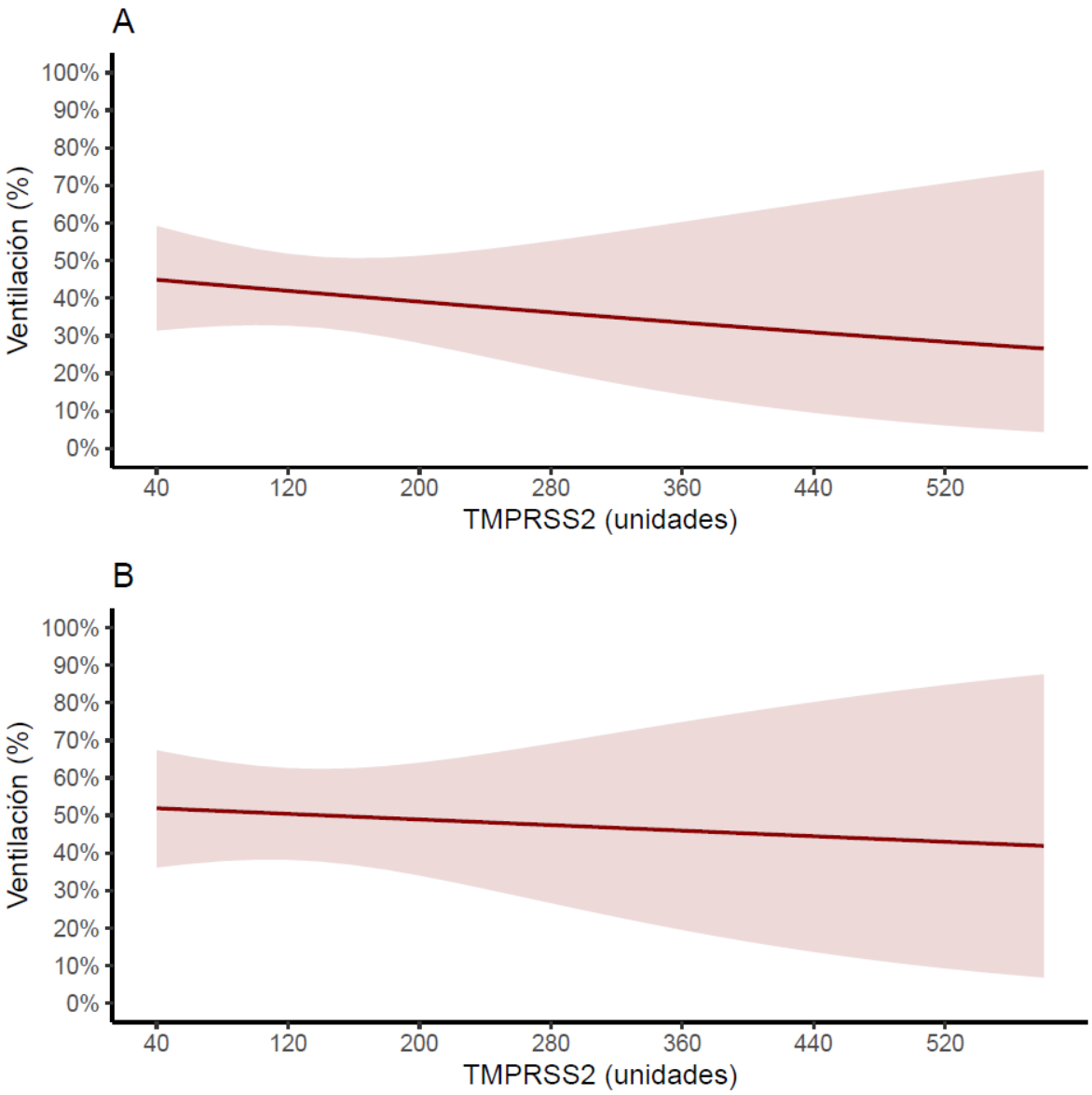


Figura 16. TMPRSS2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de TMPRSS2 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

Tabla 10. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y gravedad del COVID según la Escala de la Organización Mundial de la Salud en pacientes.

	Base de datos imputada		
	Gravedad COVID-19 ‡		
Predictor	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado			
Furina*	1,34	0,90 a 2,00	0,152
Modelo ajustado†			
Furina*	1,38	0,88 a 2,17	0,157
Modelo no ajustado			
ACE2*	1,02	0,98 a 1,06	0,401
Modelo ajustado†			
ACE2*	1,00	0,96 a 1,05	0,890
Modelo no ajustado			
NRP1*	1,00	0,98 a 1,02	0,798
Modelo ajustado†			
NRP1*	1,00	0,98 a 1,02	0,788
Modelo no ajustado			
TMPRSS2*	0,86	0,55 a 1,36	0,517
Modelo ajustado†			
TMPRSS2*	0,93	0,57 a 1,51	0,764

* Las unidades de receptores se agrupan por cada 100 unidades ya que el nivel de éstos es muy elevado † Ajustado por edad, sexo y raza. ‡ Según la Escala de Gravedad de la Organización Mundial de la Salud ("no ventilación" frente a "ventilación") (123). ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; COVID-19, *Coronavirus Disease* 2019; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

En la Tabla 11 se expone el análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y la gravedad del COVID según la Escala de la OMS en la muestra de pacientes evaluados.

Al no existir un punto de corte en la literatura sobre cuantas unidades corresponderían a un nivel elevado, medio o bajo de cada receptor se procedió a realizar tertiles de cada uno de los receptores. Como en la tabla anterior, los receptores analizados fueron furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2, comparándolos con la Escala de Gravedad de la OMS dividendo los grupos en necesidad de ventilación o no ventilación.

En la tabla se muestra la *odds ratio* (OR), el rango intercuartílico (ET), el intervalo de confianza (CI) y la significancia estadística (*p*).

Se presenta así mismo el modelo ajustado por edad, sexo y raza y sin ajustar.

- Modelo no ajustado:

Furina: Los niveles medio y alto de furina se asociaron con un mayor riesgo de COVID-19 grave (OR = 2,68 y OR = 1,77, respectivamente), aunque estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas, sin embargo, en el nivel medio, la *p* se acerca mucho a la significación estadística (*p* = 0,051 nivel medio, *p* = 0,249 nivel alto).

ACE2: Los niveles medios de ACE2 se asociaron con un menor riesgo de COVID-19 grave (OR = 0,58), pero tampoco se adquirió una significancia estadística (*p* = 0,285).

NRP1: Los niveles medio y alto de NRP1 se asociaron con un menor riesgo de COVID-19 grave (OR = 0,46 y OR = 0,79, respectivamente), sin alcanzar significancia estadística (NRP1 medio *p* = 0,120; NRP1 alto: *p* = 0,632).

TMPRSS2: Los niveles medio y alto de TMPRSS2 no se asociaron significativamente con la gravedad del COVID-19 (OR = 1,05 y OR = 1,13, respectivamente). La significancia estadística fue del nivel medio: p = 0,921; TMPRSS2 alto: p = 0,808.

- Modelo ajustado:

Furina: Después de ajustar por factores de confusión, las asociaciones entre los niveles de furina y la gravedad de COVID-19 perdieron relevancia y no fueron estadísticamente significativas (furina medio: p = 0,356; furina alto: p = 0,237).

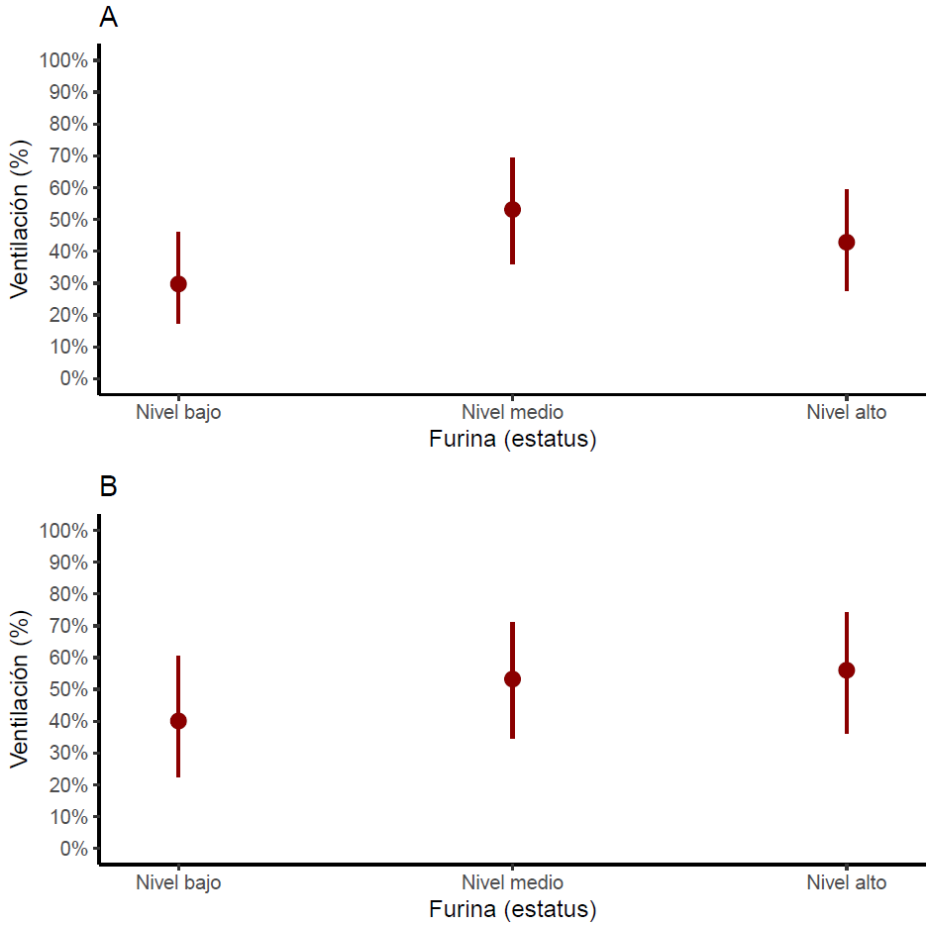


Figura 17. Estatus del nivel de furina y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de furina (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

ACE2: El nivel medio de ACE2 se asoció con un menor riesgo de COVID-19 grave (OR = 0,17, *p* = 0,007).

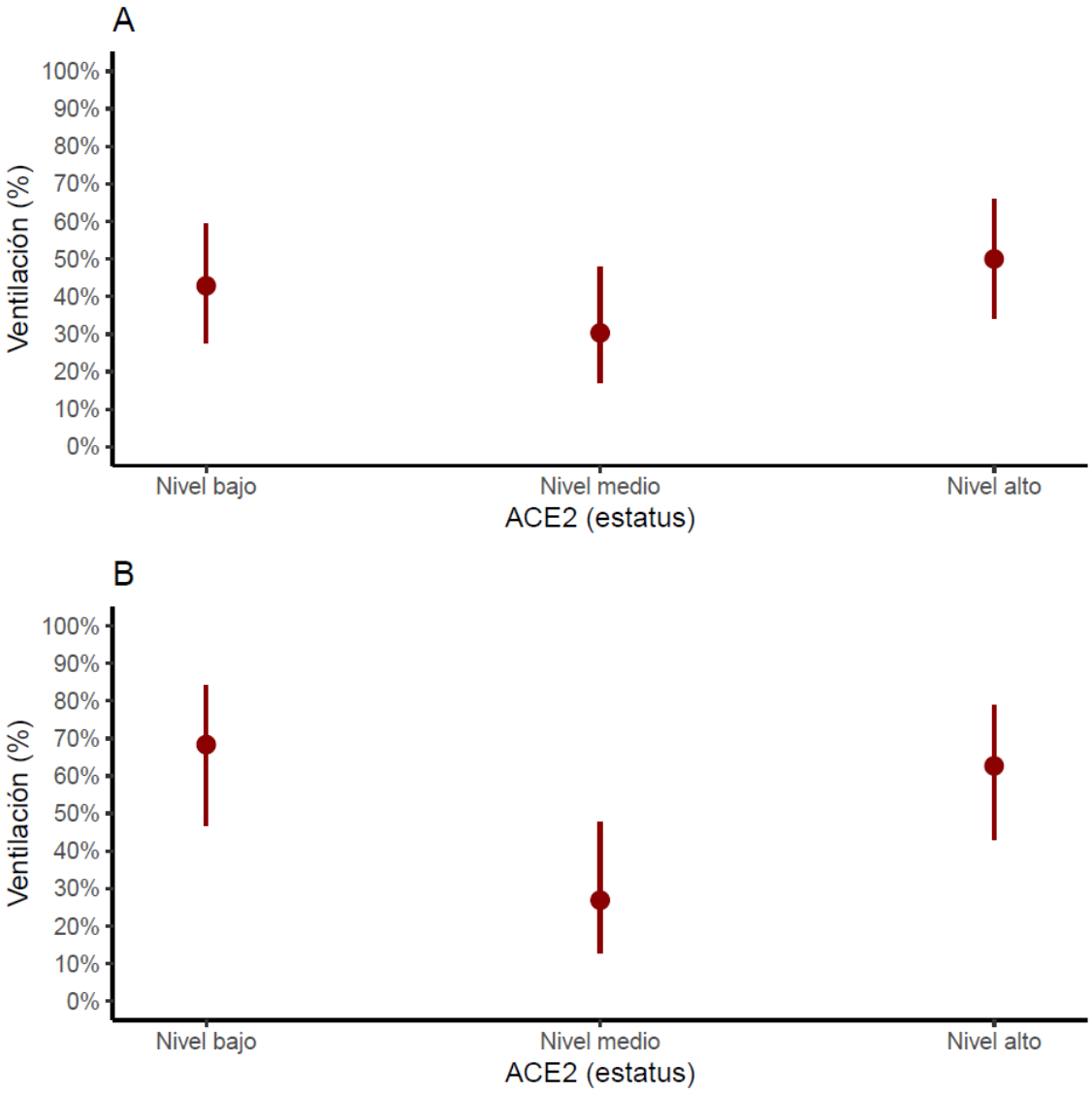


Figura 18. Estatus de niveles de ACE2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de ACE2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

NRP1: El nivel medio se asoció con un menor riesgo de COVID-19 grave (OR = 0,29, p = 0,030), pero el nivel alto no mostró asociación significativa (p = 0,331).

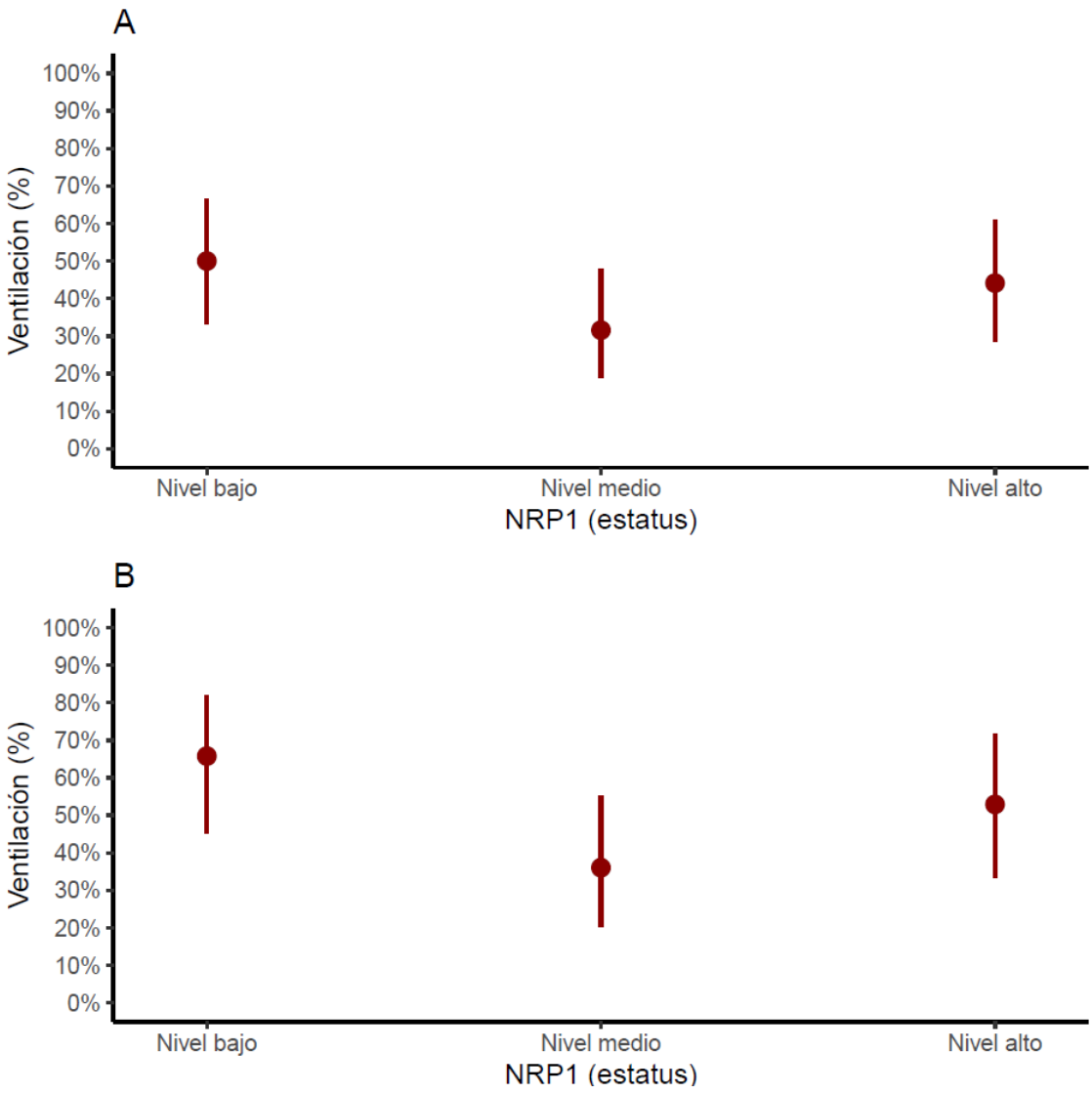


Figura 19. Estatus de niveles de NRP1 y ventilación usando técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de NRP1 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

TMPRSS2: Los niveles medio y alto de TMPRSS2 no mostraron asociaciones estadísticamente significativas con la gravedad de COVID-19 después del ajuste (TMPRSS2 medio: p = 0,771; TMPRSS2 alto: p = 0,977).

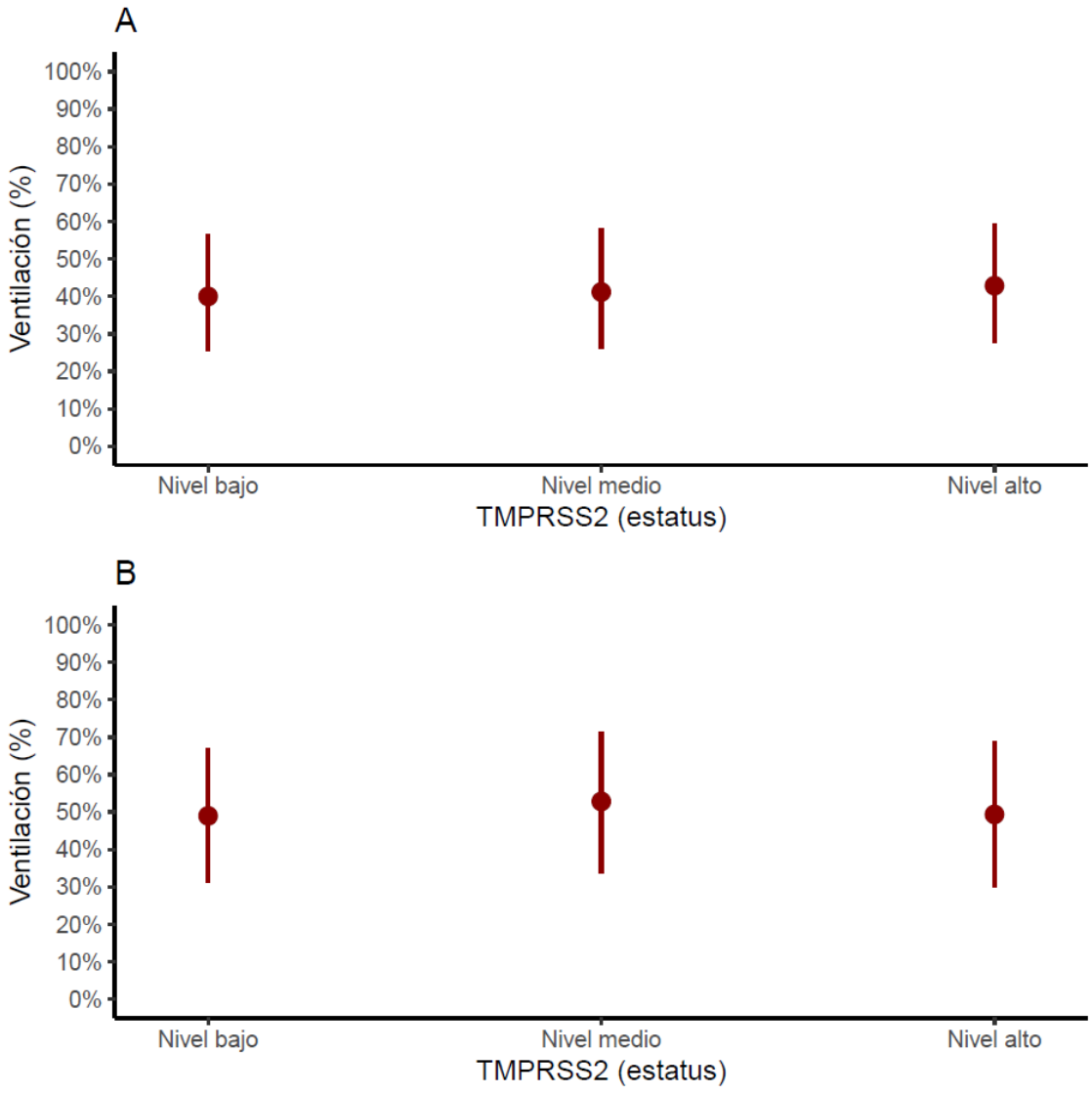


Figura 20. Estatus de niveles de TMPRSS2 y ventilación con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de TMPRSS2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

Tabla 11. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y gravedad del COVID según la Escala de la Organización Mundial de la Salud en pacientes.

	Base de datos imputada		
	Gravedad COVID-19 ‡		
Predictor	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado			
Nivel bajo furina	Ref.		
Nivel medio furina	2,68	1,00 a 7,21	0,051
Nivel alto furina	1,77	0,67 a 4,69	0,249
Modelo ajustado†			
Nivel bajo furina	Ref.		
Nivel medio furina	1,70	0,55 a 5,25	0,356
Nivel alto furina	1,90	0,65 a 5,54	0,237
Modelo no ajustado			
Nivel bajo ACE2	Ref.		
Nivel medio ACE2	0,58	0,21 a 1,58	0,285
Nivel alto ACE2	1,33	0,52 a 3,40	0,547
Modelo ajustado†			
Nivel bajo ACE2	Ref.		
Nivel medio ACE2	0,17	0,05 a 0,61	**0,007**
Nivel alto ACE2	0,78	0,26 a 2,32	0,652
Modelo no ajustado			
Nivel bajo NRP1	Ref.		
Nivel medio NRP1	0,46	0,17 a 1,22	0,120
Nivel alto NRP1	0,79	0,30 a 2,08	0,632
Modelo ajustado†			
Nivel bajo NRP1	Ref.		
Nivel medio NRP1	0,29	0,10 a 0,88	**0,030**
Nivel alto NRP1	0,58	0,20 a 1,72	0,331
Modelo no ajustado			
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1,05	0,40 a 2,74	0,921
Nivel alto TMPRSS2	1,13	0,43 a 2,92	0,808
Modelo ajustado†			
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1,17	0,41 a 3,30	0,771
Nivel alto TMPRSS2	1,02	0,35 a 2,93	0,977

† Ajustado por edad, sexo y raza. ‡ Según la Escala de Gravedad de la Organización Mundial de la Salud ("no ventilación" frente a "ventilación") (123). ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; COVID-19, *Coronavirus Disease* 2019; NRP1, *neuropilin*-1; OMS, Organización Mundial de la Salud; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

5.2. EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CON LA PRESENCIA DE DISFUNCIÓN OLFATORIA Y DISGEUSIA.

La Tabla 12 presenta los resultados de un análisis de regresión logística binaria que compara la asociación entre el número de receptores (furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2) y la disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19. Se presentan dos modelos: uno no ajustado y otro ajustado por edad, sexo y raza.

- Modelo no ajustado:

Furina: La OR fue de 1,04, sin adquirir significación estadística (p = 0,827).

ACE2: Tampoco se obtuvo una asociación estadísticamente significativa. La OR fue de 1,01 y la p = 0,664.

NRP1: La OR fue 1 y no se obtuvo una asociación estadísticamente significativa (p = 0,789).

TMPRSS2: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de receptores de TMPRSS2 y la presencia de disfunción olfatoria (OR = 1,04; *p* = 0,863).

- Modelo ajustado:

Furina: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de furina y la presencia de disfunción olfatoria después del ajuste por edad, sexo y raza (OR = 1,05; *p* = 0,821).

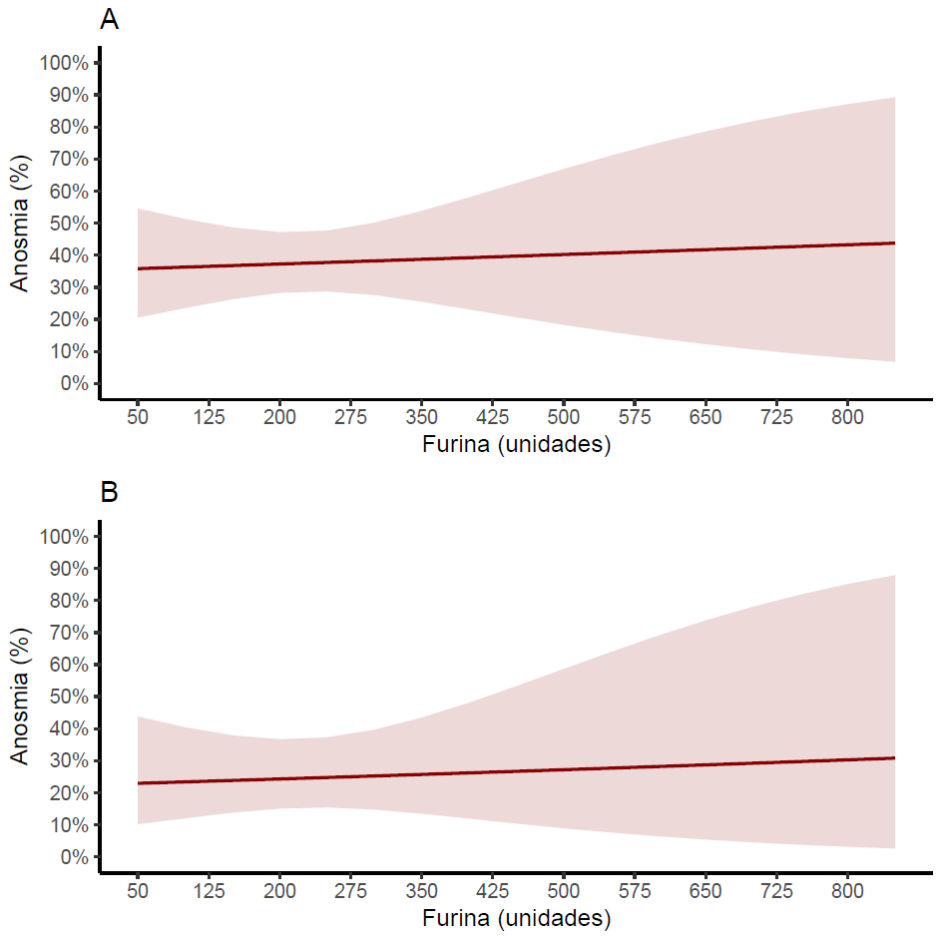


Figura 21. Furina y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de furina en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

ACE2: No se encontró significancia estadística entre este receptor y la presencia de disfunción olfatoria (OR= 1,02 y p = 0,320).

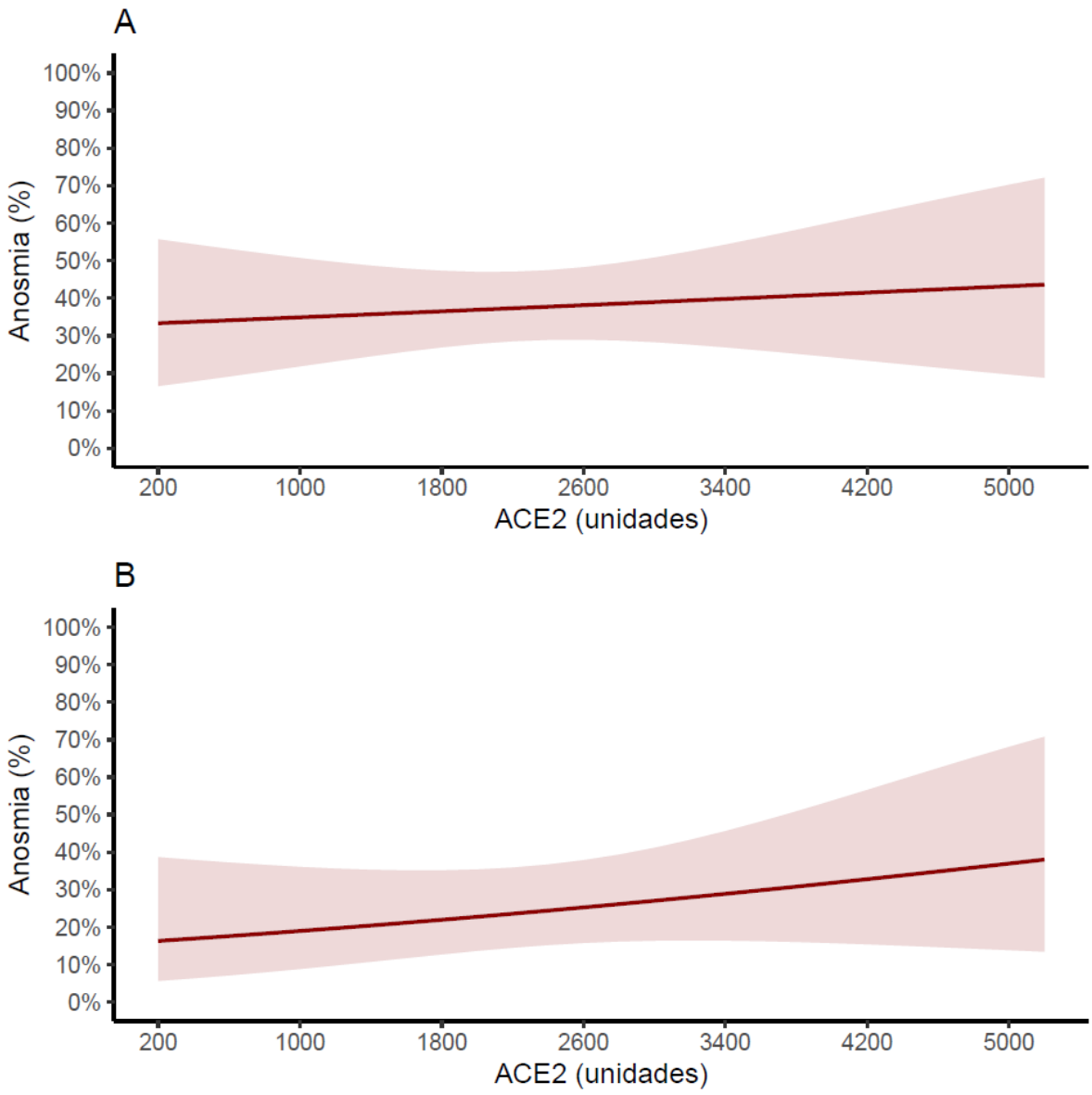


Figura 22. ACE2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de ACE2 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

NRP1: Así mismo, no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de NRP1 y la presencia de disfunción olfatoria en el modelo ajustado (OR= 1,00; p = 0,772).

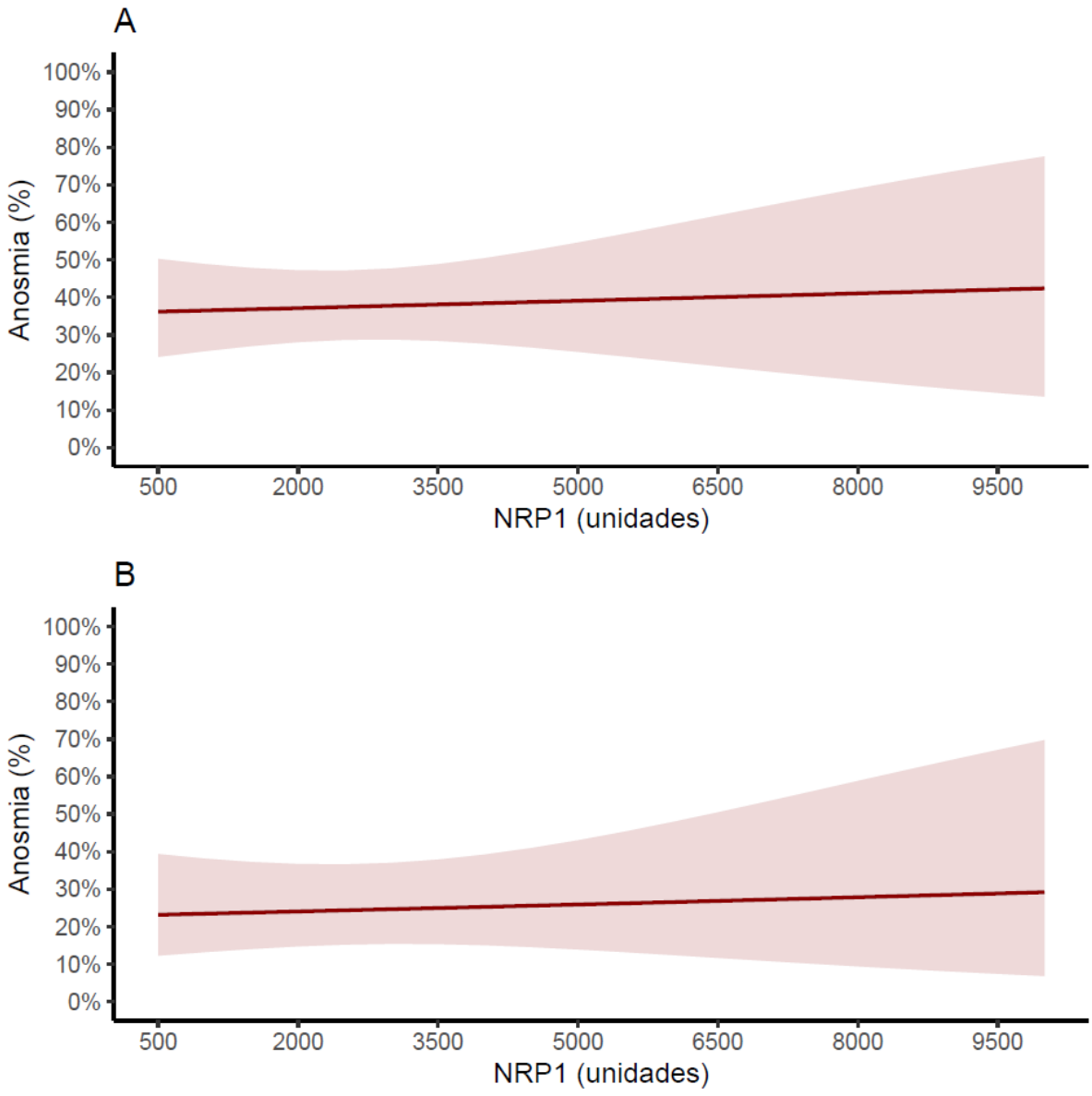


Figura 23. NRP1 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de NRP1 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

TMPRSS2: En el modelo ajustado, cada aumento de 100 unidades en el número de TMPRSS2 se asoció con un 22% (OR = 0,78) de disminución en las probabilidades de disfunción olfatoria. Sin embargo, estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas (p = 0,338).

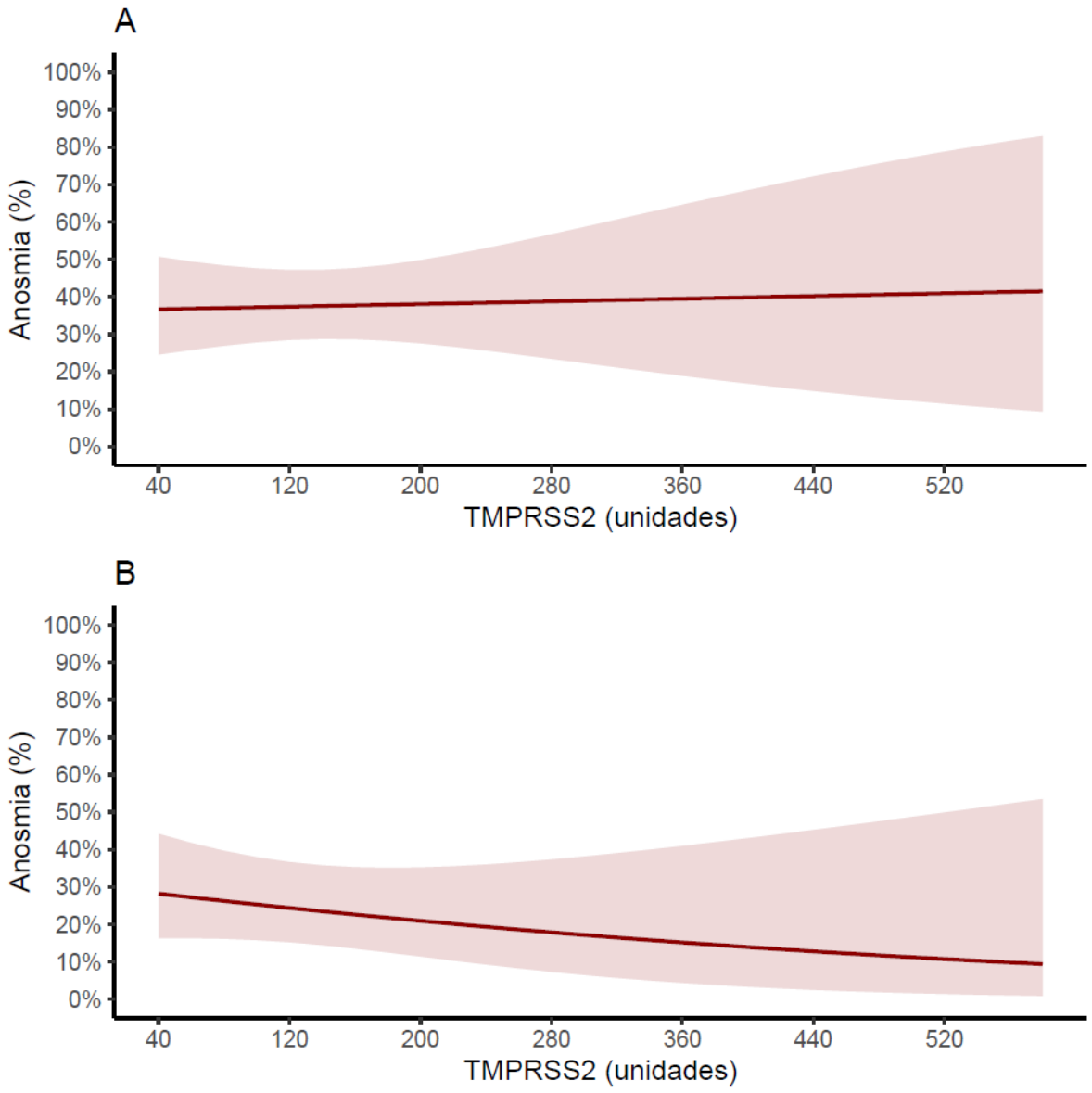


Figura 24. TMPRSS2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de TMPRSS2 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

Tabla 12. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y disfunción olfatoria en pacientes.

	Base de datos imputada		
	Disfunción olfatoria ‡		
Predictor	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado			
Furina*	1,04	0,72 a 1,51	0,827
Modelo ajustado†			
Furina*	1,05	0,68 a 1,63	0,821
Modelo no ajustado			
ACE2*	1,01	0,97 a 1,05	0,664
Modelo ajustado†			
ACE2*	1,02	0,98 a 1,07	0,320
Modelo no ajustado			
NRP1 *	1,00	0,98 a 1,02	0,789
Modelo ajustado†			
NRP1*	1,00	0,98 a 1,03	0,772
Modelo no ajustado			
TMPRSS2*	1,04	0,68 a 1,59	0,863
Modelo ajustado†			
TMPRSS2*	0,78	0,47 a 1,29	0,338

*Se agrupan unidades por cada 100 † Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

La Tabla 13 muestra los resultados de un análisis de regresión logística binaria que evalúa la asociación entre los niveles de los cuatro receptores analizados (furina, ACE2, NRP1, TMPRSS2) y la disfunción olfatoria en los pacientes de nuestra muestra. Se presentan dos modelos: uno no ajustado y otro ajustado por edad, sexo y raza.

- Modelo no ajustado:

Furina: Los niveles medio y alto de furina se asociaron con un mayor riesgo de disfunción olfatoria (OR = 1,42 y OR = 1,99, respectivamente), pero estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas (furina medio: p = 0,496; furina alto: p = 0,164).

ACE2: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de ACE2 y la disfunción olfatoria (ACE2 medio: p = 0,663; ACE2 alto: p = 0,687).

NRP1: Los niveles medio de NRP1 se asociaron con un menor riesgo de disfunción olfatoria (OR = 0,46), pero estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas (NRP1 medio: p = 0,130).

TMPRSS2: El nivel alto de TMPRSS2 se asoció con un menor riesgo de disfunción olfatoria (OR = 0,52), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,207).

- Modelo ajustado:

Furina: El nivel medio de furina se asoció con un mayor riesgo de disfunción olfatoria (OR = 3,35), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,092). El nivel alto de furina también mostró una tendencia hacia un mayor riesgo (OR = 2,30), pero no alcanzó significancia estadística (p = 0,166).

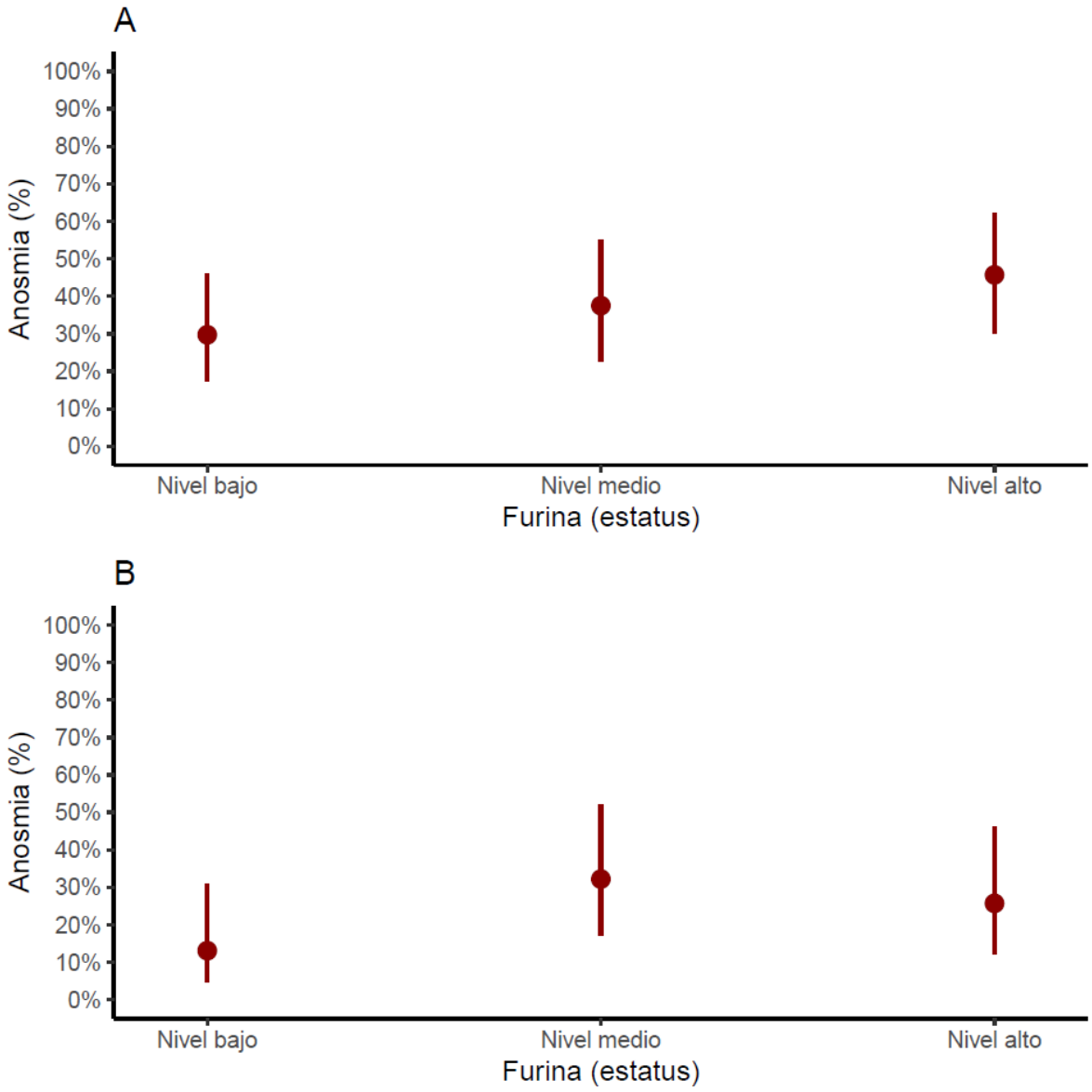


Figura 25. Estatus de furina y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de furina (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

ACE2: El nivel medio de ACE2 se asoció con un mayor riesgo de disfunción olfatoria (OR = 2,62), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,128).

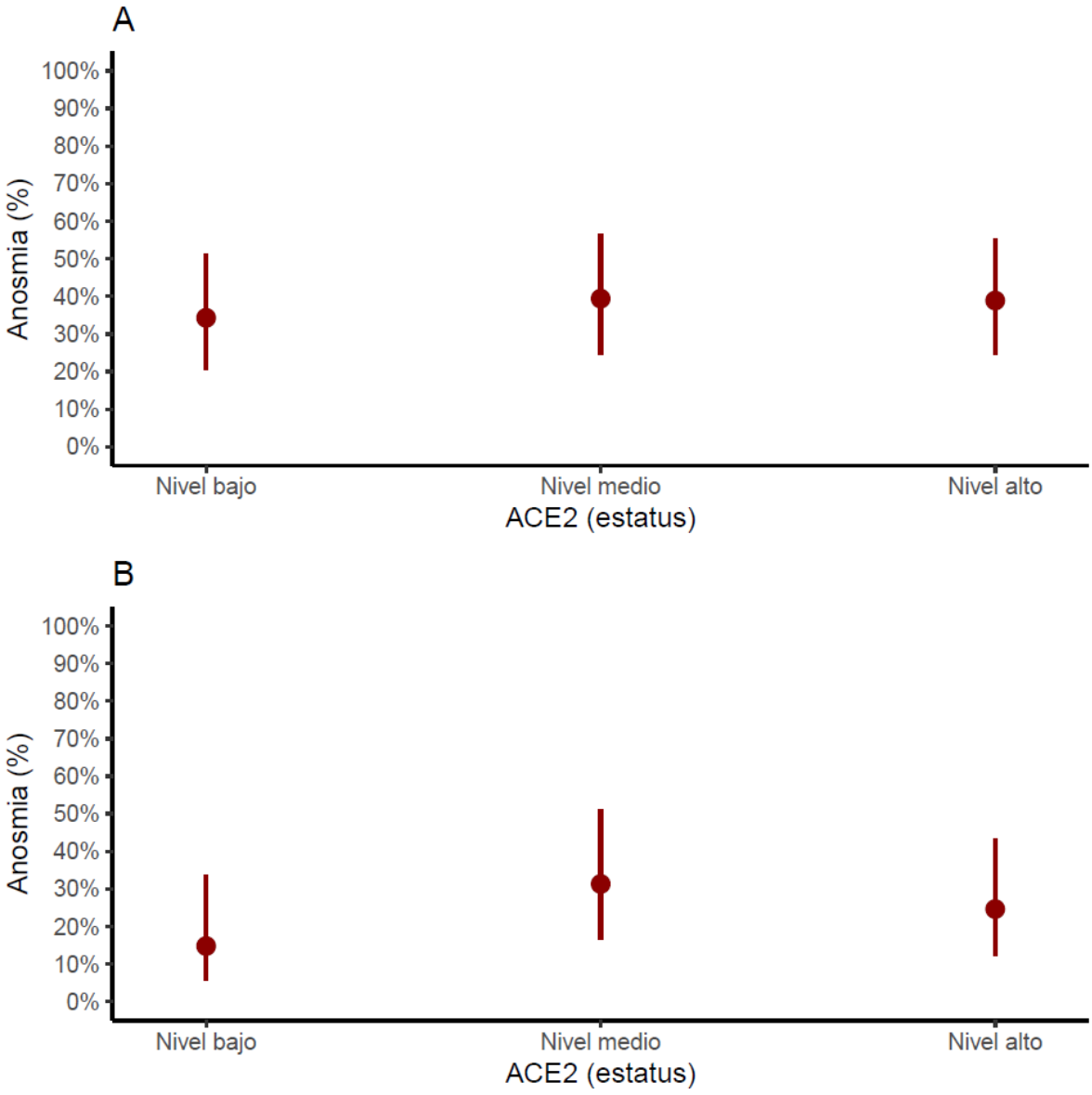


Figura 26. Estatus de ACE2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de ACE2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

NRP1: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de NRP1 y la disfunción olfatoria después de ajustarlo a sexo, edad y raza (NRP1 medio; p = 0,116; NRP1 alto: p = 0,997).

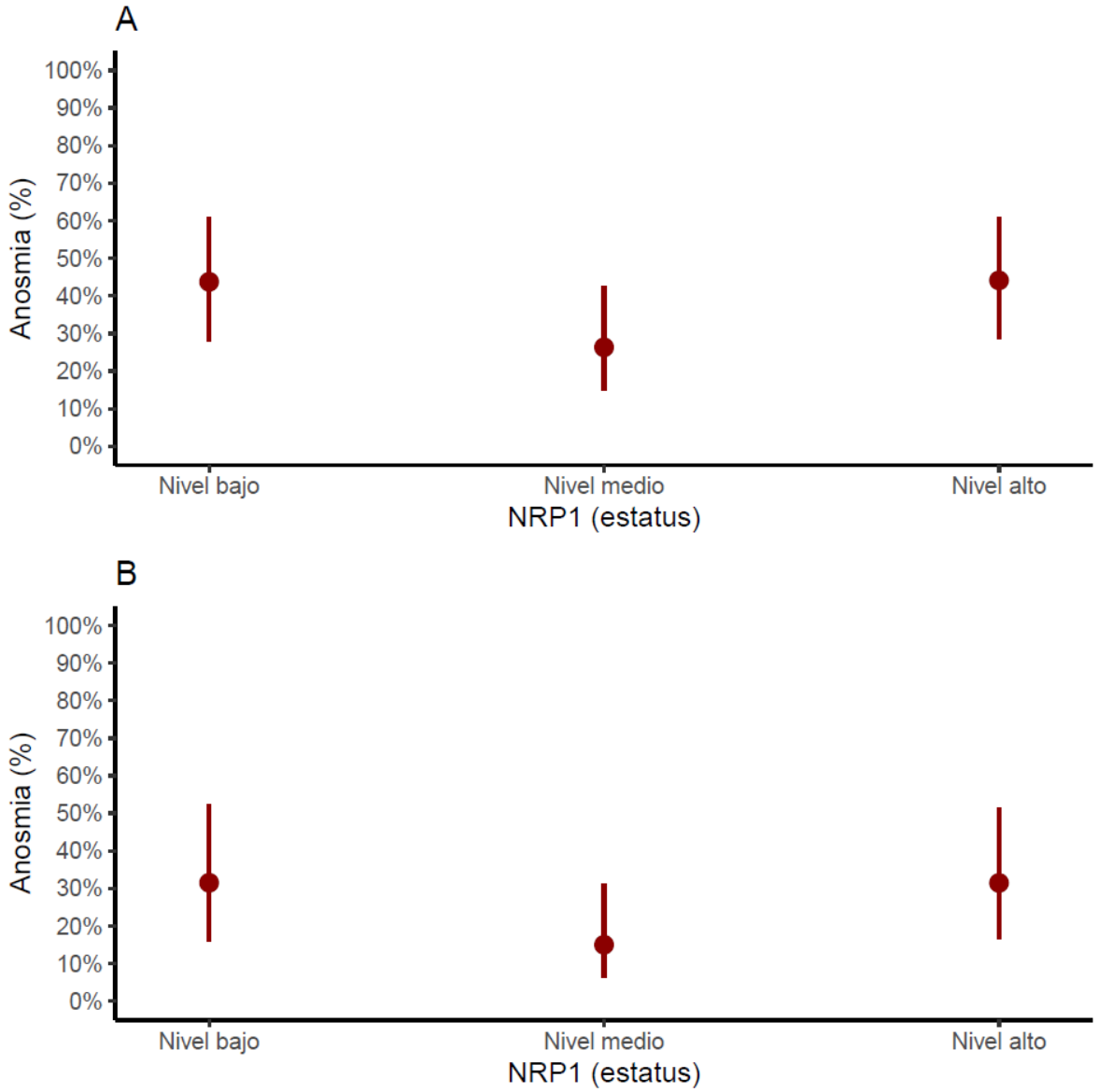


Figura 27. Estatus de NRP1 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de NRP1 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

TMPRSS2: El nivel alto de TMPRSS2 mostró una tendencia hacia un menor riesgo de disfunción olfatoria (OR = 0,41), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (*p* = 0,158).

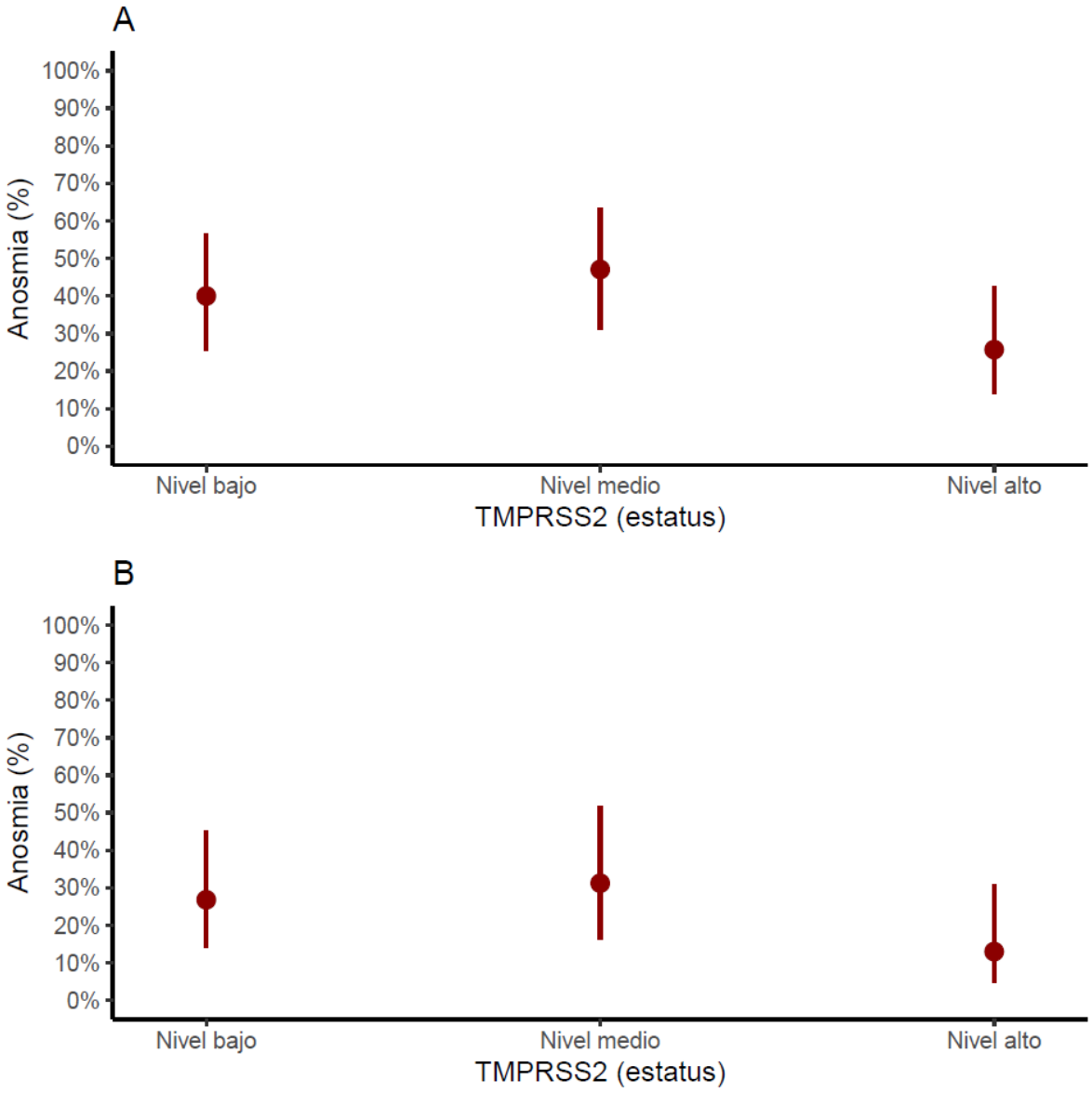


Figura 28. Estatus de TMPRSS2 y disfunción olfatoria con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de TMPRSS2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

Tabla 13. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y disfunción olfatoria en pacientes.

	Base de datos imputada		
	Disfunción olfatoria		
Predictor	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado			
Nivel bajo furina	Ref.		
Nivel medio furina	1,42	0,52 a 3,87	0,496
Nivel alto furina	1,99	0,75 a 5,25	0,164
Modelo ajustado†			
Nivel bajo furina	Ref.		
Nivel medio furina	3,16	0,83 a 12,00	0,092
Nivel alto furina	2,30	0,71 a 7,44	0,166
Modelo no ajustado			
Nivel bajo ACE2	Ref.		
Nivel medio ACE2	1,25	0,46 a 3,35	0,663
Nivel alto ACE2	0,82	0,31 a 2,16	0,687
Modelo ajustado†			
Nivel bajo ACE2	Ref.		
Nivel medio ACE2	2,62	0,76 a 9,09	0,128
Nivel alto ACE2	1,88	0,58 a 6,15	0,296
Modelo no ajustado			
Nivel bajo NRP1	Ref.		
Nivel medio NRP1	0,46	0,17 a 1,26	0,130
Nivel alto NRP1	1,02	0,38 a 2,68	0,976
Modelo ajustado†			
Nivel bajo NRP1	Ref.		
Nivel medio NRP1	0,38	0,12 a 1,27	0,116
Nivel alto NRP1	1,00	0,33 a 3,05	0,997
Modelo no ajustado			
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1,33	0,51 a 3,46	0,555
Nivel alto TMPRSS2	0,52	0,19 a 1,44	0,207
Modelo ajustado†			
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1,24	0,41 a 3,72	0,702
Nivel alto TMPRSS2	0,41	0,12 a 1,42	0,158

† Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine proteasa*

La Tabla 14 presenta los resultados de un análisis de regresión logística binaria que evalúa la asociación entre el número de receptores (furina, ACE2, NRP1, TMPRSS2) y la disgeusia en pacientes con COVID-19. Se presentan dos modelos: uno no ajustado y otro ajustado por edad, sexo y raza.

- Modelo no ajustado:

Furina: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de furina y la presencia de disgeusia (OR = 1,20; p = 0,339).

ACE2: No se encontró significancia estadística entre este receptor y la presencia de disgeusia (OR= 1,02; p = 0,263).

NRP1: Así mismo, no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de NRP1 y la presencia de disgeusia en el modelo ajustado (OR= 1,01; p = 0,210).

TMPRSS2: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de estos receptores y la presencia de disgeusia en ninguna de las bases de datos (OR= 1,30; p = 0,228).

- Modelo ajustado:

Furina: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de furina y la presencia de disgeusia después del ajuste por edad, sexo y raza (OR = 1,23; *p* = 0,319).

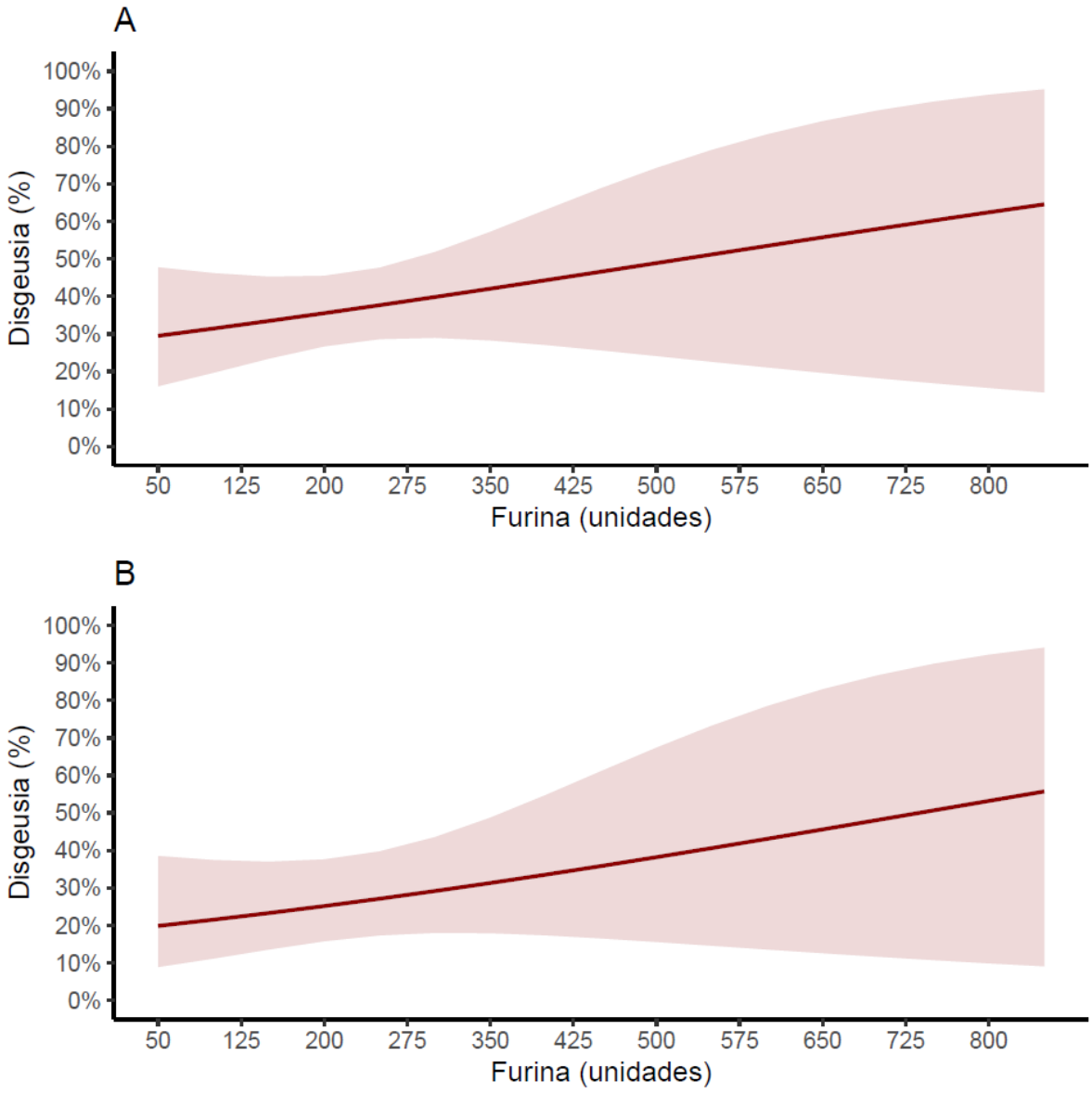


Figura 29. Furina y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de furina en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

ACE2: No se encontró significancia estadística entre este receptor y la presencia de disgeusia (OR= 1,04; p = 0,115).

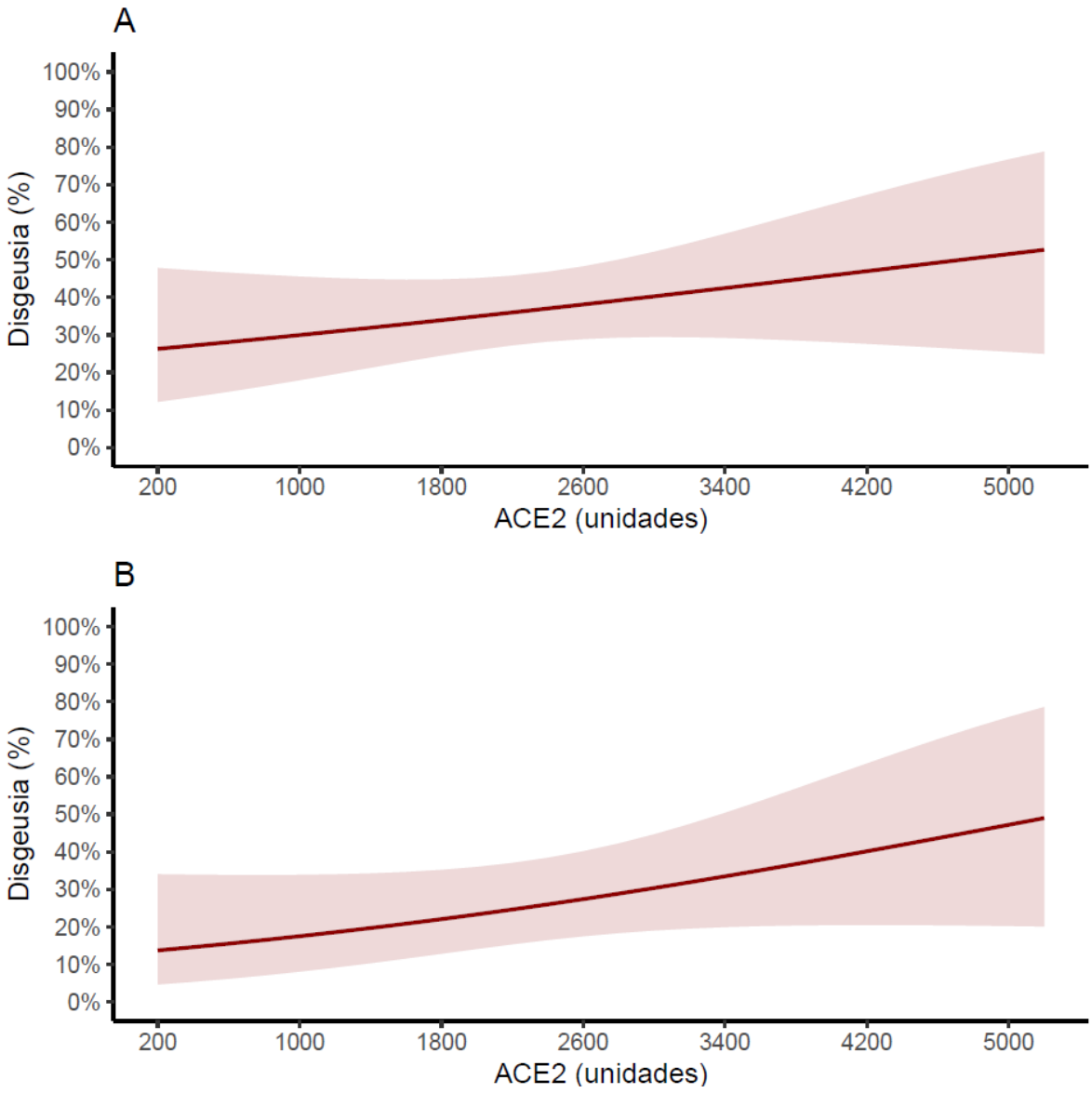


Figura 30. ACE y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de ACE2 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

NRP1: Igualmente no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de NRP1 y la presencia de disgeusia en el modelo ajustado (OR= 1,01; *p* = 0,195).

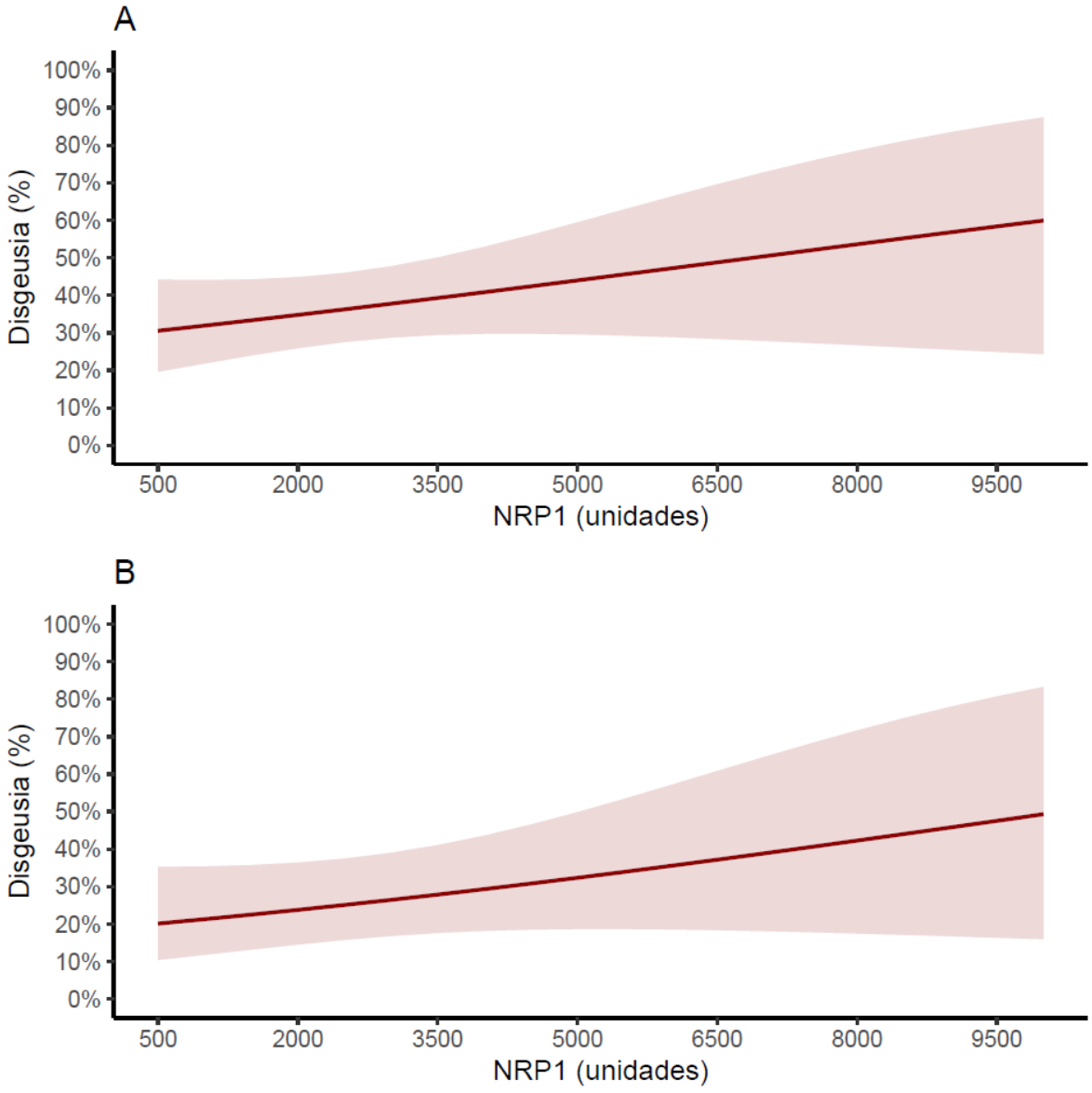


Figura 31. NRP1 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de NRP1 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

TMPRSS2: Tampoco obtuvimos resultados estadísticamente significativos al comparar este receptor con la presencia de disgeusia (OR= 1,17; p = 0,506).

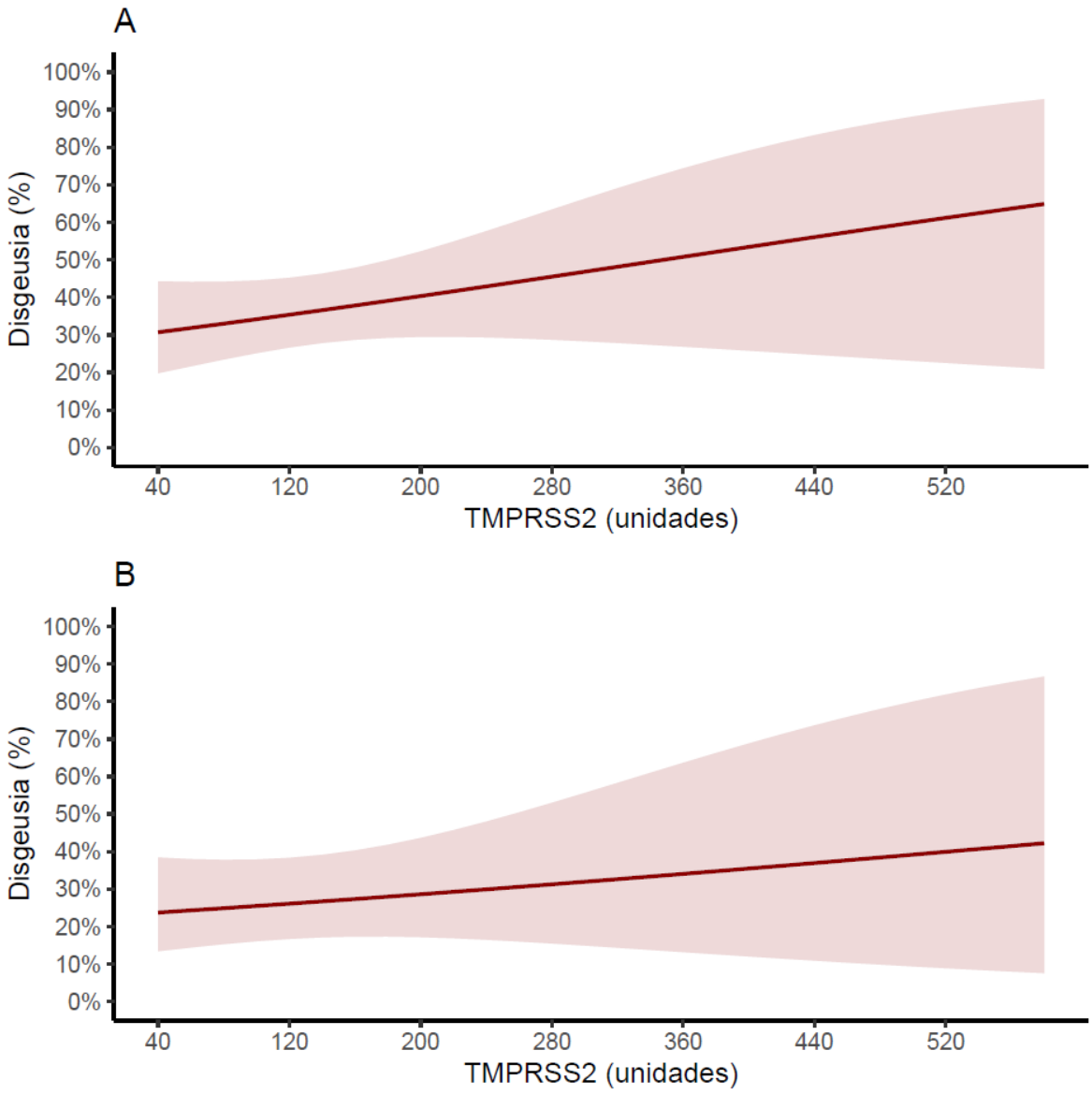


Figura 32. TMPRSS2 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de TMPRSS2 en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

Tabla 14. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y disgeusia en pacientes.

	Base de datos imputada		
	Disgeusia		
Predictor	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado			
Furina	1,20	0,83 a 1,75	0,339
Modelo ajustado†			
Furina	1,23	0,82 a 1,83	0,319
Modelo no ajustado			
ACE2	1,02	0,98 a 1,06	0,263
Modelo ajustado†			
ACE2	1,04	0,99 a 1,08	0,115
Modelo no ajustado			
NRP1	1,01	0,99 a 1,03	0,210
Modelo ajustado†			
NRP1	1,01	0,99 a 1,04	0,195
Modelo no ajustado			
TMPRSS2	1,30	0,85 a 2,00	0,228
Modelo ajustado†			
TMPRSS2	1,17	0,74 a 1,86	0,506

*Se presentan los receptores por cada 100 unidades. † Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; *B*, coeficiente beta no estandarizado; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

La Tabla 15 muestra los resultados de un análisis de regresión logística binaria que evalúa la asociación entre el nivel de los receptores furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2 y la disgeusia en pacientes con COVID-19 grave. Se presentan dos modelos: uno no ajustado y otro ajustado por edad, sexo y raza.

- Modelo no ajustado:

Furina: El nivel alto de furina se asoció con un mayor riesgo de disgeusia (OR = 2,55), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa, aunque cercana a la significancia (p = 0,062). Los niveles medio y bajo no mostraron asociaciones significativas (furina medio: p = 0,510).

ACE2: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de ACE2 y la disgeusia (ACE2 medio: p = 0,668; ACE2 alto: p = 0,372).

NRP1: El nivel medio de NRP1 se asoció con un menor riesgo de disgeusia (OR = 0,39), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,081). Los niveles alto y bajo no mostraron asociaciones significativas (NRP1 alto: p = 0,445).

TMPRSS2: El nivel alto de TMPRSS2 se asoció con un menor riesgo de disgeusia (OR = 0,59), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,306). Los niveles medio y bajo no mostraron asociaciones significativas (TMPRSS2 medio: p = 0,405).

- Modelo ajustado:

Furina: Los niveles medio y alto de furina mostraron una tendencia hacia un mayor riesgo de disgeusia (OR = 2,56 y OR = 2,83, respectivamente), pero estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas (furina medio: p = 0,153; furina alto: p = 0,072).

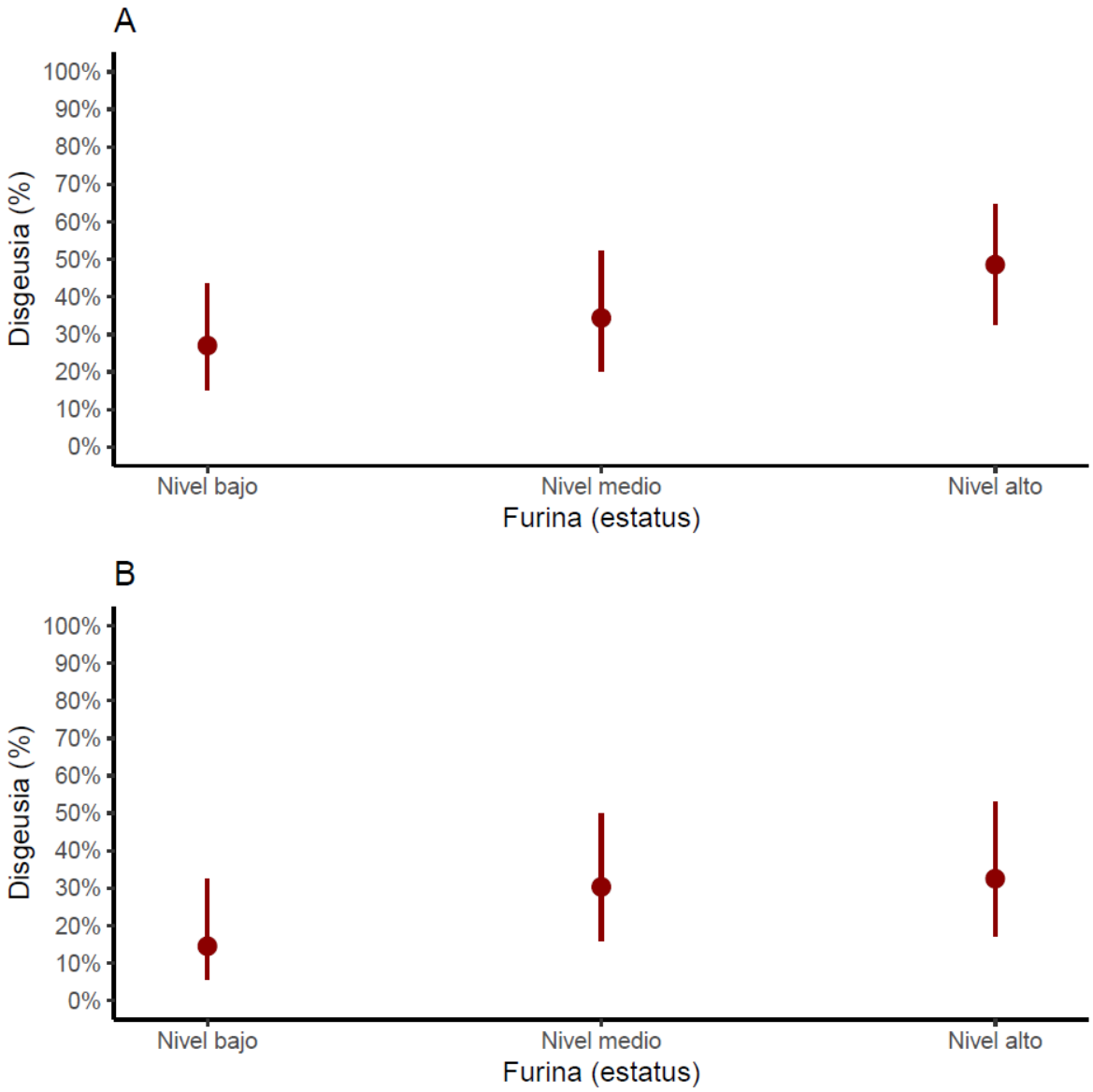


Figura 33. Estatus de niveles de furina y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de furina (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

ACE2: El nivel medio de ACE2 mostró una tendencia hacia un mayor riesgo de disgeusia (OR = 2,32), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,169). El nivel alto no mostró asociación significativa (p = 0,156).

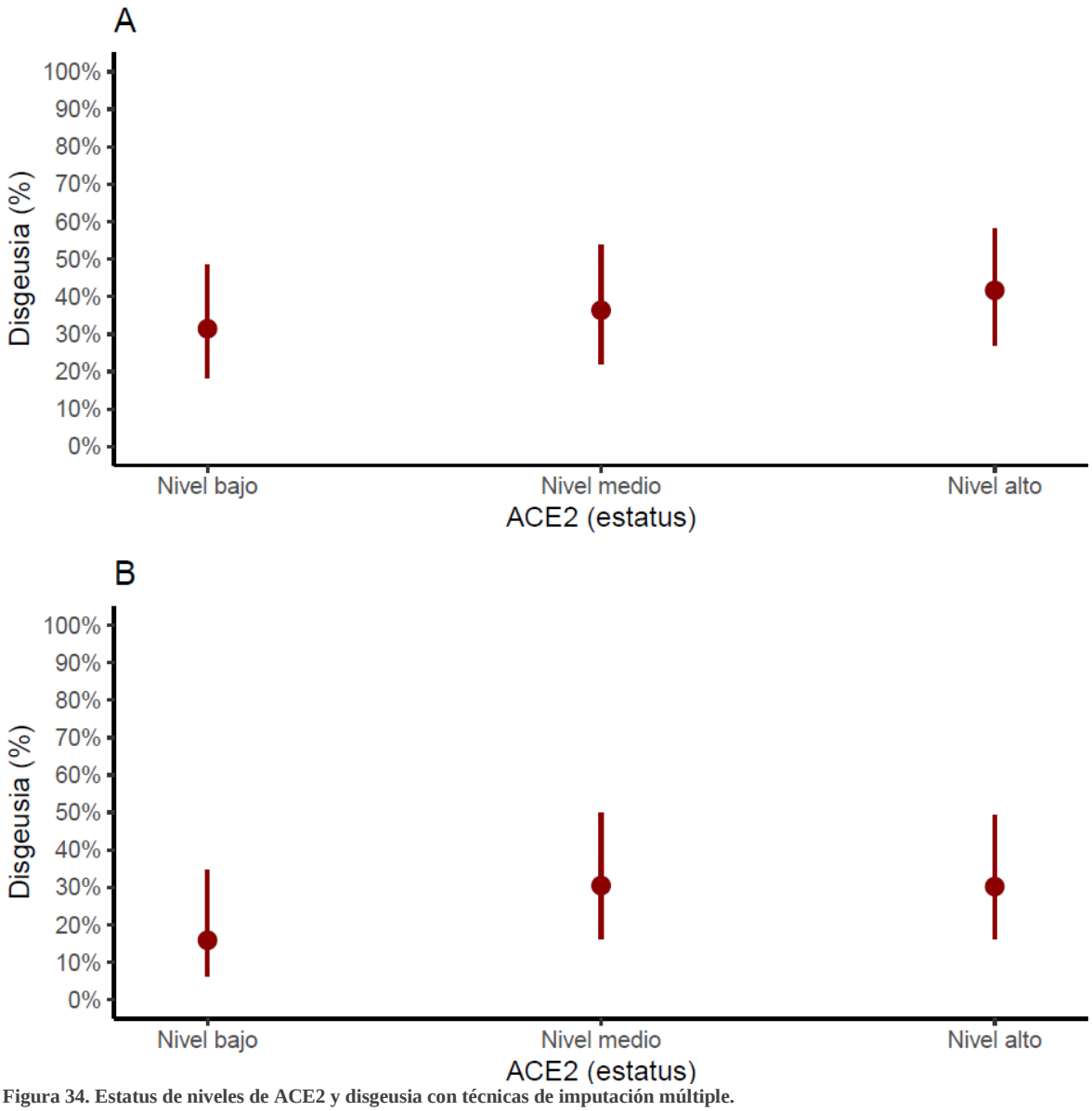


Figura 34. Estatus de niveles de ACE2 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de ACE2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

NRP1: El nivel medio de NRP1 se asoció con un menor riesgo de disgeusia (OR = 0,30), pero esta asociación no fue estadísticamente significativa (p = 0,144 en la base de datos con los datos perdidos). En la base de datos imputada, se acercó mucho a la significación estadística (p = 0,058). Los niveles alto y bajo no mostraron asociaciones significativas (p = 0,451).

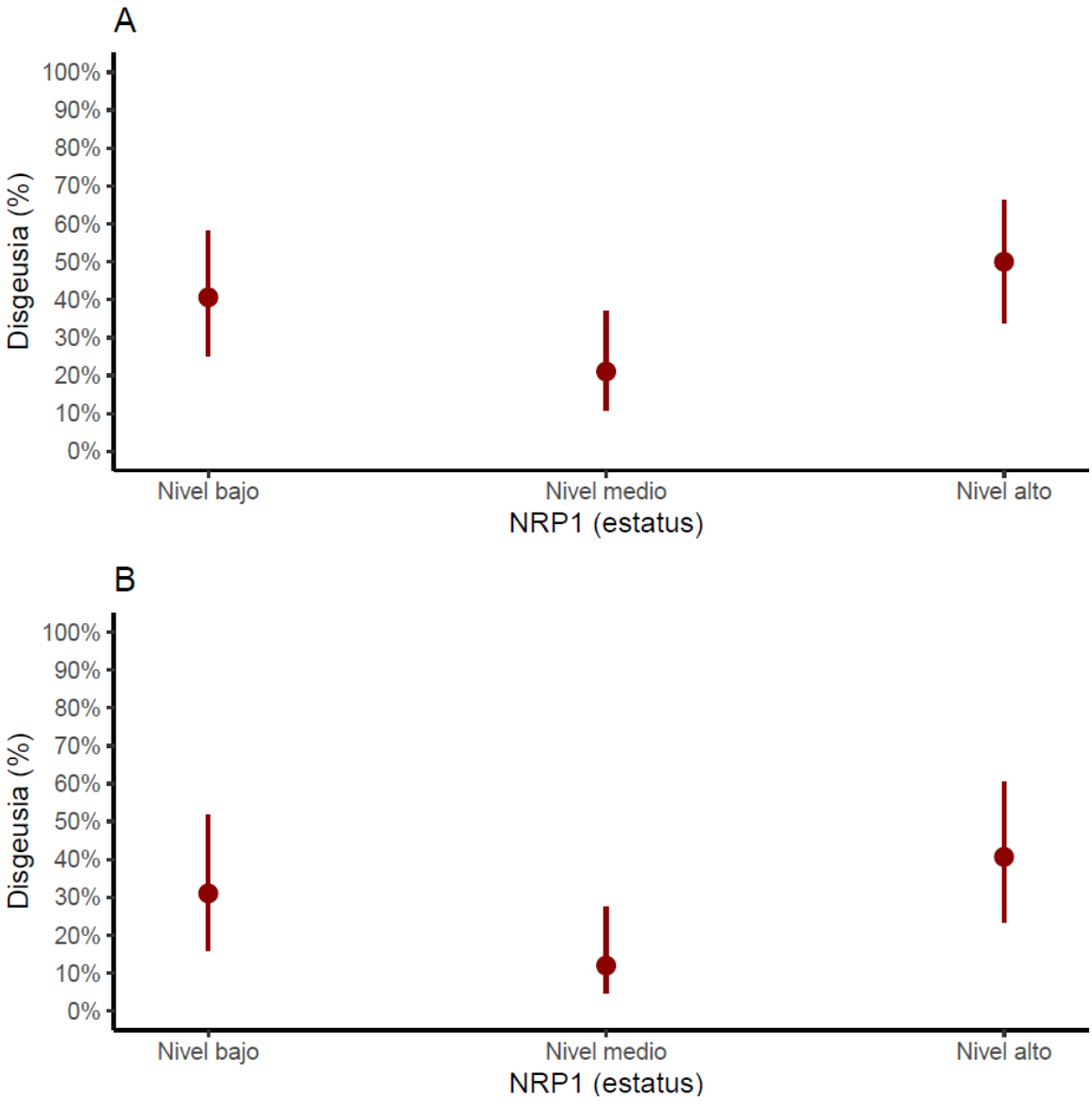


Figura 35. Estatus de niveles de NRP1 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de NRP1 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

TMPRSS2: No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de TMPRSS2 y la disgeusia después del ajuste (TMPRSS2 medio: p = 0,479; TMPRSS2 alto; p = 0,321).

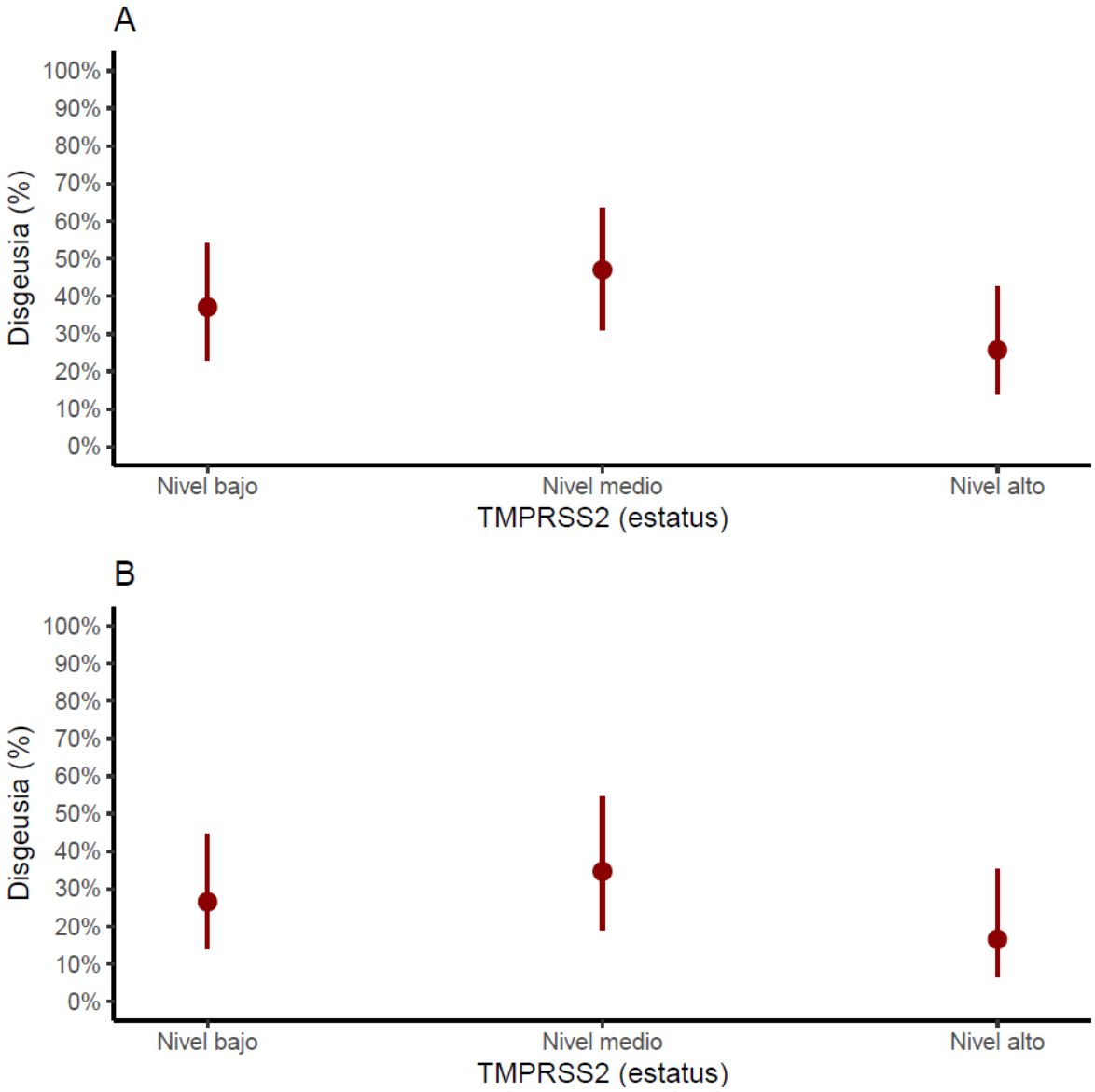


Figura 36. Estatus de niveles de TMPRSS2 y disgeusia con técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de TMPRSS2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio usando técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

Tabla 15. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y disgeusia en pacientes.

	Base de datos imputada		
	Disgeusia		
Predictor	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado			
Nivel bajo furina	Ref.		
Nivel medio furina	1,41	0,50 a 3,97	0,510
Nivel alto furina	2,55	0,95 a 6,82	0,062
Modelo ajustado†			
Nivel bajo furina	Ref.		
Nivel medio furina	2,56	0,70 a 9,30	0,153
Nivel alto furina	2,83	0,91 a 8,78	0,072
Modelo no ajustado			
Nivel bajo ACE2	Ref.		
Nivel medio ACE2	1,25	0,46 a 3,42	0,668
Nivel alto ACE2	1,56	0,59 a 4,13	0,372
Modelo ajustado†			
Nivel bajo ACE2	Ref.		
Nivel medio ACE2	2,32	0,70 a 7,69	0,169
Nivel alto ACE2	2,29	0,73 a 7,21	0,156
Modelo no ajustado			
Nivel bajo NRP1	Ref.		
Nivel medio NRP1	0,39	0,14 a 1,12	0,081
Nivel alto NRP1	1,46	0,55 a 3,87	0,445
Modelo ajustado†			
Nivel bajo NRP1	Ref.		
Nivel medio NRP1	0,30	0,09 a 1,04	0,058
Nivel alto NRP1	1,52	0,51 a 4,55	0,451
Modelo no ajustado			
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1,50	0,58 a 3,93	0,405
Nivel alto TMPRSS2	0,59	0,21 a 1,63	0,306
Modelo ajustado†			
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1,47	0,51 a 4,23	0,479
Nivel alto TMPRSS2	0,55	0,17 a 1,79	0,321

† Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease*

5.3. ANÁLISIS DE LOS PACIENTES CON DISFUNCIÓN OLFATORIA POR COVID-19

De los 104 pacientes de la muestra, 39 padecieron disfunción olfatoria (37,5%) durante su infección por COVID-19 en la primera y segunda ola de la pandemia.

La media de edad fue de unos 52 años siendo la desviación estándar de 9,4 años. El 43,58% fueron hombres (17 pacientes) y 56,41% mujeres (22 pacientes).

En cuanto a la edad, observamos que, tras realizar el análisis de regresión logística binaria, observamos que el coeficiente beta (B) es negativo, lo que indica que, a menor edad, aumenta la probabilidad de padecer disfunción olfatoria, con una significancia de $p = 0{,}002$.

Tabla 16. Regresión logística binaria para disfunción olfatoria y la edad.

Variables en la ecuación									
		B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1[a]	EDAD	-,066	,022	9,270	1	**,002**	,936	,897	,977
	Constante	3,232	1,221	7,004	1	,008	25,343		
a. Variables especificadas en el paso 1: EDAD.									

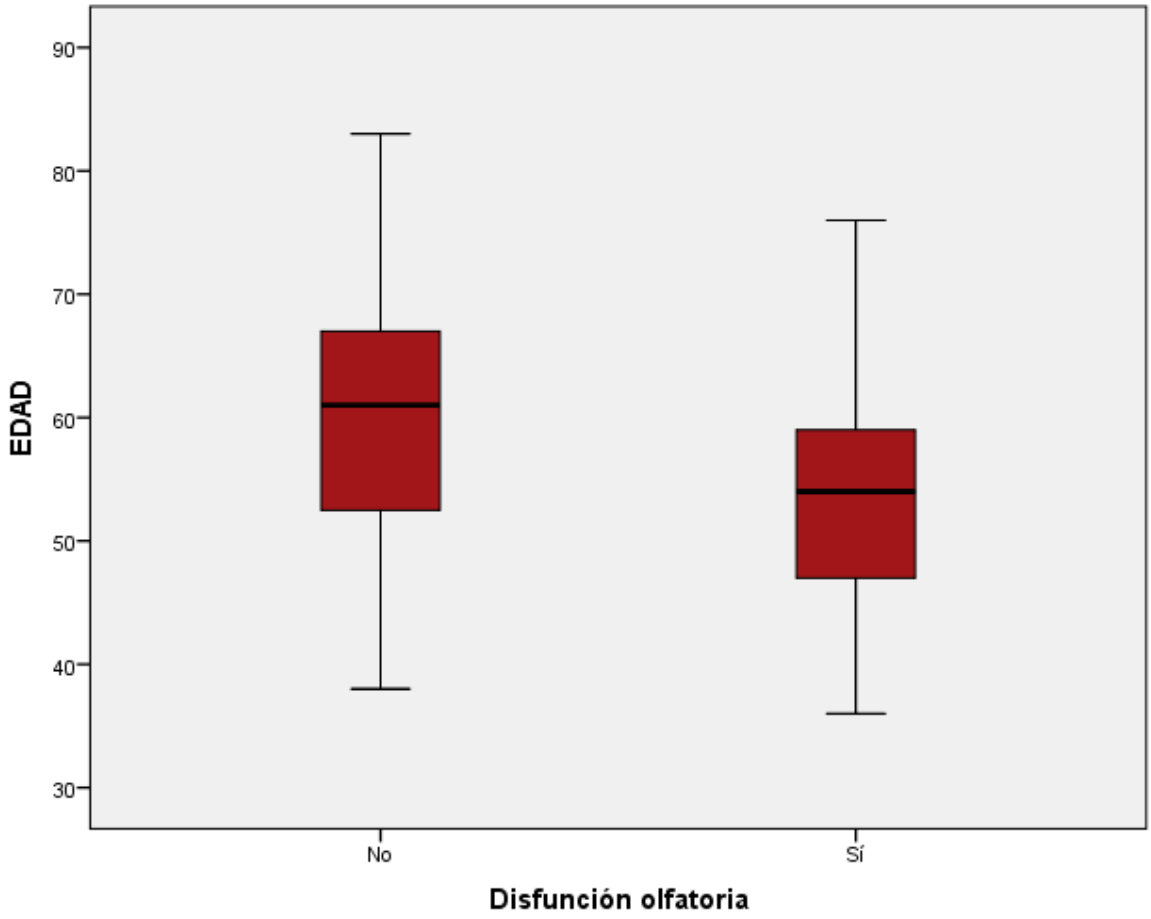


Figura 37. Edad y disfunción olfatoria.

Este gráfico muestra que los pacientes con disfunción olfatoria tuvieron una mediana de edad más baja que los que no tienen disfunción olfatoria. Además se representa en el gráfico una menor dispersión de las edades en el grupo de disfunción olfatoria.

En cuanto al sexo, se observó que la mayoría de las pacientes con disfunción olfatoria eran mujeres (56,41%) adquiriendo un resultado estadísticamente significativo (p=0,000).

Tabla 17. Disfunción olfatoria y sexo.

Sexo* Disfunción olfatoria				
		Disfunción olfatoria		Total
		No	**Sí**	
Sexo	Hombres	50	17	67
	Mujeres	13	22	35

Tabla 18. Prueba exacta de Fisher en comparación con disfunción olfatoria y sexo.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	13,678[a]	1	**,000**		
Corrección de continuidad[b]	12,137	1	**,000**		
Razón de verosimilitud	13,625	1	**,000**		
Prueba exacta de Fisher				,000	,000
Asociación lineal por lineal	13,544	1	**,000**		
N de casos válidos	102				
a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 13,38.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

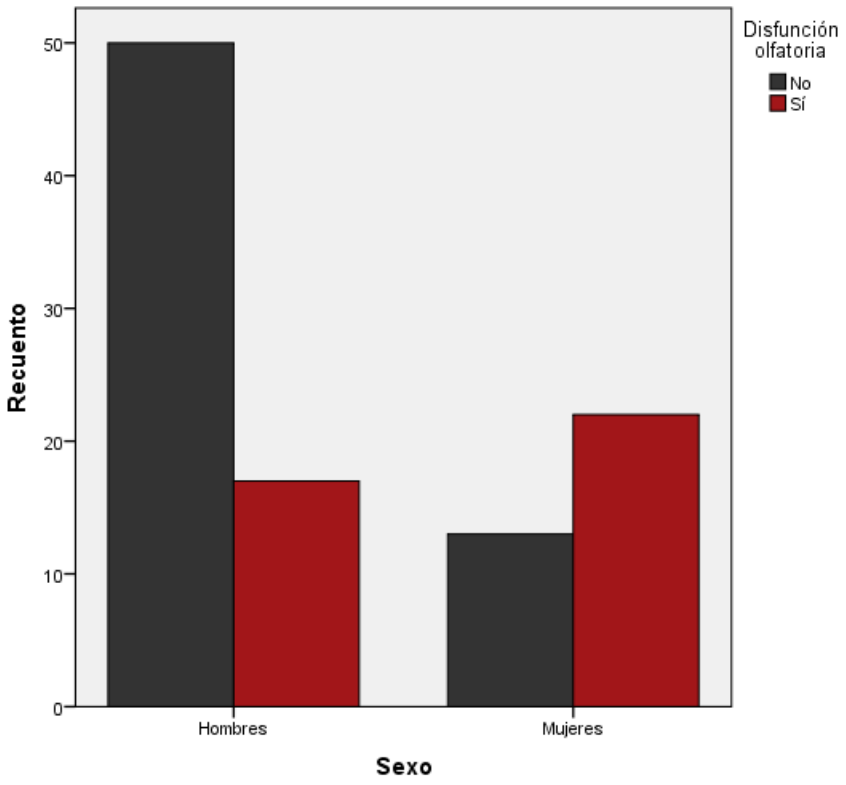


Figura 38. Sexo y disfunción olfatoria.

En este gráfico de barras observamos como en el grupo de mujeres se encontraron la mayoría de pacientes con disfunción olfatoria.

Respecto a la raza, el 84,61% eran caucásicos (33 pacientes) frente al 15,38% de origen sudamericano (6 pacientes).

No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos para la variable de disfunción olfatoria comparándola con la raza (p = 0,504).

Tabla 19. Disfunción olfatoria y raza.

		Disfunción olfatoria	
		No	**Sí**
RAZA	No caucásico	13	6
	caucásico	50	33
Total		63	39

Tabla 20. Prueba exacta de Fisher de disfunción olfatoria y raza

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	**gl**	**Sig. asintótica (2 caras)**	**Significación exacta (2 caras)**	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	,438[a]	1	,508		
Corrección de continuidad[b]	,160	1	,689		
Razón de verosimilitud	,447	1	,504		
Prueba exacta de Fisher				,606	,349
Asociación lineal por lineal	,434	1	,510		
a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 7,26.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

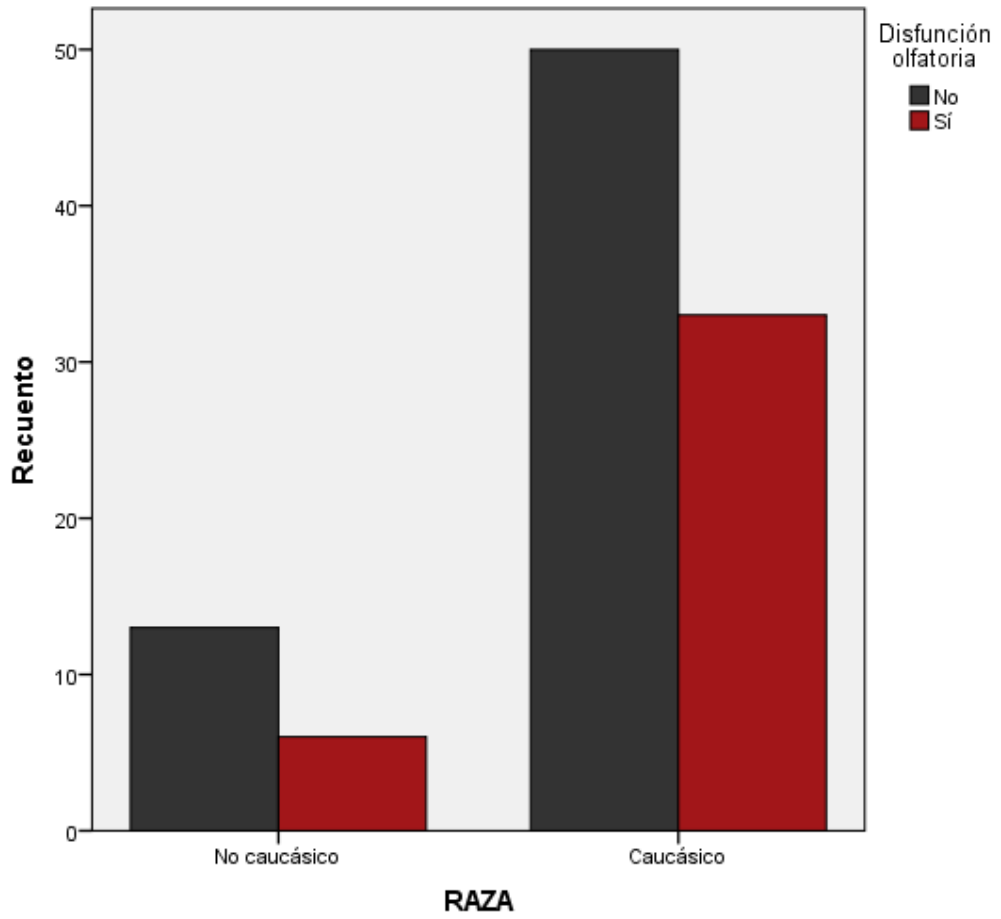


Figura 39. Raza y disfunción olfatoria.

Aquí observamos que dentro de la disfunción olfatoria, la mayoría de los pacientes se encontraron dentro del grupo de los caucásicos.

El siguiente análisis fue la media de duración de la disfunción olfatoria, que obtuvo un resultado de 35,61 días con una desviación estándar de 39,8 días. El mínimo de días fue 1 y el máximo 180.

Tabla 21. Días de duración de la disfunción olfatoria

Días de disfunción olfatoria	Estadístico
Media	35,61
95% de intervalo de confianza para la media	
- Límite inferior	21,01
- Límite superior	50,22
Desviación estándar	39,813

Del total de los pacientes con disfunción olfatoria analizados, el 87,17% recuperó el olfato de forma completa frente al 12,82% (5 pacientes) en los que persistió en el momento del estudio, que fue de un año tras sufrir los síntomas.

Los pacientes en los que se mantuvo esa pérdida de olfato fueron analizados mediante el test BAST-24. El resultado de esta prueba fue una puntuación con resultado de olfato bueno (reconocieron entre 13 y 14 odorantes) los 5 pacientes con disfunción olfatoria.

Del total de los pacientes, el 36,8% fueron hospitalizados (14 pacientes), siendo graves el 30,76% requiriendo ingreso en UCI (12 pacientes). No se obtuvo significancia estadística (p = 0,219) comparándolo con la disfunción olfatoria.

Tabla 22. Disfunción olfatoria y estancia en UCI.

		Disfunción olfatoria	
		No	Sí
UCI	No	36	27
	Sí	27	12
Total		63	39

Tabla 23. Prueba exacta de Fisher de disfunción olfatoria y estancia en UCI.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	1,490[a]	1	,222		
Corrección de continuidad[b]	1,022	1	,312		
Razón de verosimilitud	1,510	1	,219		
Prueba exacta de Fisher				,295	,156
Asociación lineal por lineal	1,476	1	,224		
a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 14,91.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

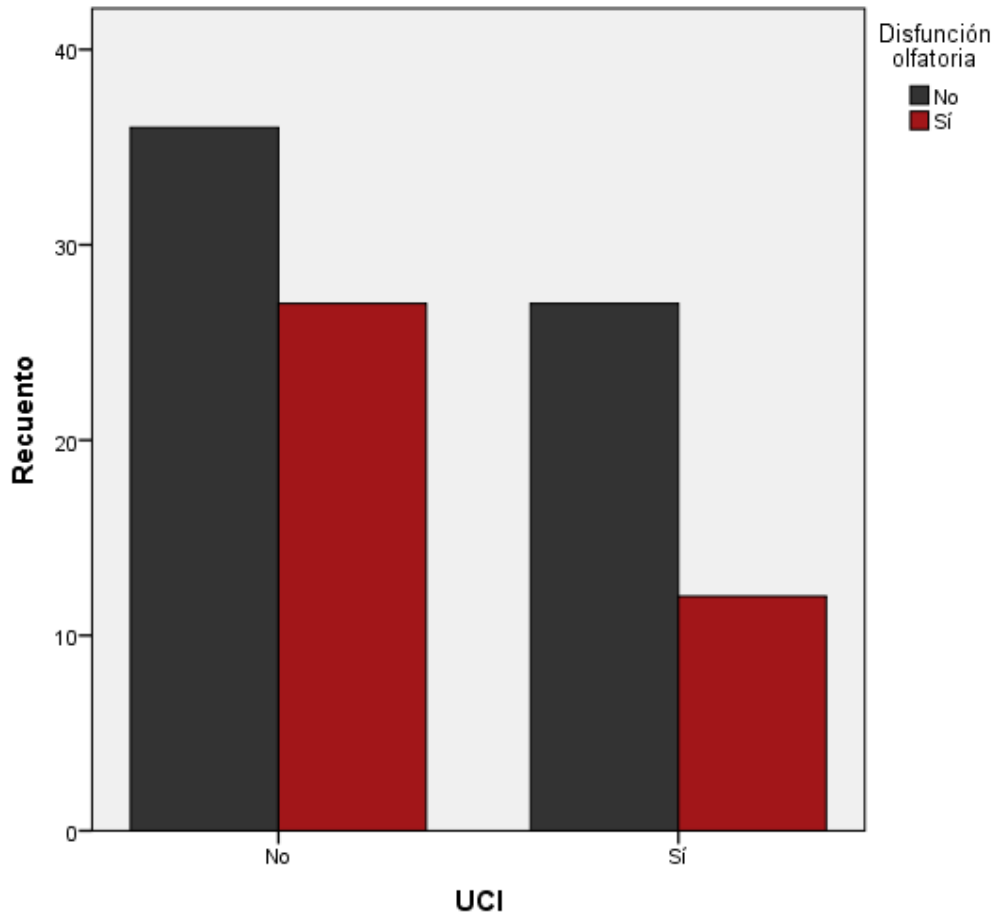


Figura 40. UCI y disfunción olfatoria.

En el grupo que no requirió ingreso en UCI, se encontraron la mayoría de los pacientes que tuvieron disfunción olfatoria.

En cuanto a los pacientes fumadores, se observó que el 69,23% eran no fumadores (27 pacientes), frente al 10,2% que fumaban (4 pacientes) y al 20,51% que habían dejado de fumar (8 pacientes). No se obtuvo significancia estadística (p = 0,423).

Tabla 24. Disfunción olfatoria y hábito tabáquico.

		Disfunción olfatoria	
		No	Sí
Fumador	No fumador	50	27
	Fumador	3	4
	Exfumador	10	8
Total		63	39

Tabla 25. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y hábito tabáquico.

Pruebas de chi-cuadrado						
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	1,681[a]	2	,431	,453		
Razón de verosimilitud	1,642	2	,440	,453		
Prueba exacta de Fisher	1,790			,423		
Asociación lineal por lineal	,872[b]	1	,350	,362	,211	,066
N de casos válidos	102					
a. 2 casillas (33,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,68.						
b. El estadístico estandarizado es ,934.						

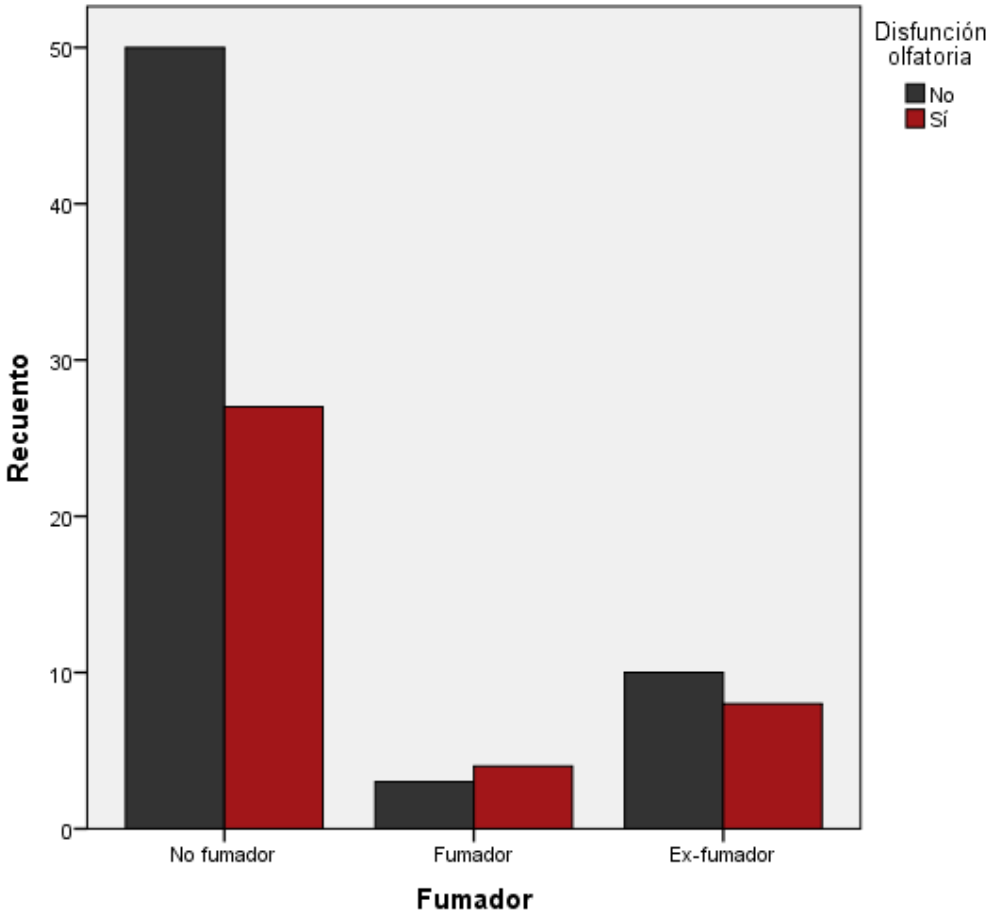


Figura 41. Estatus de fumador y disfunción olfatoria.

Aquí se muestra como en el grupo de no fumadores encontramos a la mayor parte de los pacientes con disfunción olfatoria.

Se analizó así mismo la presencia de hipertensión arterial en los pacientes que habían padecido disfunción olfatoria durante su enfermedad por COVID-19.

De los 39 pacientes con disfunción olfatoria, solo 8 de ellos fueron hipertensos (20,51%) frente a los 31 que no eran hipertensos (79,48%). Se adquirió significancia estadística con una $p = 0{,}026$.

Tabla 26. Disfunción olfatoria e HTA.

		Disfunción olfatoria	
		No	**Sí**
HTA	No	35	31
	Sí	28	8
Total		63	39

Tabla 27. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y HTA.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	4,758[a]	1	**,029**		
Corrección de continuidad[b]	3,878	1	**,049**		
Razón de verosimilitud	4,923	1	**,026**		
Prueba exacta de Fisher				,035	,023
Asociación lineal por lineal	4,711	1	**,030**		
a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 14,15.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

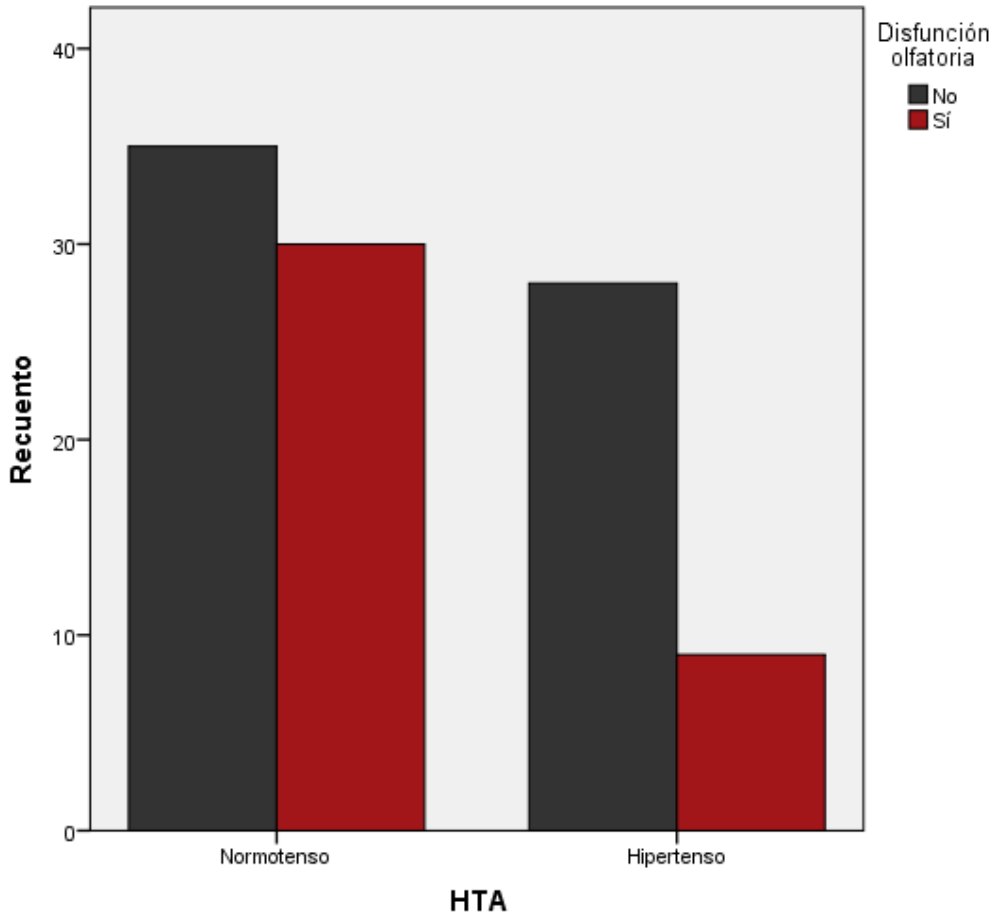


Figura 42. HTA y disfunción olfatoria.

En este gráfico de barras se representa como el grupo de normotensos fueron los que más disfunción olfatoria padecieron.

En cuanto a la Diabetes Mellitus, se analizaron aquellos pacientes con presencia de Diabetes Mellitus tipo I, tipo II y aquellos que no la tenían.

De los 39 pacientes con disfunción olfatoria, 35 no padecían diabetes (89,74%), frente a los del tipo I y II, con dos pacientes en cada grupo (5,12% respectivamente). No se alcanzaron valores estadísticamente significativos (p = 0,214).

Tabla 28. Disfunción olfatoria y DM.

		Disfunción olfatoria	
		No	Sí
DM	No	47	35
	Tipo I	9	2
	Tipo II	7	2
Total		63	39

Tabla 29. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y DM.

Pruebas de chi-cuadrado						
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	3,537[a]	2	,171	,185		
Razón de verosimilitud	3,822	2	,148	,149		
Prueba exacta de Fisher	3,258			,214		
Asociación lineal por lineal	2,801[b]	1	,094	,102	,063	,034
N de casos válidos	102					
a. 2 casillas (33,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,44.						
b. El estadístico estandarizado es -1,674.						

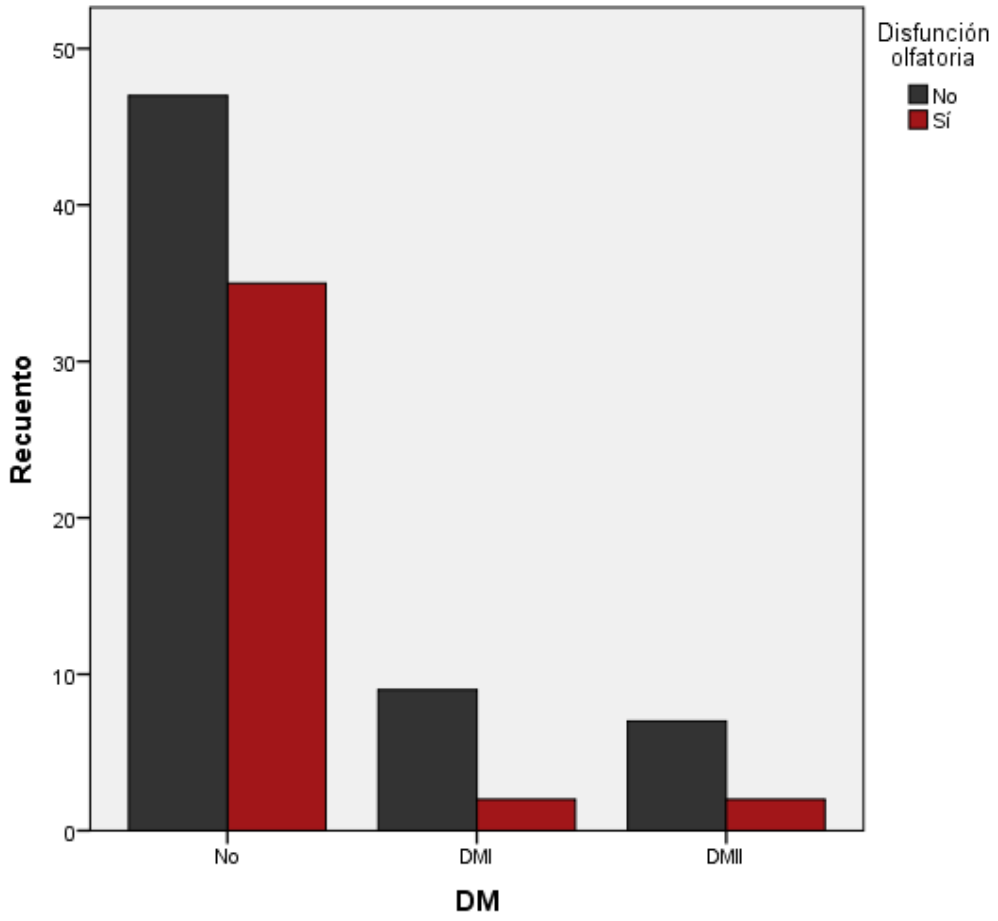


Figura 43. DM y disfunción olfatoria.

En el siguiente gráfico se muestra que en el grupo de no diabéticos encontramos a la mayor parte de pacientes con disfunción olfatoria.

A continuación, comparamos la disfunción olfatoria con la presencia de asma.

En este caso, solamente 2 pacientes tuvieron asma y disfunción olfatoria (5,12%) frente a los 37 pacientes que no tuvieron asma (94,87%). Estos datos no adquirieron significancia estadística (p = 0,254).

Tabla 30. Disfunción olfatoria y asma

		Disfunción olfatoria	
		no	**si**
ASMA	no	137	37
	si	17	2
Total		154	39

Tabla 31. Prueba exacta de Fisher en relación con asma y disfunción olfatoria.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	1,140[a]	1	,286		
Corrección de continuidad[b]	,585	1	,445		
Razón de verosimilitud	1,303	1	,254		
Prueba exacta de Fisher				,375	,230
Asociación lineal por lineal	1,134	1	,287		
a. 1 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,76.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

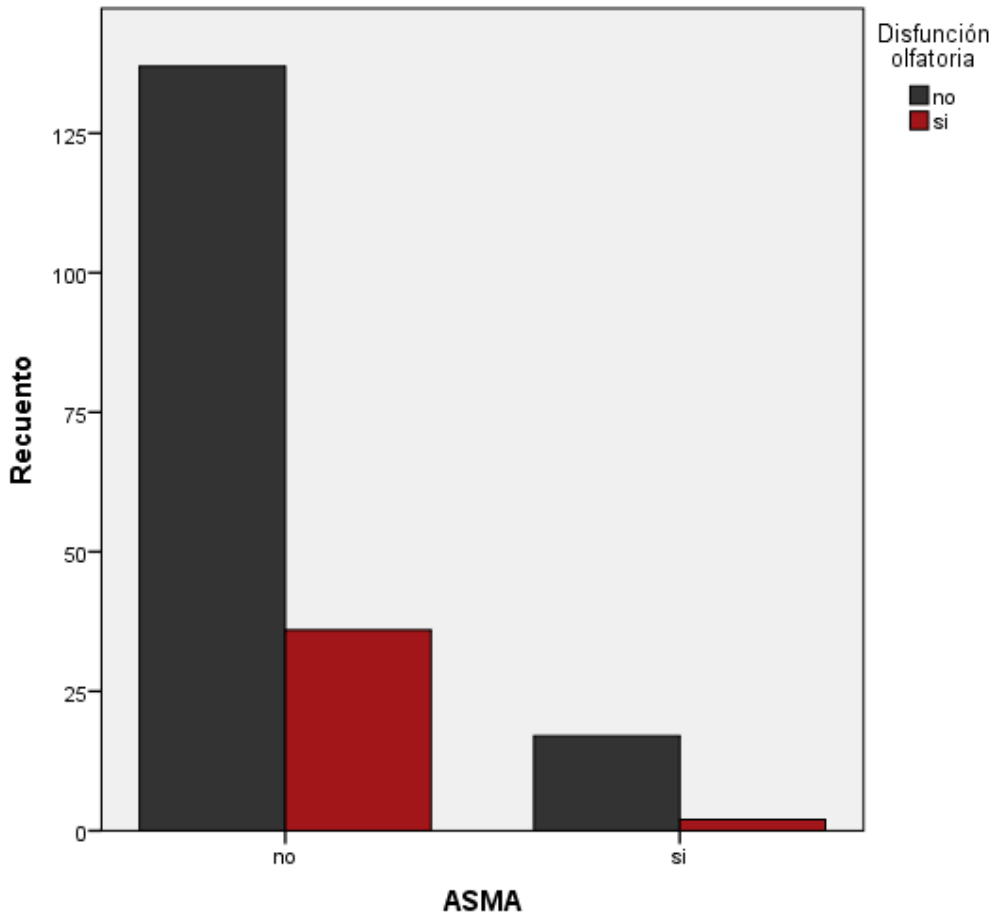


Figura 44. Asma y disfunción olfatoria.

Los pacientes no asmáticos presentaron un mayor grado de disfunción olfatoria que los asmáticos.

En la variable analítica de Dímero D, al realizar la regresión logística binaria para analizar la asociación entre el dímero D y la disfunción olfatoria, observamos que se produjo una correlación negativa entre ambas variables (coeficiente beta = -0,001), pero no fue estadísticamente significativo (p = 0,227).

Tabla 32. Regresión logística binaria para disfunción olfatoria y dímero D.

Variables en la ecuación									
		B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1[a]	DimeroD	-,001	,000	1,461	1	,227	,999	,998	1,000
	Constante	-,181	,296	,376	1	,540	,834		
a. Variables especificadas en el paso 1: DimeroD.									

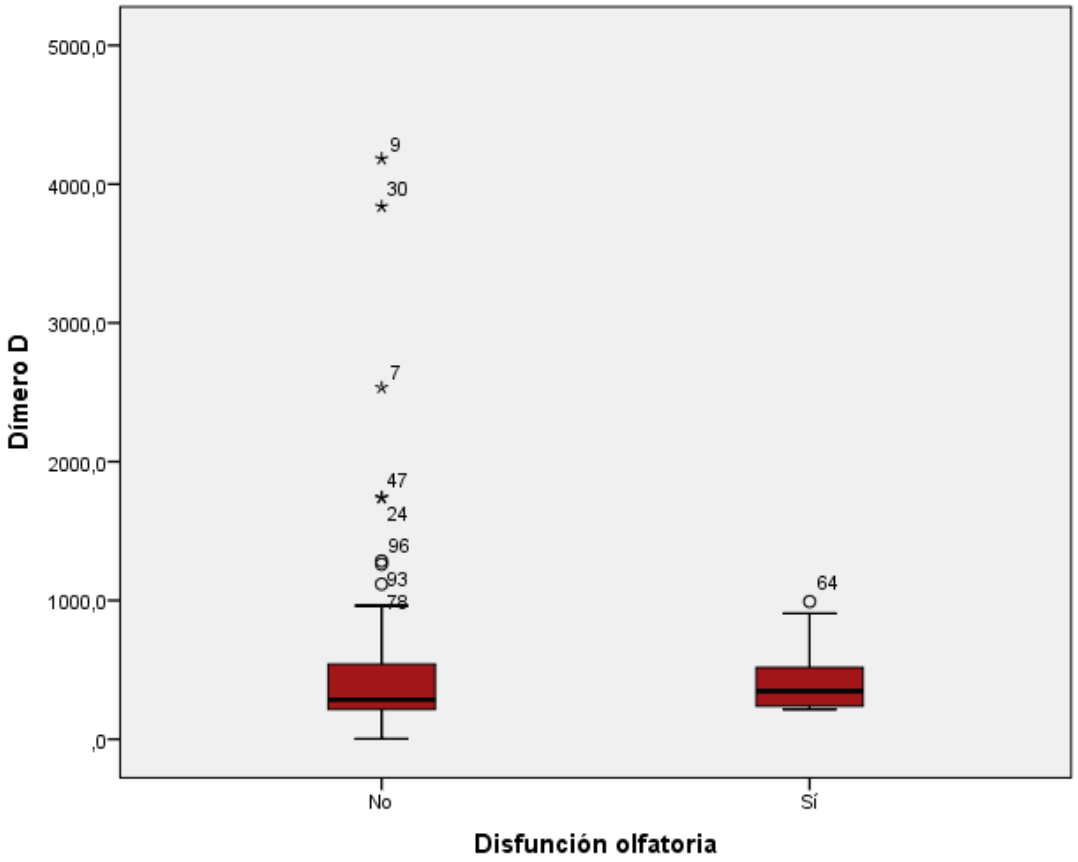


Figura 45. Dímero D y disfunción olfatoria.

Los pacientes con disfunción olfatoria presentaron una menor dispersión y valores menos atípicos que los que no tienen disfunción olfatoria, lo que sugiere una mayor homogeneización en cuanto a valores del dímero D en este primer grupo. La mediana de este parámetro fue similar en ambos grupos.

Ocurre lo mismo con la carga viral y la disfunción olfatoria. Se adquirió una correlación negativa (B = -0,066) al realizar el análisis de regresión logística binaria. Sin embargo, estos hallazgos tampoco fueron estadísticamente significativos (p = 0,236).

Tabla 33. Regresión logística binaria para disfunción olfatoria y carga viral.

Variables en la ecuación									
		B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1[a]	CargaViral	-,066	,055	1,406	1	,236	,936	,840	1,044
	Constante	1,620	1,470	1,213	1	,271	5,051		
a. Variables especificadas en el paso 1: CargaViral.									

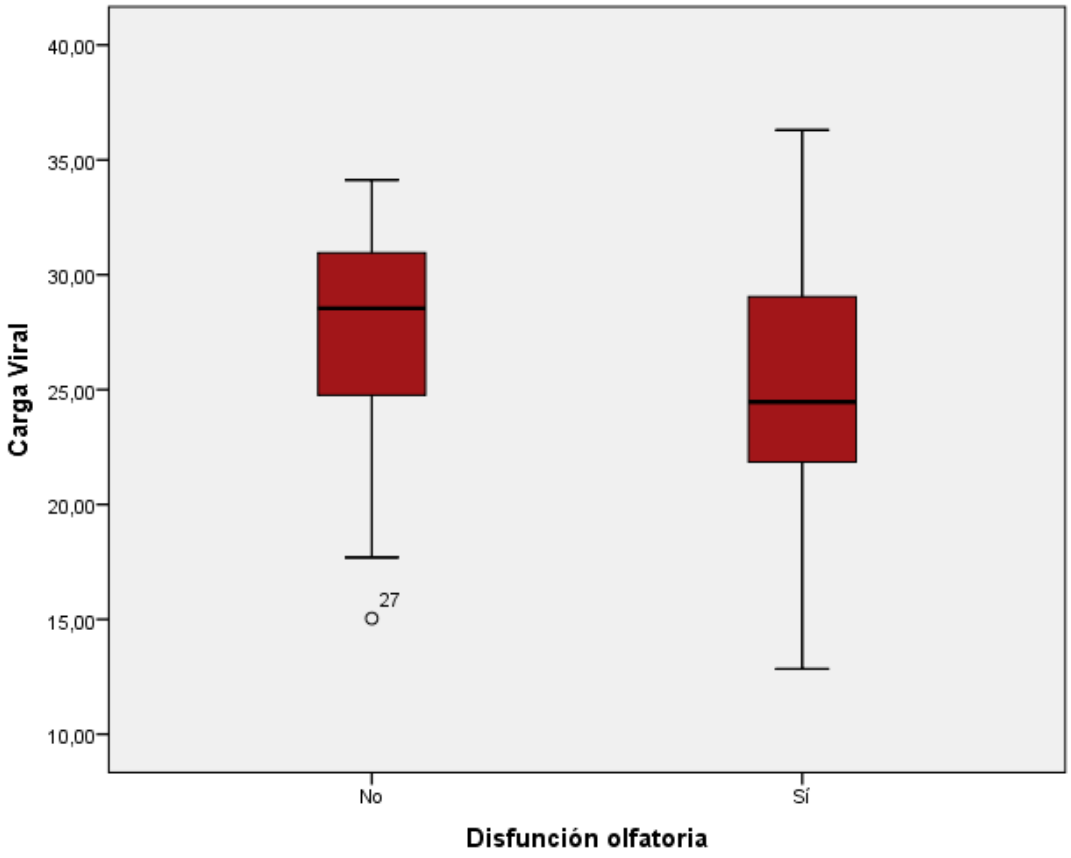


Figura 46. Carga viral y disfunción olfatoria.

En este gráfico de barras y bigotes se muestra como los pacientes analizados alcanzaron una mediana de carga viral más baja en el grupo con disfunción olfatoria, sin embargo, la dispersión de los datos fue similar, pero en el grupo sin disfunción olfatoria mostraron un valor atípico.

Los grupos sanguíneos evaluados fueron 0 positivo y negativo, A positivo y negativo, B positivo y negativo y AB positivo y negativo. El grupo con más disfunción olfatoria fue el 0+ con 16 pacientes (41,02%), seguido del A+ con 5 pacientes (12,82%). Estos resultados no adquirieron significancia estadística (p = 0,110).

Tabla 34. Disfunción olfatoria y grupo sanguíneo

Tabla cruzada				
		Disfunción olfatoria		Total
		no	si	
Grupo Sanguíneo		49	6	55
	0-	5	5	10
	0+	26	16	42
	A-	5	2	7
	A+	30	5	35
	AB +	1	0	1
	AB-	0	1	1
	B -	1	0	1
	B+	11	1	12
Total		154	39	192

Tabla 35. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y el grupo sanguíneo.

Pruebas de chi-cuadrado				
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	27,973[a]	21	,141	,141
Razón de verosimilitud	29,177	21	,110	,125
Prueba exacta de Fisher	26,312			,106
N de casos válidos	192			
a. 35 casillas (79,5%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,20.				

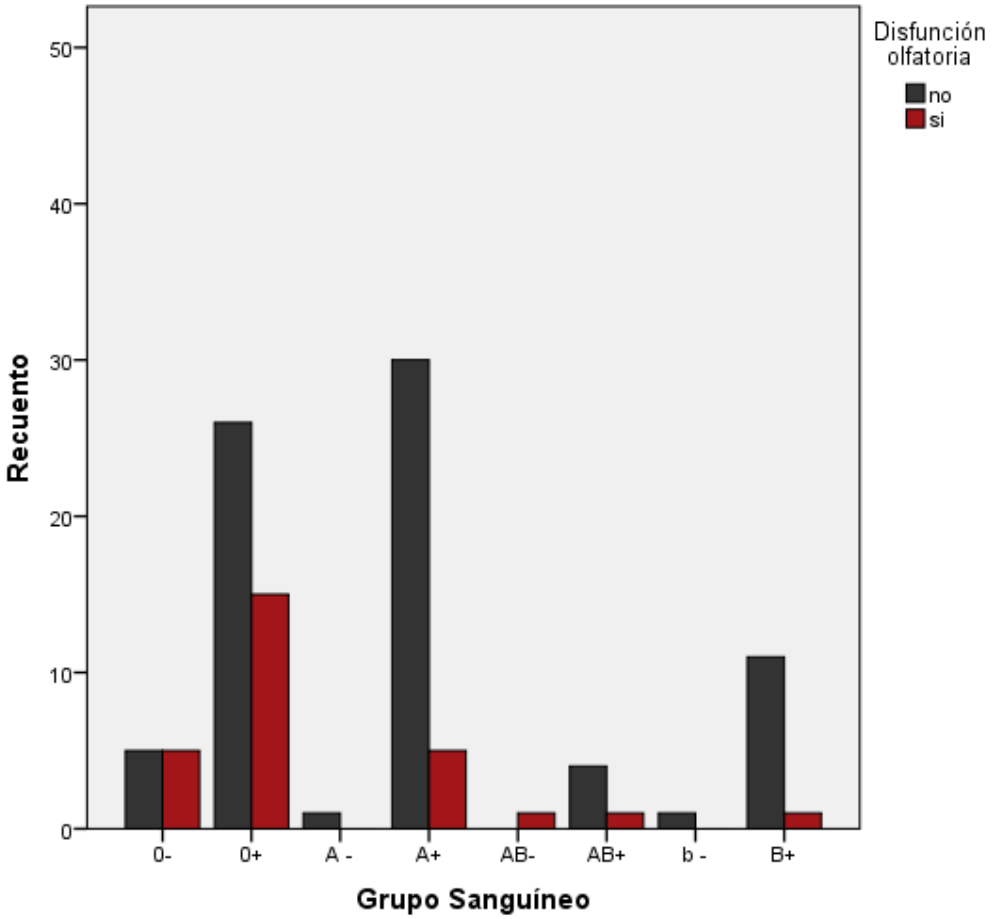


Figura 47. Grupo Sanguíneo y disfunción olfatoria.

El grupo con mayor disfunción olfatoria fue el 0+ seguido de A+ y 0-.

Por último, se evaluó el gen 2DS4 por la importancia destacada en los últimos descubrimientos de su relación con el COVID-19 (166).

Se observó que los pacientes que lo poseían tenían una mayor tendencia a la disfunción olfatoria (53,84%) que los que no lo poseían (46,15%). Sin embargo, esto no adquirió significancia estadística (p = 0,426).

Tabla 36. Disfunción olfatoria y Gen 2DS4.

Tabla cruzada				
		Disfunción olfatoria		Total
		no	si	
Gen 2DS4	No	58	18	76
	Si	96	21	117
Total		154	39	192

Tabla 37. Prueba exacta de Fisher en relación con la disfunción olfatoria y el gen 2DS4.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	,641[a]	1	,423		
Corrección de continuidad[b]	,378	1	,539		
Razón de verosimilitud	,634	1	,426		
Prueba exacta de Fisher				,461	,268
Asociación lineal por lineal	,638	1	,425		
a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 14,84.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

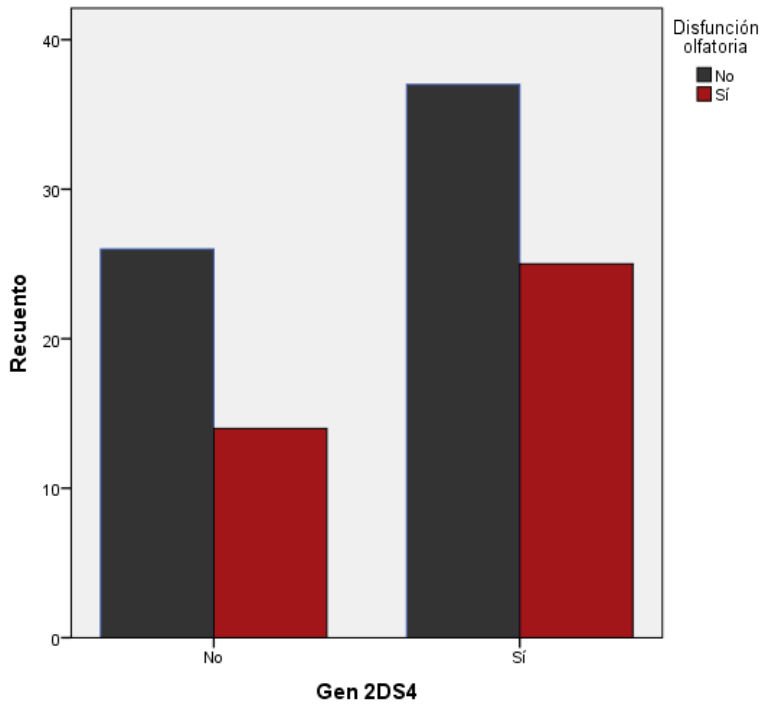


Figura 48. Gen 2DS4 y disfunción olfatoria.

El grupo con el gen 2DS4 fue el que más disfunción olfatoria presentó.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

La enfermedad conocida como COVID-19 es una enfermedad infecciosa provocada por el virus SARS-CoV-2, identificado por primera vez en el año 2019 en Wuhan, China, con un origen incierto, aunque se postula que fue propagado por contagio de pangolines a humanos (3). Supuso un gran impacto a nivel mundial, conllevando una desestabilización de la sociedad y causando millones de muertes y una gran crisis sanitaria.

Se trata de un virus ARN monocatenario procedente de la familia *Coronaviridae* del orden *Nidovirale* y subfamilia *Orthocoronavirinae.* El genoma codifica cuatro proteínas estructurales principales: la proteína Spike (S), la proteína de la envoltura (E), la proteína de membrana (M) y la nucleocápside (N) (1). La proteína S es la encargada de la entrada del virus a la célula huésped (2,4,8,9).

Su principal forma de contagio es debida a aerosoles o gotitas de Pflügge transmitida de persona a persona (1,21).

Los síntomas principales de este virus son muy variables, desde leves (como fiebre, tos, fatiga, alteraciones gastrointestinales, disfunción olfatoria o disgeusia) hasta graves (como disnea, dolor torácico, etc.). En algunos casos, la enfermedad puede ser mortal, especialmente en personas mayores o con patologías preexistentes (1,11,12).

El mecanismo fisiopatológico, aunque aún quedan cuestiones por resolver, es complejo y multifacético, involucrando a la interacción directa del virus con la célula huésped y la respuesta inmunitaria.

Este virus penetra a la célula huésped gracias a la unión de la ACE2 con la TMPRSS2. Para que se produzca esta unión, es indispensable el fuerte anclaje proporcionado por la furina, que a su vez se une a la espícula (S). Una vez establecida la unión con su receptor, la nucleocápside y el ARN mensajero penetran en el citoplasma de la célula huésped (15), provocando la infección. Los últimos estudios también destacan la NRP1 como receptor importante a la hora de la transmisión del virus, aunque no está del todo clara su función en la patogenia del SARS-CoV-2, pero parece guardar relación con el bulbo olfativo y el sistema nervioso central (13,14). Podría expresarse en el neuroepitelio olfatorio y estar aumentada en los pacientes con disfunciones olfatorias, como se analizó en diferentes estudios donde se llevaron a cabo autopsias de pacientes fallecidos de COVID-19 que presentaban alteraciones del olfato (13,150).

Existen ciertas patologías descritas en la literatura que favorecen a una peor evolución de la enfermedad, como puede ser el hábito tabáquico, enfermedades cardiovasculares o degenerativas asociadas, diabetes, obesidad o estados de inmunosupresión (12,46). Sin embargo, se pudo observar cómo en las primeras olas de la pandemia, antes de las campañas de vacunación, pacientes con características clínicas y físicas similares, tenían grados de enfermedad muy dispares. Se podía apreciar también en el mismo núcleo familiar, donde un paciente podía acabar en la UCI mientras que otro del mismo núcleo padecía un COVID leve, sin que ninguno de los dos tuviese patologías previas (19,72,89). Esto no cumplía con los

hallazgos descritos en la literatura publicada (46,130), lo que sugiere que existe algún factor de riesgo, predisposición previa o característica no conocida en la actualidad que puede favorecer a una mayor gravedad de esta enfermedad. En este contexto, nuestro estudio se enfocó en examinar la relación entre la expresión de cuatro receptores fundamentales responsables de la fisiopatología infectiva del COVID-19 (furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2) en la mucosa nasal o faríngea y la gravedad de la enfermedad, evaluada a través de la Escala de la Organización Mundial de la Salud (OMS), ya que fue una de las escalas más empleadas y registradas durante las primeras olas de la pandemia.

Nuestra hipótesis central postulaba que niveles más altos de estos receptores podrían facilitar la entrada y replicación del SARS-CoV-2, conduciendo a una enfermedad más grave. Además, exploramos la posibilidad de utilizar un exudado nasal (si no se pudo obtener el nasal por causas obstructivas o porque el paciente lo rechazó empleamos el orofaríngeo) como herramienta predictiva de la gravedad de la enfermedad, con el objetivo de identificar a aquellos pacientes que podrían requerir una especial atención.

La **Tabla 9** proporciona una visión general de las características sociodemográficas de los pacientes incluidos en nuestra muestra.

En esta primera tabla se observó que más de la mitad de los participantes fueron hombres (66,9%) y la mediana de edad se situó en torno a 58,5 años, con un rango intercuartílico (RI) de 16,2 años. Esto indica que la mitad de los pacientes tenían edades entre 42,3 y 74,7 años. En nuestro estudio la mayoría eran de origen caucásico (81,7%).

En la literatura no hay un punto de corte establecido para determinar qué consideraríamos como número de receptores bajo, medio y elevado en la población. En nuestra muestra, las medianas para los receptores analizados fueron: furina de 212,3 unidades en la base de datos completa y sin contar con los casos perdidos es de 212; ACE2, la mediana se sitúa en 2098,3 unidades; NRP1, la situamos en 1904,3 unidades contando con los casos perdidos y sin contar con ellos en 1897,7 unidades y TMPRSS2, en 113 unidades.

Posteriormente pasamos a analizar la gravedad según la Escala de Gravedad propuesta por la OMS, valorando fundamentalmente la necesidad de soporte respiratorio. En esta escala, el grupo 1 corresponde a aquel paciente que no requiere ingreso; el grupo 2, aquel que precisa ingreso con oxígeno ambiente; el grupo 3, ingreso con oxígeno a bajo flujo; grupo 4, ingreso con ventilación no invasiva u oxígeno a alto flujo; grupo 5, ingreso con ventilación invasiva y el grupo 6 muerte. En nuestra base de datos no obtuvimos ningún paciente en los grupos 3 y 6.

El grupo 1 fue el que más predominó en nuestro estudio (38,5%), por lo que la mayoría se encontraban en una categoría leve.

Para este proyecto se decidió analizar la gravedad agrupándola de diferentes maneras para obtener grupos más homogéneos. Por un lado, agrupamos la Escala de Gravedad de la OMS en pacientes que precisaron o no ventilación (grupos 1-3) versus ventilación invasiva (grupos 4-5). También se analizaron los ítems de esta escala dependiendo de si habían empleado ventilación no invasiva o no precisaron ventilación (grupos 1-4) o necesitaron

ventilación invasiva (grupo 5). Así mismo dividimos la escala según si fueron ingresos o no, agrupando el grupo 1 y 2 frente el 4 y 5.

Al agrupar la muestra según la necesidad de ventilación o no (grupos 1-2 versus grupos 4-5), se logró una mayor homogeneidad en comparación con la agrupación basada en si habían necesitado ventilación no invasiva o no habían necesitado ventilación (grupos 1-4) frente a los que precisaron ventilación invasiva (grupo 5), al igual de si requirieron ingreso o no. Por esta razón, se optó por realizar la comparación utilizando la primera agrupación descrita (grupo 1-2 (61 pacientes) frente 4-5 (43 pacientes)).

Por último, analizamos dos variables clínicas con alta relevancia en este proyecto por su implicación a nivel nasal y oral: la disfunción olfatoria y la disgeusia; y por su probable asociación con los receptores nasales estudiados. Tong et al. (59) y Hajikhani et al. (144) reportan que la presencia de disfunción olfatoria se encuentra entre un 41-45% de los pacientes y de disgeusia en torno al 38%. En nuestro estudio, el 62,5% no refirieron haber padecido disfunción olfatoria (se recogió tanto la anosmia, como la hiposmia y la fantosmia o cascosmia), frente a un 37,5% que sí señaló haberla tenido. En el grupo que presentó disgeusia, un 63,46% de los pacientes no la padecieron frente al 36,5% que sí que la señalaron como síntoma. Como vemos, los resultados entre la disfunción olfatoria y disgeusia son similares. Esto podría deberse a que, en muchos casos, se confunden ambos síntomas, y la mayoría realmente reflejan una disfunción olfatoria, por lo que la presencia de disfunción olfatoria en nuestra muestra podría estar sesgada por aquellos pacientes donde sólo refirieron disgeusia cuando realmente padecían alguna alteración en el olfato.

Los análisis de regresión logística binaria, presentados en la **Tabla 10**, muestran resultados que plantean varios interrogantes relevantes para investigaciones futuras. En primer lugar, observamos que la expresión de furina en nuestra muestra expuso una asociación positiva con la gravedad según la Escala de Gravedad de la OMS del COVID-19. Sin embargo, esto no alcanzó significancia estadística en ninguno de los modelos evaluados (tanto en la base de datos completa como en la que se eliminaron los pacientes con datos incompletos). En numerosos estudios analizan el papel de la furina en la enfermedad por COVID-19, siendo una enzima proteasa clave para cortar y activar precursores de proteínas y favorecer el ensamblaje de otros receptores y permitir la entrada del SARS-CoV-2. Chan et al. (17) evaluaron la función de esta enzima en su patogenia de la enfermedad por COVID-19, concluyendo que es crucial para su entrada a la célula huésped. Li et al., y Zhang et al. (134,138) investigaron así mismo el papel de dicha proteína, destacando la función de ésta en pacientes con enfermedades neurodegenerativas psiquiátricas y cáncer, lo que podría justificar que sean factores de riesgo a la hora de contagiarse de este virus. En nuestro estudio, los resultados no fueron favorecedores, por lo que no podemos confirmar que la furina sea clave a la hora de aumentar la gravedad de la enfermedad. Esto plantea que, aunque esta enzima podría tener un papel en la patogénesis del COVID-19, su influencia en la gravedad de la enfermedad podría estar afectada por otros factores no contemplados en nuestro estudio o que no se adquiera la significancia por el tamaño muestral reducido.

En ninguna de nuestras bases adquirimos asociaciones significativas entre la expresión de ACE2, NRP1 y TMPRSS2 y la severidad del COVID-19. Estos hallazgos contradicen parcialmente investigaciones anteriores que habían sugerido la relevancia de

dichos receptores en la entrada y replicación del virus. Bourgonje et al., Ziegler et al., Gusev et al. y Liu et al., exploraron el papel de la enzima convertidora de angiotensina 2, donde concluyeron que era esencial para la entrada y replicación del virus (11,12,129,172). Además, Pringle et al. discutieron que esta proteína podría ser causante del aumento de la gravedad del COVID-19 (173). En el estudio de Saheb et al. (130) fueron más allá y determinaron que en los niños la ACE2 se expresa en menor medida que en los adultos, lo que podría explicar el menor riesgo de padecer la enfermedad, hallazgo similar al estudio de Patel et al (141). También destacaron el tabaquismo y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), debido a que estos pacientes tendrían una mayor expresión de la ACE2. Devaux et al. (126), así mismo, evaluaron el papel de esta proteína, coincidiendo con Bourgonje et al (12). Profundizaron en las diferencias genéticas de este receptor y cómo afectaban a su expresión y función. Esto podría dar lugar a diferencias infectivas entre distintos individuos y el aumento de la capacidad de desarrollar complicaciones como la hipertensión arterial y el fallo multiorgánico. Kimura et al. (131), analizaron el papel de ACE2 y TMPRSS2 en las células epiteliales de las vías respiratorias e investigaron su relación con la inflamación tipo 2. Concluyeron que la ACE2 se expresa menos en la inflamación tipo 2 (relacionada con el asma), mientras que aumenta en la TMPRSS2. Lukassen et al. (142) también estudiaron el papel de dichos receptores en el tracto respiratorio, donde observaron que las células transitorias bronquiales son las que más expresan estos receptores y producen mucosidad y proteínas antimicrobianas para proteger las vías respiratorias. Sungnak et al. (73) evaluaron estas enzimas en el epitelio nasal, donde demostraron que se encontraban más expresadas en las células caliciformes y ciliadas y que la presencia de genes que influyen en la inmunidad innata podrían alterar el proceso infectivo y la respuesta inmunitaria. Xu et al. (128)

analizaron estas proteínas en las células epiteliales de la mucosa oral, concluyendo que también forma parte de la vía de entrada del virus. Lechien et al. (174) realizaron una revisión sistemática con el objetivo de estudiar en la literatura el papel que juegan ACE2 y TMPRSS2 y encontraron mucha discrepancia entre artículos en el modo de evaluación de dichas proteínas que se expresan de forma diferente en distintos tejidos, pero que indudablemente juegan un papel fundamental en la patogenia de SARS-CoV-2.

La NRP1, aunque menos estudiada, también parece tener un papel prometedor en la patogénesis del SARS-CoV-2. Afiadenyo et al. analizaron la función de esta proteína en la patogenia de este virus, observando que puede atravesar la barrera hematoencefálica (175). Cantuti-Castelvetri et al., Daly et al. Guo y Vander y Mayi et al., también estudiaron esta enzima observando que su bloqueo reducía la entrada del virus de forma considerable, por lo que concluyeron que jugaba un papel crucial en la patogenia del virus (13,14,140,150).

Por todo lo analizado anteriormente, podemos observar como en la literatura demuestran el papel fundamental de estas cuatro proteínas en la patogenia del COVID-19, sin embargo, nuestros hallazgos no son concluyentes. Como se ha comentado previamente, debido a que el tamaño de la muestra utilizado fue relativamente reducido, esto pudo haber disminuido la capacidad de identificar asociaciones estadísticamente significativas, especialmente en el caso de receptores con efectos leves sobre la severidad del COVID-19. Además, el enfoque de esta investigación se basó en datos observacionales, lo que dificulta la confirmación de relaciones causales entre la expresión de los receptores y la gravedad de la enfermedad.

A pesar de las limitaciones anteriormente comentadas, en nuestros resultados obtenidos se sugiere que la furina podría desempeñar un papel relevante en la patogénesis de la enfermedad, si bien su influencia en la gravedad podría ser afectada por otros factores. Por otro lado, la ausencia de asociación significativa para ACE2, NRP1 y TMPRSS2 plantea dudas acerca del papel preciso de estos receptores en la respuesta clínica de los pacientes.

En la **Tabla 11** se realizó de la misma forma que en la Tabla 10 un análisis de regresión logística binaria con el propósito de indagar en la correlación existente entre los niveles de receptores, dividiéndolos por tertiles (nivel bajo, medio y alto) para intentar establecer un punto de corte y categorizar en niveles las unidades de receptores y la severidad de la enfermedad según la Escala de Gravedad de la OMS, tomando en cuenta tanto modelos ajustados como no ajustados, con y sin imputación de datos incompletos.

Los niveles de furina no mostraron resultados estadísticamente significativos en comparación con la gravedad de la enfermedad por COVID-19 en ninguno de los modelos estadísticos analizados. A pesar de que el modelo no ajustado inicialmente sugirió un posible aumento del riesgo asociado con niveles medios de furina (OR = 2,68, p = 0,051), esta asociación se perdió una vez que se realizaron ajustes por factores de confusión (OR = 1,70, p = 0,356). Por consiguiente, se plantea la posibilidad de que la furina, a pesar de su potencial implicación en la patogénesis del SARS-CoV-2, podría no desempeñar un papel dominante de forma independiente en la gravedad del COVID-19.

En el modelo ajustado se evidencia una asociación estadísticamente significativa entre la ACE2 y la gravedad del COVID-19. Se encontró que los niveles medios de ACE2

estaban directamente relacionados con una reducción significativa en la probabilidad de padecer una enfermedad grave (OR = 0,17 y p = 0,007) en el modelo ajustado. Este descubrimiento resulta inquietante y plantea la interesante posibilidad de que los niveles medios de ACE2 tengan un efecto protector contra el desarrollo de formas graves de COVID-19 según nuestro estudio, hallazgo que sería contradictorio a la literatura (11,12,143). Señalamos el artículo de Pringle et al. (173), donde afirman que la ACE2, juega un papel imprescindible en la entrada y replicación del virus y que supone un factor de riesgo en la gravedad del COVID-19.

En el análisis detallado del modelo ajustado, destacamos una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de expresión del receptor de NRP1 y la severidad de la patología estudiada. Se evidenció que los niveles medios se asociaban con una disminución en la probabilidad de desarrollar una enfermedad de carácter grave (OR = 0,29, p = 0,030). Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que NRP1 podría desempeñar un papel protector en desarrollar una enfermedad por COVID-19 grave, lo que podría guardar relación con su posible correlación con la clínica de disfunción olfatoria ya que estas están relacionadas con los estadios más leves (72,89,167). Sin embargo, otros artículos postulan que el aumento de este receptor favorece la entrada del virus y una mayor infección y gravedad de la enfermedad, como concluyen en los artículos de Afiadenyo et al. y Cantuti-Castelvetri et al. (150,175). Esa proteína se une a la espícula (Spike), favoreciendo la entrada a la célula huésped, junto con la ACE2 y la TMPRSS2, como redactaron en el artículo de Chekol et al (176).

Por último, en ninguno de los modelos analíticos examinados se pudo demostrar de manera irrefutable una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de TMPRSS2 y la severidad clínica del COVID-19. Este descubrimiento sugiere que, a pesar de tener un papel clave en la replicación viral (15,132,148), su presencia en el organismo posiblemente no constituya un factor exclusivo en la progresión de la patología.

Debemos tener en cuenta otros factores externos que puedan estar influyendo en nuestros resultados, como el estado inmunológico del paciente, factores predisponentes previos de riesgo, u otras proteínas implicadas en la entrada y replicación viral, como proteínas estructurales presentes en el virus: S (Spike), M (membrana), E (envoltura) y N (nucleocápside); o proteínas no estructurales (177).

La asociación protectora identificada entre los niveles intermedios de ACE2 y NRP1 sugiere la capacidad de desarrollar nuevos tratamientos específicos enfocados en regular dichos receptores con el objetivo de disminuir la severidad del COVID-19. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más investigaciones enfocadas en estos receptores para entender los complejos mecanismos subyacentes a estas conexiones y así mismo evaluar de manera exhaustiva la eficacia y seguridad de las terapias mencionadas.

En la **Tabla 12** examinamos detalladamente la relación entre los niveles de cuatro receptores evaluados previamente y la presencia de disfunción olfatoria en pacientes curados de COVID-19 en la primera y segunda ola de la pandemia, mediante un análisis de regresión logística binaria. Se evaluó los modelos tanto ajustados como no ajustados, considerando las bases de datos completas y también aquellas con imputación de valores perdidos, como en

las tablas anteriores. Los resultados obtenidos no revelaron ninguna asociación estadísticamente significativa entre los niveles de furina, ACE2, NRP1, TMPRSS2 y la manifestación de disfunción olfatoria en pacientes afectados por el virus. Chen et al. (163) investigaron la expresión de la ACE2 en el neuroepitelio olfatorio y su relación con la disfunción olfatoria, donde demostraron que esta enzima está elevada en dicho lugar, facilitando la entrada del SARS-CoV-2 en las células olfatorias. Estos resultados se respaldan en el artículo de Doty et al. (178). Además, en este último estudio señalan la asociación de la disfunción olfatoria con una mayor incidencia de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson. Brann et al y Bilinska et al. (148,179) encontraron que la ACE2 y la TMPRSS2 se hallaban expresadas en células no neuronales del sistema olfatorio, como las células de soporte y las células gliales del epitelio olfatorio, además de las células olfativas. Este hallazgo explicaría el mecanismo de acción inflamatorio del SARS-CoV-2, produciendo disfunciones olfatorias transitorias. La furina, aunque menos estudiada en el campo de la disfunción olfatoria provocada por COVID-19, también parece jugar un papel importante en su patogenia, ya que produce el anclaje entre las dos proteínas ACE2 y TMPRSS2. Esta enzima afecta también a las células de soporte y las neuronas olfatorias, provocando inflamación y daño en el epitelio olfatorio (16,163,179). La NRP1 parece expresarse así mismo en el epitelio olfatorio, incluidas las células de soporte y las células neuronales, en menor medida (179). Según Chekol et al. (176), esta enzima, en combinación con la ACE2 permitiría una entrada más eficiente del virus y favorecería la disfunción olfatoria. Chen et al. también concluyó que esta proteína podía influir en la pérdida del sentido del olfato (163).

Estos hallazgos no excluyen la probabilidad de que estos receptores jueguen un papel importante en la patogénesis de la disfunción olfatoria provocada por el COVID-19. La pérdida del olfato podría ser un fenómeno multifacético influenciado por diversos factores virales, del organismo infectado y ambientales. Nuestra investigación se centró en correlacionar los niveles de receptores y la disfunción olfatoria en un momento concreto. Es plausible que la evolución en la expresión de estos receptores a lo largo de la infección sea fundamental en el desarrollo y la resolución de la disfunción olfatoria.

Por tanto, en el estudio realizado no se encontraron pruebas evidentes que demuestren una correlación significativa entre los receptores furina, ACE2, NRP1 o TMPRSS2 y la disfunción olfatoria en pacientes afectados por COVID-19. No obstante, los resultados obtenidos no descartan la posibilidad de que dichos receptores puedan influir en el desarrollo de la disfunción olfatoria, ya sea a través de interacciones complejas o variaciones dinámicas en sus niveles a lo largo del tiempo. Investigaciones futuras que aborden hipótesis más complejas de interacciones entre distintos receptores podrían contribuir al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para la prevención o tratamiento de este síntoma.

Para una mayor precisión se comparó en la **Tabla 13** cada uno de los tertiles de los cuatro receptores con la presencia de disfunción olfatoria. Los resultados obtenidos de nuestro análisis no aportaron evidencias concluyentes que respalden la existencia de asociaciones estadísticamente significativas entre los diferentes niveles de expresión de los receptores estudiados y la presencia de disfunción olfatoria en pacientes diagnosticados de COVID-19, al igual que en la tabla anterior. Al analizar las distintas categorías de nivel bajo, intermedio o alto correspondientes a NRP1 y TMPRSS2, no se observó un incremento o

decremento significativo en las probabilidades (*odds ratio*) de desarrollar disfunción olfatoria. Esto se mantuvo constante tanto en los modelos ajustados como en los no ajustados, y en ambas bases de datos analizadas en nuestro estudio. Sin embargo, se evidenció una asociación positiva entre los distintos niveles de furina y ACE2 y un mayor riesgo de disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19, aunque estos hallazgos no fueron estadísticamente significativos.

Estos resultados podrían tener implicaciones clínicas de gran importancia. A pesar de que no se encontró una asociación significativa entre un receptor individual y la disfunción olfatoria, es probable que combinaciones específicas de niveles de receptores tengan un impacto en la posibilidad de experimentar este síntoma, así como otros factores externos, como el estado inmunológico, carga viral u otras características no analizadas.

Se ha investigado en estudios recientes que la NRP1, la cual se une de manera específica a la ACE2, desempeña un papel crucial en la facilitación de la entrada del SARS-CoV-2 en las células huésped, incrementando así su capacidad infectiva. Por consiguiente, se plantea que aquellos individuos que dispongan una mayor presencia de estos receptores en la superficie de sus células podrían ser más susceptibles a la infección en comparación con aquellos cuyas células presenten una menor cantidad de NRP1 (13,150). Esto plantea la probabilidad de que la interacción del virus con estas células se dé a través de la NRP1, permitiendo su entrada tanto en las células olfatorias como en las neuronas circundantes (dado que estas células se distribuyen a lo largo de todo el epitelio y el bulbo olfatorios), lo que podría justificar las manifestaciones olfatorias asociadas a la infección por SARS-CoV-2. Como hemos comprobado en nuestro estudio, no se encontró una asociación

estadísticamente significativa entre la NRP1 (analizado de forma global y por niveles bajo y alto) y la presencia de alteración olfatoria. Sin embargo, en el análisis realizado para evaluar la asociación entre la gravedad del COVID-19 y los niveles de NRP-1, en el modelo ajustado por edad, sexo y raza, demostramos que el nivel medio de receptor podría tener un papel protector en la gravedad (OR = 0,31, para datos con pérdidas; OR = 0,29 para datos imputados) con datos estadísticamente significativos (p = 0,047 en la base de datos completa y p=0,030 en la base de datos imputada), es decir, un aumento de los niveles de NRP1 se asociaría a los casos más leves, que, por consiguiente, son los más relacionados con las disfunciones olfatorias. Este hallazgo despierta un gran interés por este receptor ya que existen pocos estudios en la actualidad que demuestren asociaciones significativas entre la NRP1, características patogénicas del SARS-CoV-2 y su relación con la disfunción olfatoria.

Otro síntoma importante que señalar en esta enfermedad es la disgeusia, la alteración en la percepción del sabor. A pesar de saber que el SARS-CoV-2 puede impactar en las células sensoriales responsables de la percepción del gusto, los mecanismos subyacentes a la disgeusia provocada por el COVID-19 aún no han sido completamente esclarecidos. En el presente estudio, hemos examinado la relación entre los niveles de los cuatro receptores destacados (furina, ACE2, NRP1 y TMPRSS2) y la presencia de disgeusia en pacientes afectados por COVID-19.

Utilizamos un análisis de regresión logística binaria para evaluar la asociación entre los diferentes niveles de expresión de cada receptor y la presencia de disgeusia, tanto en modelos ajustados como no ajustados, y considerando bases de datos con y sin imputación de datos faltantes. Nuestros hallazgos, presentados en la **Tabla 14**, no revelaron ninguna

asociación entre los receptores estudiados (furina, ACE2, NRP1, TMPRSS2) y la presencia de disgeusia en pacientes diagnosticados con COVID-19 en la primera y segunda ola. Sin embargo, algunos estudios han reportado la asociación entre estos receptores y la presencia de este síntoma. El estudio de Xu et al. (128) analiza la alta expresión de la ACE2 en las células epiteliales de la mucosa oral, por lo que podría sugerir que también es una puerta de entrada del virus y justificar los síntomas de disgeusia. En el estudio de Doyle et al. (180) se demostró que la ACE2 se encuentra expresada en la superficie de las células gustativas, lo que justificaría la presencia de disgeusia. También se ha encontrado el aumento del receptor TMPRSS2 en el epitelio de la cavidad oral, incluido en las células gustativas, lo que explicaría la influencia de esta proteína en la presencia de disgeusia (15,181,182). En cuanto a la furina, también se ha visto expresada en el epitelio de la cavidad oral, lo cual establecería la relación causal entre este síntoma y el receptor (12,16,73). La NRP1, aunque menos estudiada, también se ha identificado en diferentes análisis en el epitelio de la cavidad oral (150,176,176). Sin embargo, no hay estudios actualmente que demuestren una relación causal entre el aumento de NRP1 y la presencia de disgeusia.

Este síntoma tiene la peculiaridad de que es confundido habitualmente en la población. La mayor parte de veces, se intercambia la disfunción olfatoria con la presencia de disgeusia, por lo que es un estado clínico mal registrado. Además, no podemos descartar la probabilidad de que ciertas combinaciones específicas de niveles de receptores puedan estar relacionadas con un incremento o disminución del riesgo de experimentar disgeusia. Por lo tanto, al igual que en la disfunción olfatoria, sería recomendable llevar a cabo nuevas

investigaciones que empleen metodologías de análisis multivariado, ya que estas podrían esclarecer dudas sobre la asociación entre receptores y la presencia de disgeusia.

Se realizó además un análisis de regresión logística binaria con el objetivo de investigar la estrecha relación existente entre los niveles divididos en niveles bajo, medio y alto de receptores y la presencia de disgeusia en pacientes diagnosticados con COVID-19. Se llevaron a cabo comparaciones entre modelos ajustados por edad, sexo y raza y no ajustados, considerando tanto la imputación como la ausencia de datos faltantes. Los resultados obtenidos, detallados en la **Tabla 15**, sugieren una interacción sumamente compleja entre los receptores y la disgeusia en pacientes afectados por SARS-CoV-2.

En un primer análisis, se pudo observar que los niveles de furina mostraron una tendencia hacia una correlación positiva con la disgeusia en los modelos sin ajustar. Se pudo determinar que niveles elevados de furina se asociaron con un destacable aumento en las probabilidades de experimentar disgeusia en comparación con niveles bajos de furina (OR = 2,55, p = 0,062 en el modelo no ajustado y OR = 2,83 y p = 0,072 en el modelo ajustado). Estos datos tendieron a la significancia estadística, aunque no se alcanzó y no se mantuvo tras llevar a cabo ajustes por posibles factores de confusión como la edad, el sexo y raza. Esto plantea que, aunque la furina desempeñaría un papel en la patogénesis de la disgeusia provocada por el COVID-19, su influencia podría estar afectada por otros factores.

En segundo lugar, destacamos que en ninguna de las bases de datos evaluadas se pudo identificar de manera concluyente una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de ACE2 y la presencia de disgeusia. Aunque el modelo ajustado sugirió la

posibilidad de un ligero incremento en el riesgo asociado con niveles medios (OR = 2,32) y elevados de ACE2 (OR = 2,29), estas relaciones no lograron alcanzar un resultado estadísticamente significativo (p = 0,169 en nivel medio y 0,156 en el nivel alto).

En tercer lugar, observamos que los niveles de expresión de NRP1 mostraron una tendencia hacia una posible asociación negativa con la presencia de disgeusia especialmente en los niveles intermedios (OR = 0,39, p = 0,081) en los modelos de regresión no ajustados. A pesar de este hallazgo, dicha posible asociación no logró alcanzar significancia estadística y desapareció al realizar el ajuste por factores de confusión (OR = 0,30, p = 0,58), aunque se acercó mucho a la significancia.

En último lugar, los niveles de la enzima TMPRSS2 no mostraron una correlación estadísticamente significativa en ninguno de los diferentes modelos analizados. A pesar de que el modelo sin ajustar inicialmente sugirió la posibilidad de un efecto protector asociado a los niveles elevados de TMPRSS2 (OR=0,59 en el modelo sin ajustar y OR = 0,55 en el modelo ajustado), esta relación no logró alcanzar significancia estadística en ninguna de las bases de datos analizadas (p = 0,306 en el modelo sin ajustar y p = 0,321 en el modelo ajustado).

La posible correlación positiva entre los niveles de furina y la disgeusia, aunque no alcanza significancia estadística, sugiere la probable participación de la furina en el desarrollo de este síntoma asociado al COVID-19. Por otra parte, la falta de una asociación estadísticamente significativa con ACE2, NRP1 y TMPRSS2 no excluye la posibilidad de

que estos receptores estén involucrados en procesos más complejos vinculados con la disgeusia e incluso tengan papeles protectores no estudiados.

Los resultados obtenidos en el estudio poseen una relevancia significativa que puede impactar positivamente en futuras investigaciones científicas. Sería altamente recomendable llevar a cabo estudios longitudinales y de mayor tamaño muestral que analicen detalladamente la evolución de los niveles de receptores a lo largo de un largo periodo de tiempo. Además, investigaciones que indaguen en la compleja interacción entre diversos receptores y otros elementos relevantes en la patogenia, tales como la carga viral, la respuesta inmunitaria o el estado inflamatorio, podrían proporcionar valiosa información sobre los mecanismos que subyacen a la patogenia del COVID-19 y sus implicaciones. La elaboración de modelos animales y estudios in vitro podría contribuir a esclarecer los mecanismos moleculares implicados en la relación entre los receptores y la severidad del COVID-19.

En resumen, destacamos la trascendencia de considerar una amplia gama de receptores y sus complejas interacciones para lograr una comprensión más profunda de la patogénesis de la enfermedad y así poder desarrollar estrategias terapéuticas considerablemente más eficaces. A medida que se avanza progresivamente en la comprensión detallada de los mecanismos moleculares implicados en la gravedad del COVID-19, se estará en una posición notablemente más sólida para hacer frente de manera efectiva a esta enfermedad y a posibles pandemias que puedan surgir en el futuro.

En último lugar, evaluamos la presencia de disfunción olfatoria en los pacientes de nuestra muestra comparándola con características clínicas y analíticas.

Como se ha comentado anteriormente, se ha observado que las células caliciformes y ciliadas del neuroepitelio presentan unos niveles altos del receptor de la enzima convertidora de la ACE2, así como de la TPRSS2 (174,183), sin embargo, este receptor no se expresa en el bulbo olfatorio directamente, encontrándose en las células basales y sustentaculares (174). Por su parte, el SARS-CoV-2 podría actuar como un virus neuroinvasivo en humanos, hecho que explica las manifestaciones neurológicas asociadas a la enfermedad. Las células sustentaculares del nasoepitelio presentan receptores ACE2 y TMPRSS2 que son utilizados por el SARS-CoV-2 para entrar al interior de la célula, lo que podría justificar la inflamación que produce el virus provocando una pérdida temporal de la capacidad olfativa (144,148,174,184,185). También estarían afectadas las células basales horizontales. Esto da lugar a que el proceso de recuperación celular debido a la inflamación se vea ralentizado, ya que las células madre olfatorias de esta ubicación se ven afectadas. Por consiguiente, la disfunción en el sentido del olfato parece estar relacionada con un mecanismo inflamatorio en lugar de un daño directo a nivel neuronal en el bulbo olfatorio, lo que también explica la pronta recuperación de la capacidad olfativa en menos de 30 días. En caso de que realmente se produjera una destrucción neuronal en el sentido del olfato, el periodo de recuperación sería considerablemente más extenso, pudiendo perdurar durante incluso años (174,186).

En estudios previos destacan que la disfunción olfatoria es más común en personas jóvenes correspondiendo con los datos obtenidos en nuestro análisis, a pesar de que los problemas causantes de la disfunción olfatoria independientes del COVID-19 son más comunes en personas de edad avanzada (187). Así mismo se ha mostrado que, en las respectivas poblaciones a estudio, en las mujeres es más frecuente la disfunción olfatoria, así

como es mayor también el grado de severidad de esta disfunción (144,187,188), coincidiendo con los datos obtenidos en nuestro estudio.

Respecto a la raza, la mayor parte de la muestra que presentó disfunción olfatoria era de origen caucásico, hallazgo similar a la literatura. Sin embargo, estos datos no adquirieron significancia estadística (187,188).

De las variables clínicas ocasionadas por la enfermedad COVID-19, evaluamos la hospitalización en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). No se mostró significancia estadística en nuestro estudio. En diferentes estudios se ha observado que los pacientes hospitalizados presentan una menor incidencia de disfunción olfatoria ya que esta se asocia a una disminución de la gravedad de la enfermedad (188). También se documenta en el artículo de Porta-Etessam et al. (189), donde encontraron que la presencia de disfunción olfatoria y disgeusia podría estar asociada a una menor gravedad y predecir qué pacientes serían leves. Así mismo se refleja en la literatura que los pacientes hospitalizados experimentan una recuperación más rápida de la misma. Por lo tanto, los pacientes con COVID-19 no hospitalizados muestran una mayor incidencia y gravedad en la disfunción olfatoria, con una recuperación más tardía (146,155,190,191). Se ha observado una mejoría en la disfunción olfatoria a la vez que se produce en los síntomas relacionados con el COVID-19, lo que sugiere que el virus podría actuar como un fenómeno inflamatorio que compite en los receptores de las células olfatorias (144,151,192). Una posible hipótesis que podría explicar el hecho de que los pacientes ambulatorios presenten alteraciones olfatorias y los pacientes hospitalizados no, es que los primeros hayan experimentado una propagación vía nasal, mientras que los pacientes hospitalizados han sufrido una propagación pulmonar, con

una mayor tasa de insuficiencia respiratoria y necesidad de ingreso hospitalario. Otra alternativa planteada que podría explicar las diferencias significativas que se observan entre los pacientes que se encuentran hospitalizados y aquellos que reciben atención de forma ambulatoria es que los individuos que presentan una respuesta inmunitaria altamente efectiva a nivel de la mucosa nasal podrían experimentar una mayor inflamación y manifestaciones sintomáticas en la zona nasal, lo cual podría limitar la propagación hacia las vías respiratorias inferiores. Sin embargo, aquellos con una respuesta inmunitaria deficiente podrían experimentar una propagación más extensa a través del tracto respiratorio inferior, lo que daría lugar a una mayor sintomatología a nivel pulmonar y sistémico. Se ha documentado una posible correlación entre las formas más graves del COVID-19 y la presencia de anticuerpos IgG dirigidos contra el virus SARS-CoV-2 (151,193).

Según algunos estudios, la tasa de recuperación de este síntoma es de un 70-87% en un periodo de 28 días (151,194,195). De un total de 104 individuos incluidos en nuestra base de datos, se identificó que 39 presentaban alguna alteración en su capacidad olfativa, lo que representa un 36,53% de la muestra analizada. En nuestro estudio, la media de días de la recuperación del olfato fue de 35,61 días, con un máximo de 180 días. En diversos artículos muestran que el aproximadamente el 79,9% de los pacientes que han superado el coronavirus han experimentado algún tipo de alteración en el sentido del olfato (23), porcentaje más elevado que en nuestro análisis, lo que se podría justificar con aquellos pacientes donde no refirieron disfunción olfatoria, sobre todo en la primera ola de COVID-19 donde aún no estaba identificado como síntoma de la enfermedad.

Análisis previos han señalado que el 24% de los pacientes muestran resultados normales en pruebas de olfato, similar a lo observado en nuestra investigación, sugiriendo que condiciones otorrinolaringológicas no diagnosticadas previamente podrían influir en la percepción olfativa (156). Otra investigación indica que los pacientes con COVID-19 presentan una pérdida del olfato más pronunciada al inicio de la enfermedad que después de transcurridos 60 días, momento en el cual solo un 7% mantenía algún grado de hiposmia, generalmente leve. Esta hiposmia leve podría ser consecuencia de la enfermedad, o incluso tratarse de una hiposmia preexistente en el paciente que no había sido previamente detectada (193). Otro síntoma reseñado por los pacientes afectados por el COVID-19 es la sensación de ardor en la nariz, la cual podría estar asociada a la diseminación del SARS-CoV-2 a lo largo del nervio trigémino (156).

En relación con las variables clínicas de estatus de fumador y DM, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos estudiados en cuanto a la presencia de estas condiciones médicas preexistentes y la disfunción olfatoria. Sin embargo, en el estatus de hipertenso o no, se observó que la mayoría de los pacientes sin hipertensión eran los que más disfunción olfatoria padecían, siendo este análisis estadísticamente significativo. El tabaquismo, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus están documentados como factores de riesgo que pueden influir en la gravedad de los síntomas de la enfermedad (46,47). A pesar de esto, aún no se ha determinado si estos factores también inciden en el grado de disfunción olfatoria que experimenta el paciente, por lo que podría ser un tema de interés para investigaciones futuras. En relación con el asma, tampoco se obtuvieron datos estadísticamente significativos en cuanto a una mayor presencia de síntomas relacionados

con la pérdida del sentido del olfato. Kimura et al. (131) evaluaron ampliamente la relación entre diferentes receptores como la ACE2 y la TMPRSS2 y la inflamación tipo 2, presente en enfermedades alérgicas como el asma. Concluyeron que la ACE2 está disminuida en esta inflamación y que el asma podría ejercer un papel protector en la enfermedad por SARS-CoV-2, sin embargo, la TMPRSS2 se encuentra aumentada, por lo que no concluyen si la inflamación tipo 2 ejerce un papel protector o de riesgo frente a la enfermedad y gravedad de COVID-19. El artículo de Mendes et al. (196) sugiere que el asma no parece tener un riesgo relevante en una mayor infección por COVID-19, pero que un mejor control del asma disminuye la severidad de los síntomas. La asociación entre asma y disfunción olfatoria está poco esclarecida en la literatura, no encontrándose asociaciones significativas entre estas (151,195).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables analíticas de carga viral y dímero D. En algunos estudios se ha analizado como, según la gravedad del paciente, aumenta el dímero D, estando estrechamente relacionado con la gravedad de la enfermedad (92,98). Sin embargo, no parece guardar relación con la alteración olfatoria aunque es un área de investigación poco desarrollada (164). Algo parecido ocurre con la carga viral, que por sí sola es un factor de riesgo importante para el pronóstico de la gravedad sintomatológica del COVID-19 (46,47), pero no parece guardar relación con el grado de disfunción olfatoria. En diversos estudios, se ha destacado que la presencia de comorbilidades puede influir en la evolución de la enfermedad, siendo la hipertensión arterial una de las más importantes. Además, se ha sugerido que la obesidad y la diabetes mellitus podrían tener un impacto significativo en la respuesta del paciente al tratamiento médico

(46,47). Es importante considerar estos factores al evaluar el pronóstico de los pacientes con COVID-19, que de forma indirecta podrían influenciar en la presencia de disfunción olfatoria.

No se observaron resultados estadísticamente relevantes en relación con el grupo sanguíneo del paciente y la presencia de disfunción olfatoria en nuestro estudio. Sin embargo, investigaciones previas han sugerido que el grupo sanguíneo A podría ser un factor de riesgo para contraer el COVID-19, a diferencia del grupo sanguíneo 0 que podría actuar como un factor de protección (165). En cuanto al gen 2DS4, parece estar asociado con el nivel de gravedad al formar parte de la respuesta inmunitaria en pacientes con COVID-19 (166), pero no se ha documentado que produzca una mayor pérdida del sentido del olfato en nuestro estudio.

7. LIMITACIONES

7. LIMITACIONES

Como limitación principal debemos señalar el escaso tamaño muestral obtenido debido a las pérdidas que se produjeron fundamentalmente por rechazo a participación en el estudio y por fallecimiento, lo que pudo sesgar el análisis estadístico final.

Este estudio fue limitado a una población concreta (ciudadanos que pertenecían a la Región de Murcia), por lo que los resultados se podrían ver alterados al trasladarlos a otras áreas poblacionales.

Por otra parte, los puntos de corte sobre el nivel normal de los receptores nasales en la población son muy arbitrarios. Se necesitan más estudios que permitan establecer otros puntos de corte más precisos.

Se empleó una escala ordinal para evaluar la gravedad del COVID-19, lo cual podría justificar las discordancias encontradas comparándolas con otros estudios disponibles.

También señalamos como limitación que, al ser una enfermedad de reciente descubrimiento, muchos de los hallazgos publicados previamente sobre dicha enfermedad no estaban del todo contrastados y la mayoría no eran estudios evaluados a largo plazo, por lo que el análisis crítico de la literatura se vio limitada por dichos motivos.

Destacamos así mismo la dificultad para determinar la presencia de disgeusia al ser una alteración clínica subjetiva, y en muchas ocasiones, se confunde con la presencia de

disfunción olfatoria, ya que la disgeusia nos impide distinguir sabores (amargo, salado, dulce, ácido y umami), mientras que las alteraciones en el olfato nos dificultan la capacidad de distinguir matices entre distintos sabores (como, por ejemplo, si estamos comiendo chocolate negro o chocolate blanco), matices confundidos con alta frecuencia en la población.

8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

1. Los valores medios de ACE2 mostraron asociaciones estadísticamente significativas con la disminución del riesgo de padecer COVID-19 grave, por lo que podrían ejercer una función protectora para esta enfermedad, contradiciendo investigaciones previas.
2. La furina mostró una asociación positiva con la gravedad de la enfermedad, sin embargo, no alcanzó significancia estadística.
3. TMPRSS2 tampoco mostró resultados favorables en cuanto a su influencia en la gravedad del COVID-19.
4. NRP1 se asoció a un menor riesgo de desarrollar COVID-19 grave, lo que sugiere un papel protector y podría verse asociado a una mayor probabilidad de padecer disfunción olfatoria, ya que esta se asocia a los casos leves de la enfermedad.
5. No se obtuvo una relación estadísticamente significativa entre la disfunción olfatoria y disgeusia en la enfermedad por COVID-19 comparándolas con los receptores nasales previamente evaluados.
6. De acuerdo con otras investigaciones previas en la literatura, se evidenció que las mujeres, los normotensos y los pacientes jóvenes presentaron una mayor disfunción del sentido del olfato.
7. Los pacientes evaluados recuperaron el olfato generalmente en menos de 1 mes, sugiriendo que no existe daño neuronal permanente.
8. Los pacientes en Unidad de Cuidados Intensivos presentaron una menor tasa de disfunción olfatoria.

9. No se encontraron hallazgos significativos en cuanto a la raza, hábito tabáquico, diabetes mellitus, asma, carga viral, aumento del dímero D, grupo sanguíneo y presencia del gen 2DS4 comparándolos con la presencia de disfunción olfatoria en la enfermedad por COVID-19.

9. ANEXOS

9. ANEXOS

9.1. Anexo I: Resolución favorable del CEIm para el proyecto de investigación

Servicio Murciano de Salud

Arrixaca
Hospital Universitario "Virgen de la Arrixaca"
Ctra. Madrid - Cartagena • Tel. 968 36 95 00
30120 El Palmar (Murcia)

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca

CERTIFICA

Que el CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 24/11/2020, acta 10/2020 ha evaluado la propuesta de los investigadores **Dr. José Antonio Díaz Manzano** y **Dr. Diego Hellín Meseguer** referida al estudio:

Título: Estudio de expresión de ACE2 y TMPRSS2 en el epitelio nasal y faríngeo de pacientes tratados por COVID-19

Código Interno: 2020-10-8-HCUVA

Versión Protocolo Evaluada: 2.0 Octubre 2020
Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: GENERAL / 1.0 Octubre 2020

1º. Considera que

- El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE** y acepta que dicho estudio sea realizado por el **Dr. José Antonio Díaz Manzano** y **Dr. Diego Hellín Meseguer** como investigadores principales en el *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.*

Lo que firmo en Murcia, a 24 de noviembre de 2020

Fdo:

COMUNIDAD AUTÓNOMA DE LA REGIÓN DE MURCIA CONSEJERÍA DE SANIDAD Y CONSUMO Servicio Murciano de Salud Hospital Virgen de la Arrixaca UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca

141

9.2. Anexo II: Hoja de información para pacientes y consentimiento informado

HOJA DE INFORMACIÓN PARA PARTICIPANTES EN ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN CON MUESTRAS

Titulo del estudio: ESTUDIO DE EXPRESIÓN DE ACE2 Y TMPRSS2 EN EL EPITELIO NASAL Y FARÍNGEO DE PACIENTES TRATADOS DE COVID-19
Investigador Principal, servicio/unidad y centro: Díaz Manzano, José Antonio y Hellín Meseguer, Diego.
Promotor/financiador (si aplica): Área de Otorrinolaringología del departamento de Otorrinolaringología, Oftalmología y Optometría y Anatomía Patológica de la Universidad de Murcia.
Nº de versión y fecha: 1.0. Septiembre 2020.

INTRODUCCIÓN

Considerando la enfermedad o proceso que padeció, nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. Nuestra intención es que reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Antes de decidir si quiere participar o no, le rogamos lea detenidamente este documento que incluye la información sobre este proyecto. Puede formular todas las preguntas que le surjan y solicitar cualquier aclaración sobre cualquier aspecto del mismo. Nosotros le aclararemos las dudas que puedan surgir en cualquier momento. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

El proyecto cuenta con el informe favorable de un Comité de Ética de la Investigación acreditado en España.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

PROPÓSITO Y PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO:

El propósito de este estudio consiste en estudiar la expresión de dos receptores (ACE2 y TMPRSS2) mediante una muestra del exudado nasofaríngeo y orofaríngeo y analizar la relación que tiene con respecto a la expresión de la enfermedad de COVID-19.
El paciente solo tendrá que acudir en una ocasión para extraer la muestra.

PROCEDIMIENTOS DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS, MOLESTIAS Y POSIBLES RIESGOS:

Algunas de las muestras se obtienen durante el seguimiento habitual de su enfermedad o proceso; otras son solicitadas porque son necesarias para cumplir con los objetivos de este estudio.
La extracción de la muestra se obtiene de forma similar a la que se obtuvo con la PCR.

Para la toma de muestra del exudado nasofaríngeo se introducirá un hisopo fino y flexible por una narina y luego por la otra. El hisopo debe mantenerse unos segundos y luego se retirará lentamente girándolo.
El exudado orofaríngeo se recogerá mediante un hisopo grueso y rígido, frotándolo contra la pared posterior de la orofaringe.

A continuación, le explicamos cuáles son los riesgos asociados a los procedimientos utilizados para su obtención:

- Leves molestias en la zona de obtención de la muestra.
- Pequeño sangrado nasofaríngeo y/u orofaríngeo

Las muestras y los datos asociados se mantendrán bajo las condiciones de seguridad adecuadas y se garantiza que los sujetos no podrán ser identificados a través de medios considerados razonables por personas distintas a las autorizadas.

Es posible que sea necesario algún dato o muestras adicionales. En ese caso, su médico se pondrá en contacto con usted para solicitarle de nuevo su colaboración. Se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento (ver opción sí/no al final de la hoja).

BENEFICIOS ESPERADOS:

No se espera un beneficio directo por su participación en el estudio. No obstante, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de sus muestras y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas. No percibirá ningún beneficio económico por la donación de las muestras y la cesión de los datos proporcionados, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación efectuada.

LUGAR DE ANÁLISIS Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS:

Durante el desarrollo del estudio sus muestras pueden ser analizadas en diversos laboratorios y se mantendrán almacenadas durante 5 años, en previsión de que fuera necesario repetir algún análisis adicional relacionado con los objetivos del estudio. Durante este proceso el responsable de las muestras será el investigador/promotor del proyecto.

En caso de conservación para usos futuros de las muestras, se mantendrán almacenadas en el biobanco del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria durante 10 años.

INFORMACIÓN SOBRE EL DESTINO DE LAS MUESTRAS Y USO FUTURO

Una vez finalizado el estudio, las muestras sobrantes serán destruidas, a no ser que usted consienta para que puedan ser almacenadas y utilizadas en futuras investigaciones. La finalidad del almacenamiento de estas muestras es que sean utilizadas en proyectos de investigación en el futuro.

Destino de la muestra al término de la investigación:

1. **<u>Opción (A) de biobanco registrado en España:</u>**
   Las muestras se almacenarán en el Biobanco del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB) situado en un edificio anexo al Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca en el Palmar (Murcia). Desde allí se cederán para proyectos autorizados, posiblemente también en el extranjero, previo dictamen favorable del comité científico y del comité de Ética del Biobanco. Usted podrá dirigirse al biobanco para obtener información de los proyectos en los que se hayan utilizado sus muestras. Deberá firmar el consentimiento general de donación del correspondiente Biobanco.

Los datos que se deriven de la utilización de estas muestras en futuras investigaciones se tratarán del mismo modo que el resto de datos que se obtengan durante este estudio (ver apartado de confidencialidad).

DERECHO DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Si cambiara de opinión en relación con la donación de las muestras biológicas y la cesión de los datos proporcionados, tiene derecho a solicitar su destrucción o anonimización, a través de su médico/investigador/investigador principal de la colección/ biobanco. No obstante, debe saber que los datos que se hayan obtenido en los análisis realizados hasta ese momento podrán ser utilizados para los fines solicitados y podrán conservarse en cumplimiento de las obligaciones legales correspondientes.

CONFIDENCIALIDAD/PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES:

Sus muestras estarán asociadas a un código (codificadas) y anonimizadas. Sus datos clínicos estarán asociadas a un código (codificadas) y anonimizadas. Se entiende por "anonimización" al proceso por el cual no es posible establecer relación entre un dato o muestra y el sujeto al que se refiere. Sólo personal autorizado (médicos, enfermeros o biólogos del grupo de investigación del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca incluidos como investigadores de este estudio) podrá relacionar la información derivada de los análisis realizados con información sobre su identidad.

A este estudio les son plenamente de aplicación la Ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre, de Protección de datos de carácter Personal y garantía de los derechos digitales y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD). Por ello, es importante que conozca la siguiente información:

- Sus datos personales serán tratados con la finalidad indicada en el documento objeto de firma y serán conservados durante los años necesarios para cumplir con la normativa vigente aplicable.

- El Responsable del Tratamiento es el Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca" (Área I de Salud-Murcia/Oeste), cuyo **Delegada de Protección de Datos** (DPD) es Doña **Elena García Quiñones** con dirección en Servicio Murciano de Salud, C./ Central nº 7, Edificio Habitamia I, 30100, Espinardo-Murcia (correo electrónico: **dpd-sms@carm.es**).

- La base jurídica que legitima el tratamiento es su consentimiento

- Normativa aplicable: *Reglamento (UE) n 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014 , sobre los ensayos clínicos de medicamentos de uso humano, y por el que se deroga la Directiva 2001/20/CE; Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y Garantía de los Derechos Digitales, Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios; Ley 44/ Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias, así como la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, de autonomía del paciente, y demás legislación vigente en materia sanitaria.*

- Sus datos no serán cedidos, salvo en los casos obligados por Ley o en casos de urgencia médica. No obstante, en todo momento podrá revocar el consentimiento prestado, así como ejercer sus derechos de **acceso, rectificación, supresión, oposición, limitación del tratamiento y portabilidad,** en la medida que sean aplicables, a través de comunicación escrita al Responsable del

Tratamiento de la siguiente manera **concretando su solicitud, junto con su DNI o documento equivalente:**

- **Investigador Principal del estudio:** Ana María Piqueras Sánchez.
- **Domicilio:** Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca", Ctra. Murcia-Cartagena s/n, CP 30120, El Palmar-Murcia,

- Asimismo, le informamos de la posibilidad de presentar una reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos (C/Jorge Juan, 6 Madrid 28001) www.aqpd.es

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, Autoridades Sanitarias en materia de inspección, al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

A partir de dichos datos se podrán elaborar comunicaciones científicas para ser presentadas a congresos o revistas científicas siempre manteniendo en todo momento la confidencialidad de sus datos de carácter personal.

Se le informa que de conformidad a lo previsto en la Disposición adicional decimoséptima de la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y garantía de los derechos digitales, así como del artículo 89 del Reglamento (UE) 2016/679, en el caso que con sus datos se lleve a cabo un tratamiento con fines de investigación en salud pública y, en particular, biomédica se procederá a:

- Realizar una evaluación de impacto que determine los riesgos derivados del tratamiento en los supuestos previstos en el artículo 35 del Reglamento (UE) 2016/679 o en los establecidos por la autoridad de control. Esta evaluación incluirá de modo específico los riesgos de reidentificación vinculados a la anonimización o seudonimización de los datos.

- Someter la investigación científica a las normas de calidad y, en su caso, a las directrices internacionales sobre buena práctica clínica.

- Adoptar, en su caso, medidas dirigidas a garantizar que los investigadores no acceden a datos de identificación de los interesados. En el supuesto de que no pueda garantizarse esta separación entre los datos y el investigador, se le garantiza un compromiso expreso de confidencialidad por parte del investigador así como de no realizar ninguna actividad de reidentificación. Se adoptarán medidas de seguridad específicas para evitar la reidentificación y el acceso de terceros no autorizados.

IMPLICACIONES DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA AL ANALIZAR LAS MUESTRAS

En el caso de que usted lo solicite, se le podrá facilitar información acerca de los estudios de investigación en los que se hayan utilizado sus muestras, así como de los resultados generales del presente estudio.

En el caso de que en este estudio se obtengan datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted, e interesar a su salud o a la de su familia, podrá solicitar que le sean comunicados por su médico

del ensayo si así lo indica en la casilla que aparece al final de este documento. No obstante, si el paciente hubiera indicado su negativa y cuando esta información, según criterio del médico responsable, sea necesaria para evitar un grave perjuicio para su salud o la de sus familiares biológicos, se informará a un familiar próximo o a un representante, previa consulta al Comité de Ética Asistencial del centro. La comunicación de esta información se llevará a cabo por profesionales que le podrán explicar adecuadamente su relevancia y las opciones que se pudieran plantear. En caso de información genética clínicamente relevante podrá recibir el preceptivo consejo genético.

En el caso de donante menor de edad, llegada la mayoría de edad tendrá derecho a recibir esta información y a la revocación del consentimiento. En caso de que no lo ejerza, se considerará que el actual documento sigue vigente.

Hable con su médico sobre la posibilidad de que pueda establecer restricciones para que su muestra biológica no sea utilizada en determinadas investigaciones

INVESTIGACIONES FUTURAS

Autorizo la posible reutilización de datos personales con fines de investigación en materia de salud y biomédica para finalidades o áreas de investigación relacionadas con este estudio.

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: ESTUDIO DE EXPRESIÓN DE ACE2 Y TMPRSS2 EN EL EPITELIO NASAL Y FARÍNGEO DE PACIENTES TRATADOS DE COVID-19
Investigador Principal, servicio/unidad y centro: Área de Otorrinolaringología del departamento de Otorrinolaringología, Oftalmología y Optometría y Anatomía Patológica de la Universidad de Murcia.
Promotor/financiador (si aplica): Díaz Manzano, José Antonio y Hellín Meseguer, Diego.

Datos del participante/paciente
Nombre

_____

Investigador o persona que proporciona la información
Nombre

_____

1. He leído, he sido informado y comprendo el contenido de la presente hoja de Información, lo que acredito con mi firma en prueba de mi consentimiento en todo lo que en ella se contiene.

2. Entiendo que mi participación es voluntaria y gratuita y comprendo que puedo solicitar la revocación de este consentimiento en cualquier momento, sin tener que ofrecer explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos presentes y/o futuros.

2. Deseo que el médico del estudio me comunique la información derivada de la investigación no genética, que pueda ser relevante y aplicable para mi salud o la de mis familiares:

   · SI · NO Teléfono o e-mail de contacto.....

3. Consiento al almacenamiento y uso de las muestras biológicas y de los datos asociados para futuras investigaciones en las condiciones explicadas en esta hoja de información.

   · SI · NO

4. Consiento a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales.

   · SI · NO Teléfono o e-mail de contacto.....

Fecha: Firma del Participante/paciente

Fecha: Firma del Investigador o persona que proporciona la información

REVOCACION DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña..... revoco el consentimiento prestado en fecha y no deseo continuar participando en el estudio "xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx".

Firma del paciente:

Firma del investigador: Fecha: Fecha

9.3. Anexo III: Procesamiento y análisis de la muestra nasal y faríngea de los pacientes analizados.

1. Extracción del RNA total

Tras su recepción en el laboratorio, el hisopo se agitó en la solución para preservar el ARN (tipo RNA later) y se centrifugó a 2500g x 5 min en centrífuga Beckman Allegra X-12R. El precipitado conteniendo las células se sometió a extracción de ARN mediante el KIT InviTrap© Spin Universal RNA Mini Kit (Stratec molecular; REF 1060100200) según el protocolo recomendado por el fabricante. El ARN obtenido se guardó a -80ºC hasta su uso.

2. Retrotranscripción

Para el análisis de expresión génica en los epitelios nasales se procedió a la realización de RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa). La retrotranscripción (RT) se emplea para producir una cadena de ADN (ADNc; ADN complementario) a partir de una hebra de ARN. Para tal fin, se empleó el Kit GeneAmp RNA PCR Core Kit de Applied Biosystem (Roche; N808-0143) según las especificaciones del fabricante, pero introduciendo ligeras modificaciones con el fin de aumentar la cantidad de ARN (molde de la RT) sin que las concentraciones finales de los componentes de la reacción se modificaran.

En la reacción de la RT, se emplean varias etapas para primero desnaturalizar las cadenas de ARN mediante su calentamiento a 80ºC durante 10 min y posterior enfriamiento rápido por inmersión de los tubos en hielo. De esta forma, se impida la formación de estructuras secundarias que dificulten la unión de los oligos (también denominados primers

o cebadores). El paso siguiente es la propia reacción de la RT para la síntesis del ADNc. En la composición de la reacción se eligieron los hexámeros aleatorios como oligos en detrimento de los oligos específicos de secuencia (en la RT sólo se sintetiza ADNc de un gen) o de los oligos "dT" que únicamente sintetizan ADNc a partir de moléculas de ARN maduro (con cola de poliA). Para ensayos expresión génica por PCR cuantitativa relativa como el usado en este trabajo, los oligos hexámeros aleatorios o los de tipo "dT" son los necesarios para amplificar los estándares internos.

La mezcla de reacción empleada es la que se muestra en la Tabla 9.

Tabla 38. Tipos de reactivos empleados para la medición de las muestras.

Orden	Reactivo	Volumen (µl)	Concentración final
1	10x PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-Cl, pH 8.3)	2	1x
2	Solución MgCl2 25 mM	4	5 mM
3	dNTPs 25 mM	0.8	1 mM
4	Random Hexamers 50 µM	1	2,5 µM
5	Inhibidor de Ribonucleasas 20 U/µl	1	1 U/µl
6	Transcriptasa Reversa MuLV 50 U/µl	1	2,5 U/µl

Las etapas de la RT que se programaron en el termociclador (2720 Thermal Cycler de Applied Biosystems) fueron:

- 25ºC durante 10 min. Etapa para permitir la fijación de los oligos al ARN.
- 42ºC durante 15 min. Etapa para la síntesis de las hebras de ADNc.
- 99ºC durante 5 min. Etapa para la inactivación de la enzima y la separación de las cadenas de ARN y ADNc.

Tras la última fase de la RT, los tubos se enfrían en hielo y posteriormente se guardan a -20ºC hasta su uso.

3. Amplificación

La amplificación (PCR) de las moléculas de ADNc se realizó en el equipo LightCycler 2.0 (Roche), en capilares de vidrio de 20 µl de capacidad. La mezcla de reacción consistió en: (1) ADNc; (2) oligos específicos de cada gen; (3) reactivo SYBR Green premix Ex Taq (Takara) y (4) agua. Las secuencias de los oligos para el gen *ACE2* (Forward: 5´GGGATCAGAGATCGGAAGAAGAAA3´; Reverse: 5´CACTGATGATGTTCAGACCTCCT3´; 124 pb), *TMPRSS2* (Forward: 5´ACTCTGGAAGTTCATGGGCAG3´; Reverse: 5´TGAAGTTTGGTCCGTAGAGGC3´; 158 pb), *FURINA* (Forward: 5´GCCAGATCTTCGGGGACTAT3´; Reverse: 5´TGCTGTTCCAGCCACTGTA3´; 125 pb) y *NRP1* (Forward: 5´GAATGTGATGACGACCAGGC3´; Reverse: 5´TGTCTATGACCGTGGGCTTT3´; 106 pb) fueron obtenidas mediante el programa de acceso libre primer 3 (https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/) a partir de la secuencias de ARN publicadas en la NIH (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Se incluyeron controles negativos sustituyendo los componentes (ADNc, cebadores o Taq polimerasa) por agua.

Las etapas programadas para la PCR fueron:

- 95ºC durante 30 segundos para separar las dobles de ADN y la activación de la enzima polimerasa.
- Amplificación, 40 ciclos de las etapas:

- 95ºC, 5 segundos para desnaturalización del ADN bicatenario.
- 55ºC-60ºC durante 10 segundos para la hibridación de los cebadores o "annealing". Los oligos se unen a las secuencias específicas del gen a amplificar.
- 72ºC, 10-12 segundos de extensión de los cebadores por la Taq polimerasa

- Gradiente de temperatura (0,1ºC/seg) para cálculo de la temperatura de melting (Tm, o de fusión del producto de la PCR). La Tm es específica de los fragmentos amplificados y nos informa si se ha producido un único producto de PCR. La confirmación de que la PCR ha amplificado correctamente el gen de interés se realiza por electroforesis de agarosa y/o secuenciación de los productos de PCR.

4. Análisis

La expresión de los receptores *ACE2*, *TMPRSS2*, *FURINA* y *NRP1* se calculó respecto a la expresión del gen GADPH (RT-PCR cuantitativa relativa) mediante el programa informático de análisis del equipo LightCycler por el método de "fit points".

Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS v.24 (SPSS Inc, Chicago, IL), y se estableció la significación estadística en el 5%.

5. Destino final del material biológico

Una vez finalizado el estudio, las muestras fueron enviadas y almacenadas en el Biobanco del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB) (visualizar Anexo IV para consultar información).

9.4. Anexo IV: Informe de viabilidad de biobanco

Biobanco registrado en España:

Las muestras se almacenaron en el Biobanco del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB) situado en un edificio anexo al Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca en el Palmar (Murcia). Desde allí se cedieron para proyectos autorizados, posiblemente también en el extranjero, previo dictamen favorable del comité científico y del comité de Ética del Biobanco (adjuntado a continuación). Los pacientes firmaron el consentimiento general de donación del correspondiente Biobanco.

Los datos que se deriven de la utilización de estas muestras en futuras investigaciones se tratarán del mismo modo que el resto de los datos que se obtengan durante este estudio.

BIOBANC-MUR Biobanco en Red de la Región de Murcia	**INFORME DE DISPONIBILIDAD DE MUESTRAS Y/O DE VIABILIDAD DE CREACIÓN DE NUEVA COLECCIÓN EN EL ÁMBITO DE BIOBANCO** PR02.06/vs01	**FECHA DE APROBACIÓN:** 10/05/2018

Doña. Teresa Escámez Martinez, Coordinadora del Biobanco en Red de la Región de Murcia, BIOBANC-MUR,

Teniendo conocimiento de la necesidad de muestras biológicas para la realización del proyecto de investigación "**Estudio de expresión de ACE2 y TMPRSS2 en el epitelio nasal y faríngeo de pacientes tratados de COVID-19**" comunicada por su Investigador Principal **José Díaz Manzano.**

INFORMA que (señálese lo que proceda),

☐ En el biobanco existe disponibilidad de muestras que cumplen los requisitos especificados en el proyecto para su realización*.

☒ Es viable la recogida, procesamiento, almacenamiento y gestión de las muestras necesarias para el proyecto, por el Nodo 1 de BIOBANC-MUR**.

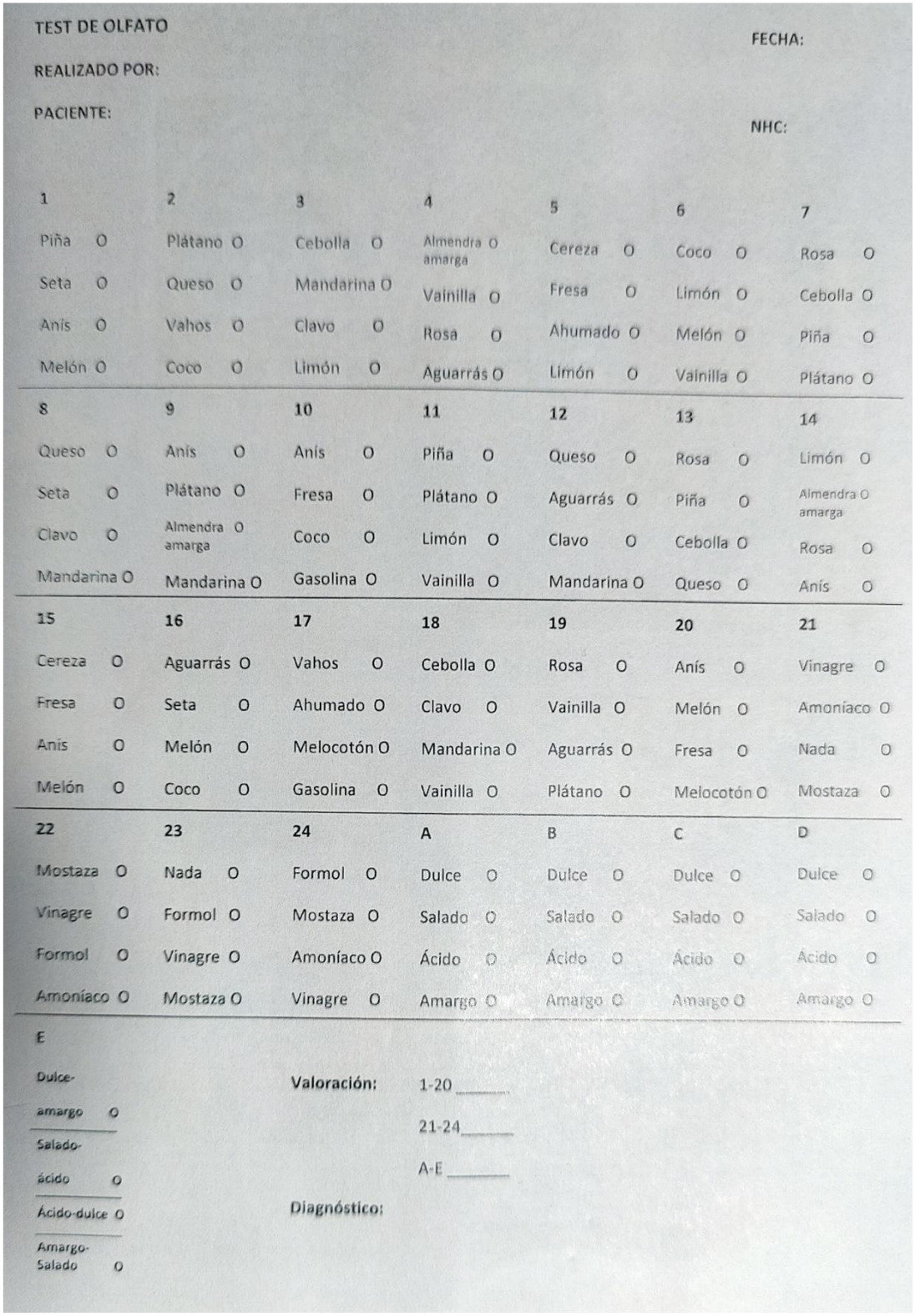
Para conocimiento del CEIC del HCUVA, en Murcia, a 24 de septiembre de 2020

Fdo.: Dra. Teresa Escámez Martínez
Coordinadora Científica de BIOBANC-MUR

**La cesión definitiva de las muestras dependerá exclusivamente de la aprobación de la solicitud formal del investigador por parte del Comité Ético y Comité científico del Biobanco en Red de la Región de Murcia.*

***Se pactaran las condiciones definitivas con el IP y se iniciará la recogida y gestión de muestras una vez aprobado el proyecto por el CEIC.*

9.5. Anexo V: Test BAST-24



TEST DE OLFATO

FECHA:

REALIZADO POR:

PACIENTE:

NHC:

1	2	3	4	5	6	7
Piña O	Plátano O	Cebolla O	Almendra amarga O	Cereza O	Coco O	Rosa O
Seta O	Queso O	Mandarina O	Vainilla O	Fresa O	Limón O	Cebolla O
Anís O	Vahos O	Clavo O	Rosa O	Ahumado O	Melón O	Piña O
Melón O	Coco O	Limón O	Aguarrás O	Limón O	Vainilla O	Plátano O
8	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
Queso O	Anís O	Anís O	Piña O	Queso O	Rosa O	Limón O
Seta O	Plátano O	Fresa O	Plátano O	Aguarrás O	Piña O	Almendra amarga O
Clavo O	Almendra amarga O	Coco O	Limón O	Clavo O	Cebolla O	Rosa O
Mandarina O	Mandarina O	Gasolina O	Vainilla O	Mandarina O	Queso O	Anís O
15	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**
Cereza O	Aguarrás O	Vahos O	Cebolla O	Rosa O	Anís O	Vinagre O
Fresa O	Seta O	Ahumado O	Clavo O	Vainilla O	Melón O	Amoníaco O
Anís O	Melón O	Melocotón O	Mandarina O	Aguarrás O	Fresa O	Nada O
Melón O	Coco O	Gasolina O	Vainilla O	Plátano O	Melocotón O	Mostaza O
22	**23**	**24**	**A**	**B**	**C**	**D**
Mostaza O	Nada O	Formol O	Dulce O	Dulce O	Dulce O	Dulce O
Vinagre O	Formol O	Mostaza O	Salado O	Salado O	Salado O	Salado O
Formol O	Vinagre O	Amoníaco O	Ácido O	Ácido O	Ácido O	Ácido O
Amoníaco O	Mostaza O	Vinagre O	Amargo O	Amargo O	Amargo O	Amargo O

E

Dulce-amargo O

Salado-ácido O

Ácido-dulce O

Amargo-Salado O

Valoración:

1-20 _____

21-24 _____

A-E _____

Diagnóstico:

9.6. Anexo VI: Tablas de resultados con base de datos completa e imputada.

Tabla 9. Datos descriptivos de los pacientes de estudio.

Variables		Base de datos con datos perdidos	Base de datos imputada
Edad	Mediana (RI)	58.5 (16.2)	58.5 (16.2)
Sexo	Hombre (%)	69 (66.3)	69 (66.3)
	Mujer (%)	35 (33.7)	35 (33.7)
Raza	Caucásico (%)	85 (81.7)	85 (81.7)
	Latino (%)	19 (18.3)	19 (18.3)
Furina (unidades)	Mediana (RI)	212.3 (105.1)	213.0 (103.8)
ACE2 (unidades)	Mediana (RI)	2098.3 (1271.3)	2098.3 (1311.7)
NRP1 (unidades)	Mediana (RI)	1904.3 (1627.6)	1897.7 (1599.8)
TMPRSS2 (unidades)	Mediana (RI)	113.0 (54.4)	113.0 (54.0)
Gravedad COVID-19 (estatus) †	Sin ingreso (%)	40 (38.5)	40 (38.5)
	Ingreso con oxígeno (%)	21 (20.2)	21 (20.2)
	Ventilación no invasiva (%)	32 (30.8)	32 (30.8)
	Ventilación invasiva (%)	11 (10.6)	11 (10.6)
Gravedad COVID-19 (ventilación) †	No ventilación (%)	61 (58.7)	61 (58.7)
	Ventilación (%)	43 (41.3)	43 (41.3)
Gravedad COVID-19 (ventilación invasiva) †	No ventilación invasiva (%)	93 (89.4)	93 (89.4)
	Ventilación invasiva (%)	11 (10.6)	11 (10.6)
Gravedad COVID-19 (ingreso) †	Ingreso (%)	64 (61.5)	64 (61.5)
	No ingreso (%)	40 (38.5)	40 (38.5)
Disgeusia	No (%)	66 (63.5)	66 (63.5)
	Sí (%)	38 (36.5)	38 (36.5)
Disfunción olfatoria	No (%)	63 (61.8)	65 (62.5)
	Sí (%)	39 (38.2)	39 (37.5)

† Según la Escala de Gravedad de la Organización Mundial de la Salud (167). ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; COVID-19, *Coronavirus Disease* 2019; NRP1, *neuropilin*-1; *p*, significancia estadística; RI, rango intercuartílico; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

Tabla 10. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y gravedad del COVID según la Escala de la Organización Mundial de la Salud en pacientes.

	Base de datos con datos perdidos			Base de datos imputada		
	Gravedad COVID-19 ‡			Gravedad COVID-19 ‡		
Predictor	OR	95% CI	*p*	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado						
Furina (por 100 unidades)	1.32	0.89 a 1.97	0.169	1.34	0.90 a 2.00	0.152
Modelo ajustado†						
Furina (por 100 unidades)	1.35	0.87 a 2.10	0.183	1.38	0.88 a 2.17	0.157
Modelo no ajustado						
ACE2 (por 100 unidades)	1.02	0.98 a 1.06	0.321	1.02	0.98 a 1.06	0.401
Modelo ajustado†						
ACE2 (por 100 unidades)	1.01	0.97 a 1.05	0.729	1.00	0.96 a 1.05	0.890
Modelo no ajustado						
NRP1 (por 100 unidades)	1.00	0.98 a 1.02	0.867	1.00	0.98 a 1.02	0.798
Modelo ajustado†						
NRP1 (por 100 unidades)	1.00	0.98 a 1.02	0.851	1.00	0.98 a 1.02	0.788
Modelo no ajustado						
TMPRSS2 (por 100 unidades)	0.85	0.53 a 1.34	0.474	0.86	0.55 a 1.36	0.517
Modelo ajustado†						
TMPRSS2 (por 100 unidades)	0.92	0.56 a 1.50	0.739	0.93	0.57 a 1.51	0.764

† Ajustado por edad, sexo y raza. ‡ Según la Escala de gravedad de la Organización Mundial de la Salud ("no ventilación" frente a "ventilación") (167). ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; COVID-19, *Coronavirus Disease* 2019; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

Tabla 11. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y gravedad del COVID según la Escala de la Organización Mundial de la Salud en pacientes.

	Base de datos con datos perdidos			Base de datos imputada		
	Gravedad COVID-19 ‡			Gravedad COVID-19 ‡		
Predictor	OR	95% CI	*p*	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado						
Nivel bajo furina	Ref.			Ref.		
Nivel medio furina	2.72	0.99 a 7.49	0.053	2.68	1.00 a 7.21	0.051
Nivel alto furina	1.80	0.66 a 4.88	0.248	1.77	0.67 a 4.69	0.249
Modelo ajustado†						
Nivel bajo furina	Ref.			Ref.		
Nivel medio furina	1.76	0.56 a 5.56	0.338	1.70	0.55 a 5.25	0.356
Nivel alto furina	1.95	0.65 a 5.83	0.230	1.90	0.65 a 5.54	0.237
Modelo no ajustado						
Nivel bajo ACE2	Ref.			Ref.		
Nivel medio ACE2	0.52	0.19 a 1.45	0.212	0.58	0.21 a 1.58	0.285
Nivel alto ACE2	0.75	0.52 a 3.44	0.552	1.33	0.52 a 3.40	0.547
Modelo ajustado†						
Nivel bajo ACE2	Ref.			Ref.		
Nivel medio ACE2	0.10	0.02 a 0.41	0.002	0.17	0.05 a 0.61	0.007
Nivel alto ACE2	0.68	0.20 a 2.18	0.512	0.78	0.26 a 2.32	0.652
Modelo no ajustado						
Nivel bajo NRP1	Ref.			Ref.		
Nivel medio NRP1	0.51	0.19 a 1.39	0.190	0.46	0.17 a 1.22	0.120
Nivel alto NRP1	0.79	0.29 a 2.11	0.632	0.79	0.30 a 2.08	0.632
Modelo ajustado†						
Nivel bajo NRP1	Ref.			Ref.		
Nivel medio NRP1	0.31	0.10 a 0.99	0.047	0.29	0.10 a 0.88	0.030
Nivel alto NRP1	0.56	0.18 a 1.70	0.305	0.58	0.20 a 1.72	0.331
Modelo no ajustado						
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.			Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1.05	0.40 a 2.78	0.918	1.05	0.40 a 2.74	0.921
Nivel alto TMPRSS2	1.07	0.41 a 2.79	0.888	1.13	0.43 a 2.92	0.808
Modelo ajustado†						
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.			Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1.13	0.40 a 3.20	0.824	1.17	0.41 a 3.30	0.771
Nivel alto TMPRSS2	0.98	0.34 a 2.84	0.977	1.02	0.35 a 2.93	0.977

† Ajustado por edad, sexo y raza. ‡ Según la Escala de gravedad de la Organización Mundial de la Salud ("no ventilación" frente a "ventilación")(167). ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; COVID-19, *Coronavirus Disease* 2019; NRP1, *neuropilin*-1; OMS, Organización Mundial de la Salud; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

Tabla 12. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y disfunción olfatoria en pacientes.

	Base de datos con datos perdidos			Base de datos imputada		
	Disfunción olfatoria ‡			Disfunción olfatoria ‡		
Predictor	OR	95% CI	*p*	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado						
Furina (por 100 unidades)	1.04	0.71 a 1.52	0.835	1.04	0.72 a 1.51	0.827
Modelo ajustado†						
Furina (por 100 unidades)	1.05	0.67 a 1.66	0.822	1.05	0.68 a 1.63	0.821
Modelo no ajustado						
ACE2 (por 100 unidades)	1.00	0.96 a 1.04	0.853	1.01	0.97 a 1.05	0.664
Modelo ajustado†						
ACE2 (por 100 unidades)	1.02	0.97 a 1.06	0.446	1.02	0.98 a 1.07	0.320
Modelo no ajustado						
NRP1 (por 100 unidades)	1.00	0.98 a 1.02	0.941	1.00	0.98 a 1.02	0.789
Modelo ajustado†						
NRP1 (por 100 unidades)	1.00	0.98 a 1.02	0.861	1.00	0.98 a 1.03	0.772
Modelo no ajustado						
TMPRSS2 (por 100 unidades)	1.04	0.68 a 1.60	0.852	1.04	0.68 a 1.59	0.863
Modelo ajustado†						
TMPRSS2 (por 100 unidades)	0.80	0.48 a 1.32	0.378	0.78	0.47 a 1.29	0.338

† Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

Tabla 13. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y disfunción olfatoria en pacientes.

	Base de datos con datos perdidos			Base de datos imputada		
	Disfunción olfatoria			Disfunción olfatoria		
Predictor	OR	95% CI	*p*	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado						
Nivel bajo furina	Ref.			Ref.		
Nivel medio furina	1.38	0.49 a 3.87	0.541	1.42	0.52 a 3.87	0.496
Nivel alto furina	2.04	0.75 a 5.58	0.162	1.99	0.75 a 5.25	0.164
Modelo ajustado†						
Nivel bajo furina	Ref.			Ref.		
Nivel medio furina	3.35	0.82 a 13.64	0.091	3.16	0.83 a 12.00	0.092
Nivel alto furina	2.36	0.68 a 8.17	0.176	2.30	0.71 a 7.44	0.166
Modelo no ajustado						
Nivel bajo ACE2	Ref.			Ref.		
Nivel medio ACE2	1.20	0.44 a 3.25	0.724	1.25	0.46 a 3.35	0.663
Nivel alto ACE2	0.95	0.35 a 2.59	0.927	0.82	0.31 a 2.16	0.687
Modelo ajustado†						
Nivel bajo ACE2	Ref.			Ref.		
Nivel medio ACE2	2.86	0.80 a 10.26	0.107	2.62	0.76 a 9.09	0.128
Nivel alto ACE2	1.51	0.44 a 5.12	0.513	1.88	0.58 a 6.15	0.296
Modelo no ajustado						
Nivel bajo NRP1	Ref.			Ref.		
Nivel medio NRP1	0.54	0.19 a 1.53	0.249	0.46	0.17 a 1.26	0.130
Nivel alto NRP1	0.53	0.20 a 1.44	0.942	1.02	0.38 a 2.68	0.976
Modelo ajustado†						
Nivel bajo NRP1	Ref.			Ref.		
Nivel medio NRP1	0.49	0.14 a 1.68	0.254	0.38	0.12 a 1.27	0.116
Nivel alto NRP1	1.03	0.32 a 3.29	0.965	1.00	0.33 a 3.05	0.997
Modelo no ajustado						
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.			Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1.36	0.51 a 3.63	0.543	1.33	0.51 a 3.46	0.555
Nivel alto TMPRSS2	0.53	0.19 a 1.50	0.232	0.52	0.19 a 1.44	0.207
Modelo ajustado†						
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.			Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1.37	0.45 a 4.19	0.583	1.24	0.41 a 3.72	0.702
Nivel alto TMPRSS2	0.44	0.13 a 1.52	0.194	0.41	0.12 a 1.42	0.158

† Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

Tabla 14. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el número de receptores y disgeusia en pacientes.

	Base de datos con datos perdidos			Base de datos imputada		
	Disgeusia			Disgeusia		
Predictor	OR	95% CI	*p*	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado						
Furina (por 100 unidades)	1.19	0.82 a 1.73	0.371	1.20	0.83 a 1.75	0.339
Modelo ajustado†						
Furina (por 100 unidades)	1.22	0.81 a 1.84	0.337	1.23	0.82 a 1.83	0.319
Modelo no ajustado						
ACE2 (por 100 unidades)	1.02	0.98 a 1.06	0.335	1.02	0.98 a 1.06	0.263
Modelo ajustado†						
ACE2 (por 100 unidades)	1.03	0.99 a 1.08	0.159	1.04	0.99 a 1.08	0.115
Modelo no ajustado						
NRP1 (por 100 unidades)	1.01	0.99 a 1.03	0.262	1.01	0.99 a 1.03	0.210
Modelo ajustado†						
NRP1 (por 100 unidades)	1.01	0.99 a 1.04	0.215	1.01	0.99 a 1.04	0.195
Modelo no ajustado						
TMPRSS2 (por 100 unidades)	1.34	0.87 a 2.07	0.186	1.30	0.85 a 2.00	0.228
Modelo ajustado†						
TMPRSS2 (por 100 unidades)	1.20	0.75 a 1.92	0.440	1.17	0.74 a 1.86	0.506

† Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; *B*, coeficiente beta no estandarizado; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

Tabla 15. Análisis de regresión logística binaria evaluando la asociación entre el estatus del número de receptores y disgeusia en pacientes.

	Base de datos con datos perdidos			Base de datos imputada		
	Disgeusia			Disgeusia		
Predictor	OR	95% CI	*p*	OR	95% CI	*p*
Modelo no ajustado						
Nivel bajo furina	Ref.			Ref.		
Nivel medio furina	1.45	0.51 a 4.18	0.487	1.41	0.50 a 3.97	0.510
Nivel alto furina	2.62	0.95 a 7.21	0.062	2.55	0.95 a 6.82	0.062
Modelo ajustado†						
Nivel bajo furina	Ref.			Ref.		
Nivel medio furina	2.72	0.71 a 10.47	0.144	2.56	0.70 a 9.30	0.153
Nivel alto furina	2.89	0.88 a 9.45	0.080	2.83	0.91 a 8.78	0.072
Modelo no ajustado						
Nivel bajo ACE2	Ref.			Ref.		
Nivel medio ACE2	1.31	0.48 a 3.60	0.602	1.25	0.46 a 3.42	0.668
Nivel alto ACE2	1.35	0.50 a 3.65	0.553	1.56	0.59 a 4.13	0.372
Modelo ajustado†						
Nivel bajo ACE2	Ref.			Ref.		
Nivel medio ACE2	2.56	0.76 a 8.62	0.128	2.32	0.70 a 7.69	0.169
Nivel alto ACE2	1.92	0.60 a 6.21	0.274	2.29	0.73 a 7.21	0.156
Modelo no ajustado						
Nivel bajo NRP1	Ref.			Ref.		
Nivel medio NRP1	0.49	0.17 a 1.43	0.190	0.39	0.14 a 1.12	0.081
Nivel alto NRP1	1.49	0.55 a 4.03	0.432	1.46	0.55 a 3.87	0.445
Modelo ajustado†						
Nivel bajo NRP1	Ref.			Ref.		
Nivel medio NRP1	0.39	0.11 a 1.38	0.144	0.30	0.09 a 1.04	0.058
Nivel alto NRP1	1.66	0.53 a 5.15	0.381	1.52	0.51 a 4.55	0.451
Modelo no ajustado						
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.			Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1.53	0.57 a 4.08	0.398	1.50	0.58 a 3.93	0.405
Nivel alto TMPRSS2	0.63	0.22 a 1.79	0.390	0.59	0.21 a 1.63	0.306
Modelo ajustado†						
Nivel bajo TMPRSS2	Ref.			Ref.		
Nivel medio TMPRSS2	1.61	0.55 a 4.73	0.388	1.47	0.51 a 4.23	0.479
Nivel alto TMPRSS2	0.60	0.18 a 1.98	0.406	0.55	0.17 a 1.79	0.321

† Ajustado por edad, sexo y raza. ACE2, *angiotensin-converting enzyme* 2; CI, intervalo de confianza; NRP1, *neuropilin*-1; OR, *odds ratio*; *p*, significancia estadística; Ref., referencia; TMPRSS2, *transmembrane serine protease* 2.

9.7. Anexo VII: Figuras de resultados sin usar técnicas de imputación múltiple.

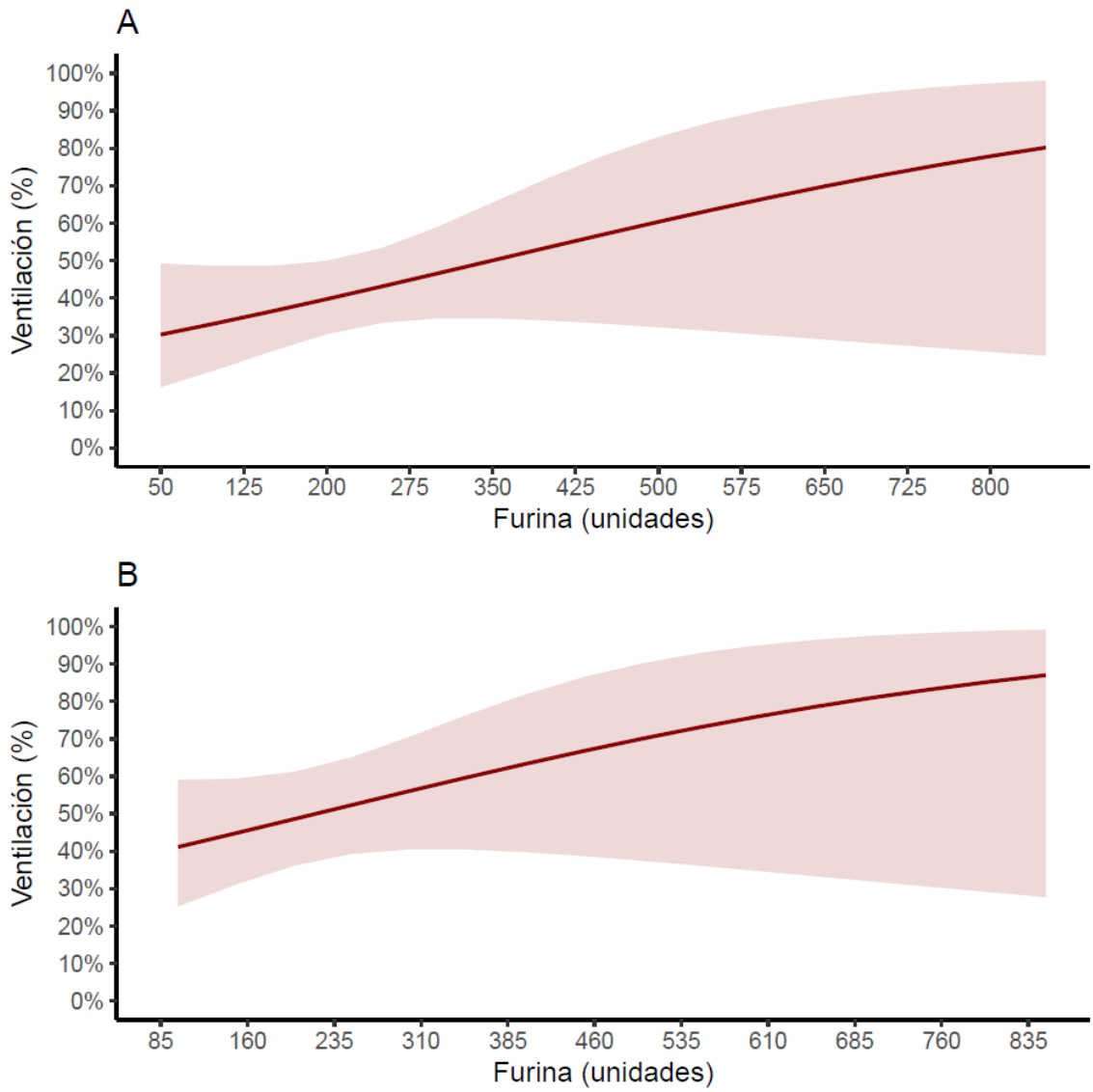


Figura 49. Furina y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de furina en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

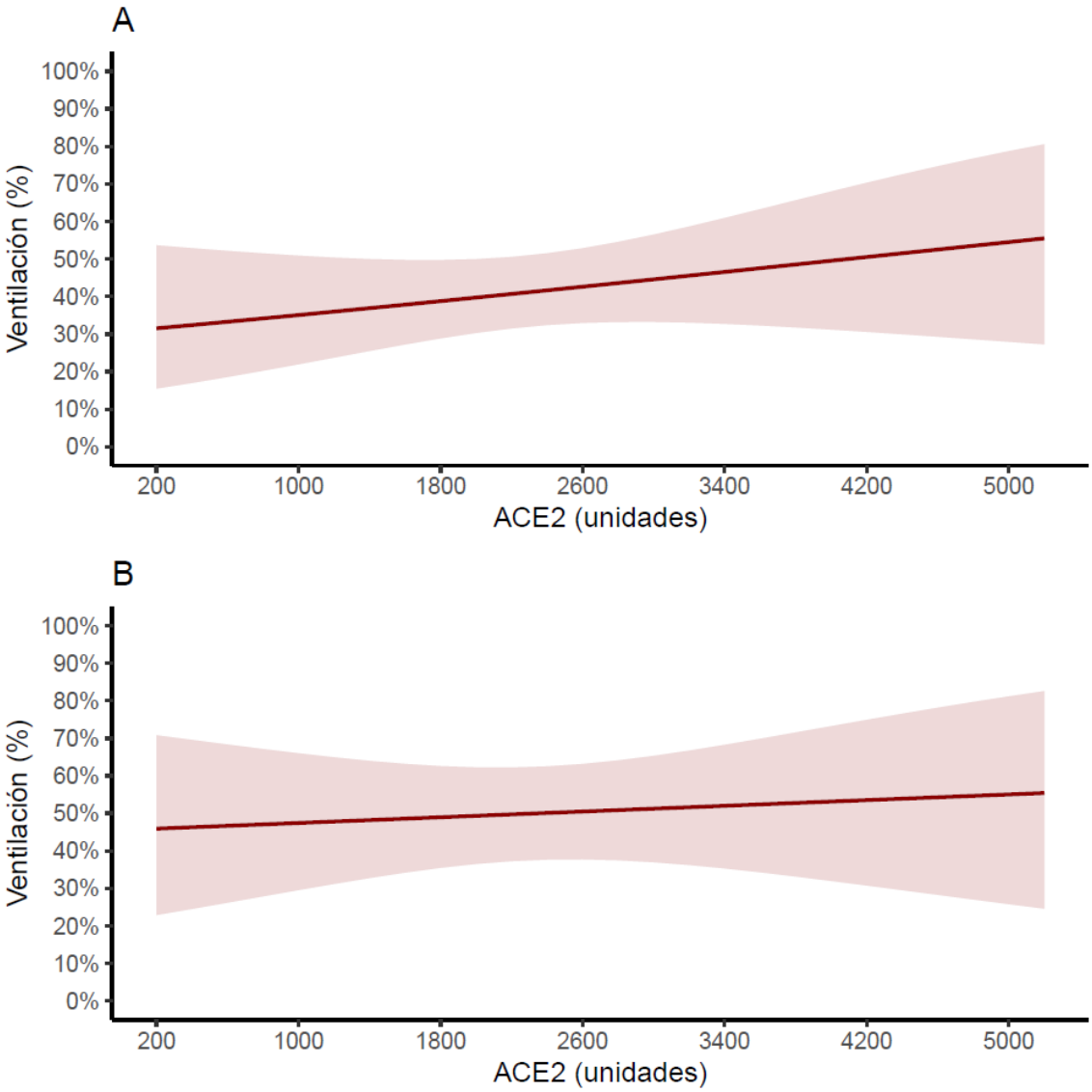


Figura 50. ACE2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de ACE2 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

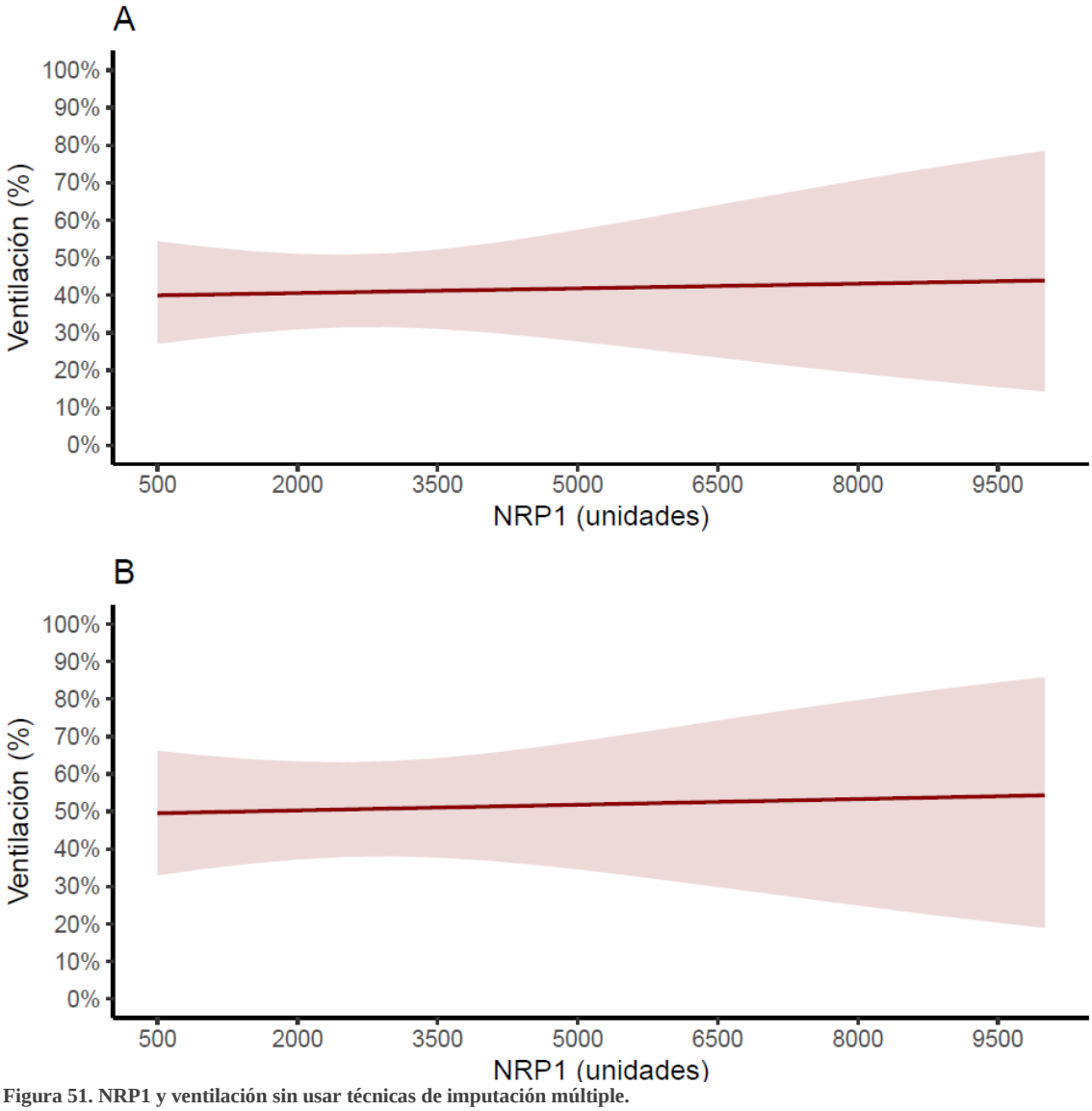


Figura 51. NRP1 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de NRP1 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

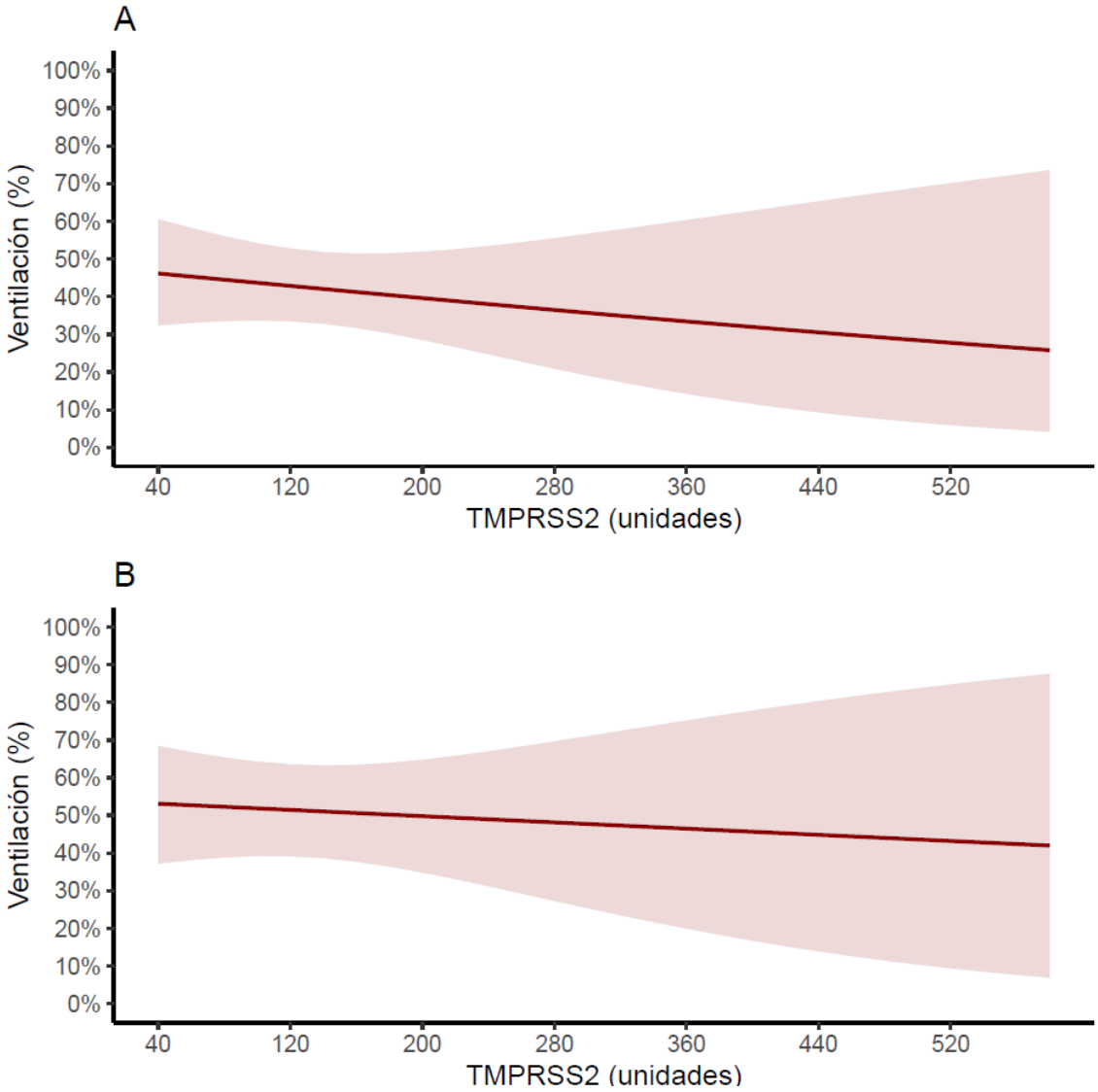


Figura 52. TMPRSS2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del número de receptores de TMPRSS2 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

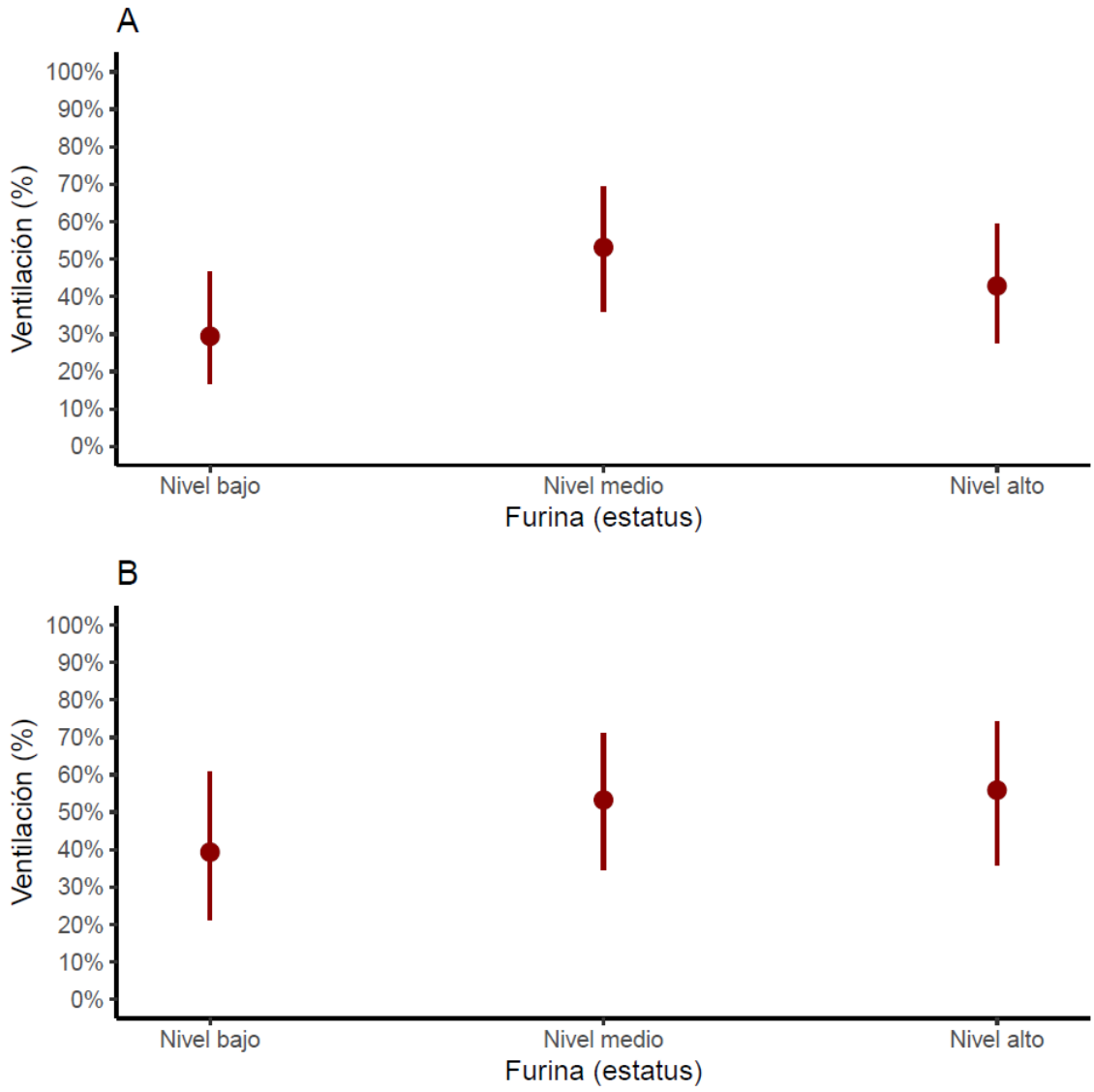


Figura 53. Estatus de niveles de furina y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de furina (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

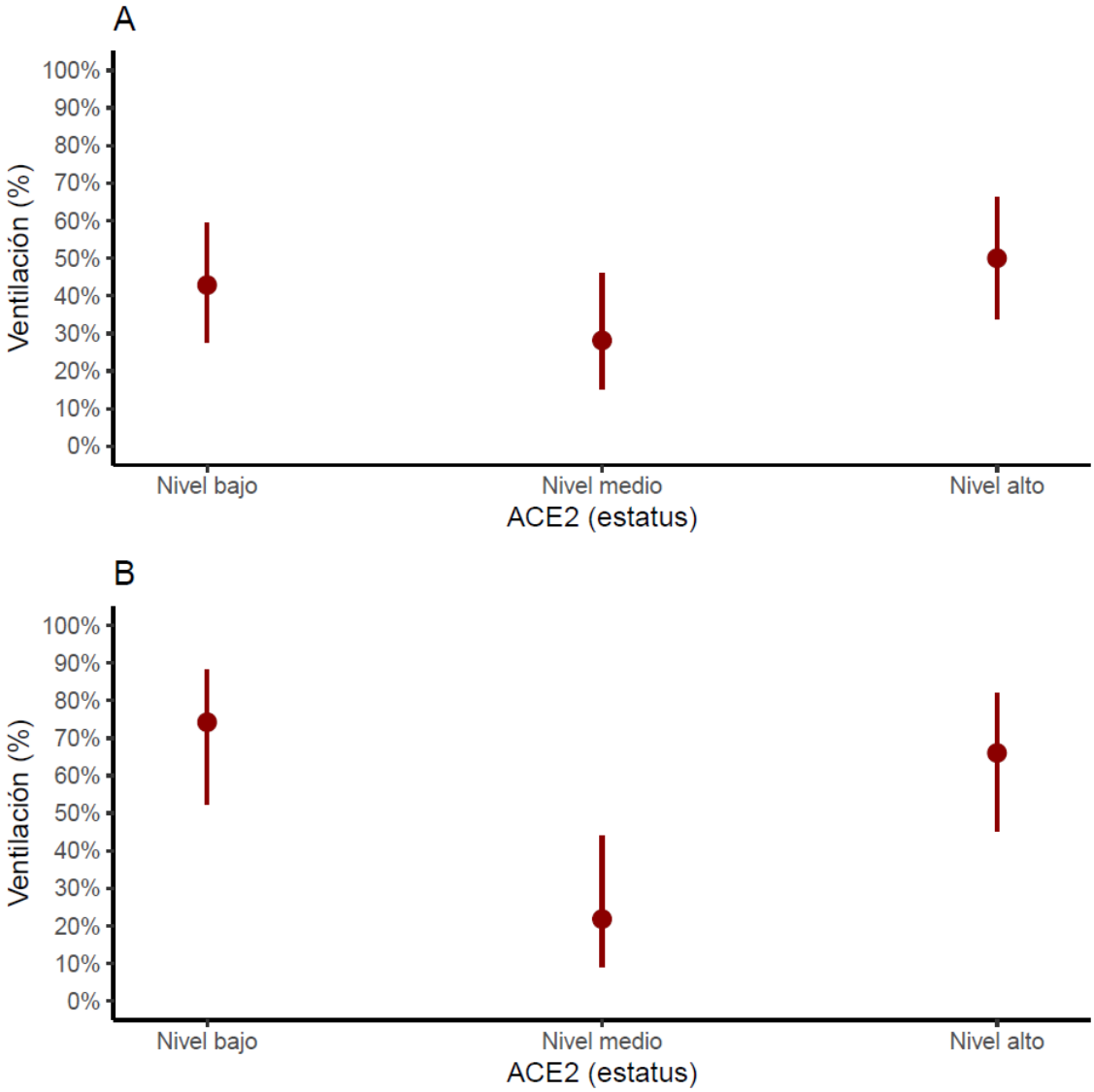


Figura 54. Estatus de niveles de ACE2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de ACE2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

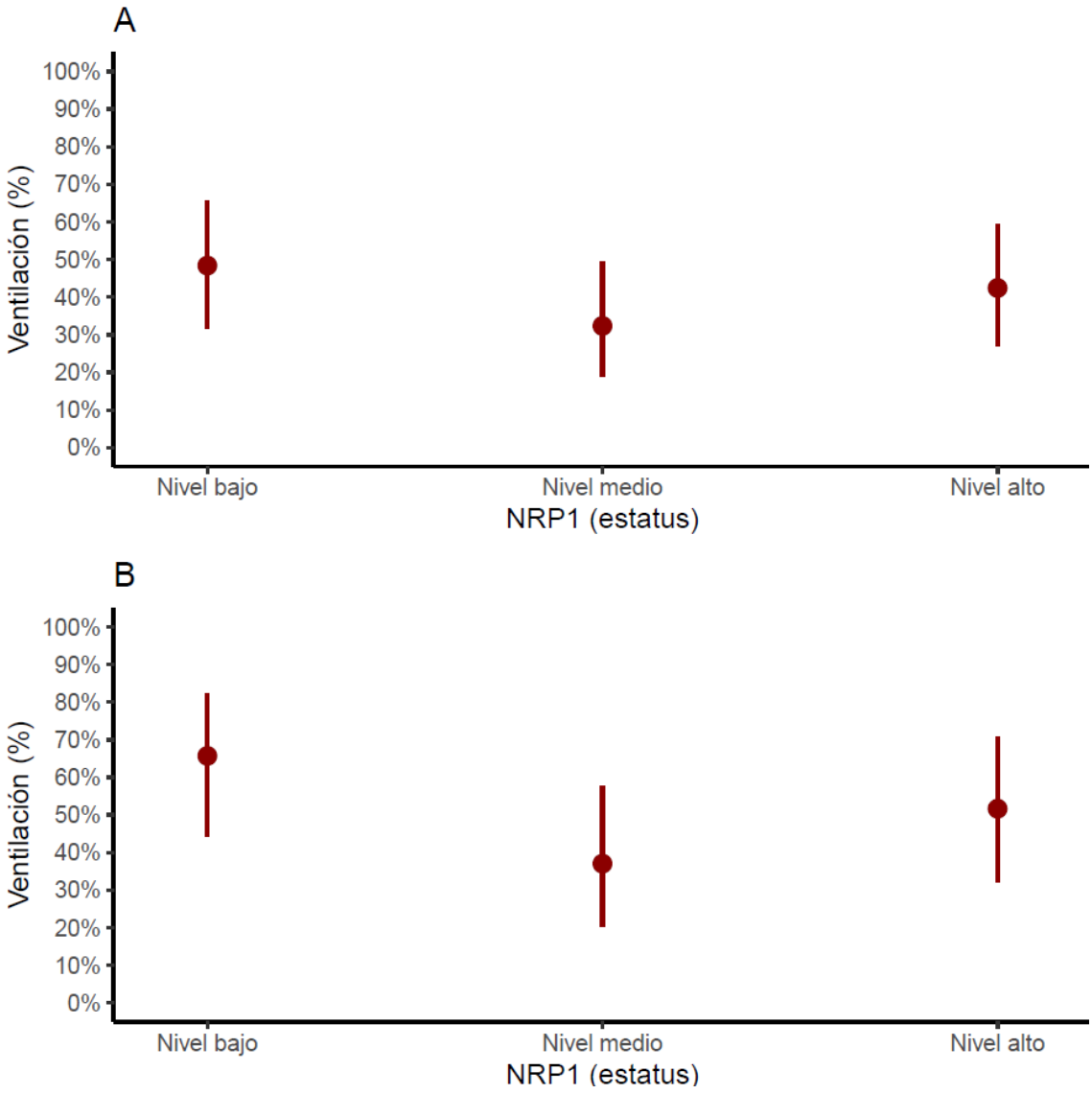


Figura 55. Estatus de niveles de NRP1 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de NRP1 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

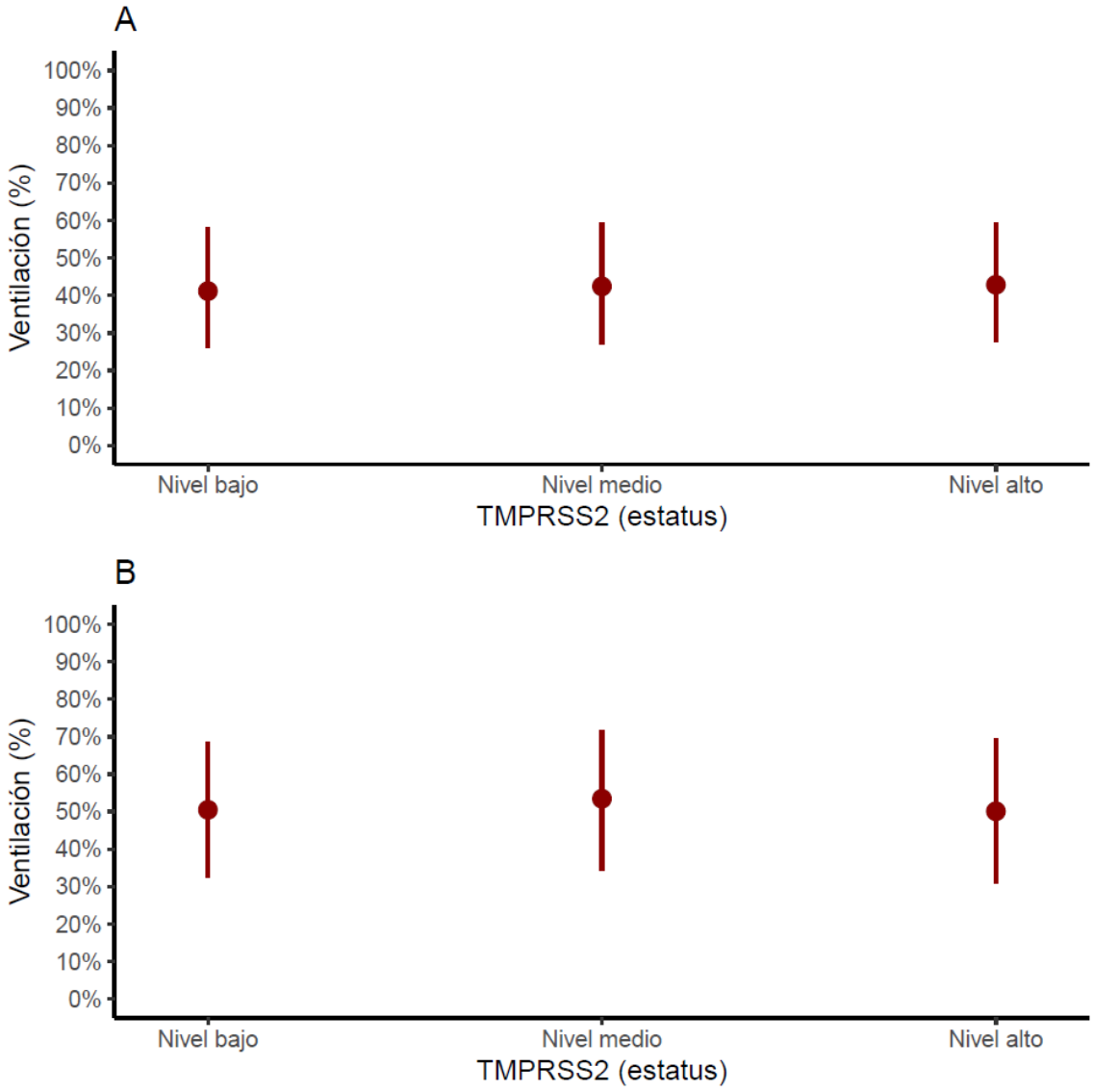


Figura 56. Estatus de niveles de TMPRSS2 y ventilación sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de necesitar ventilación en función del nivel de receptores de TMPRSS2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

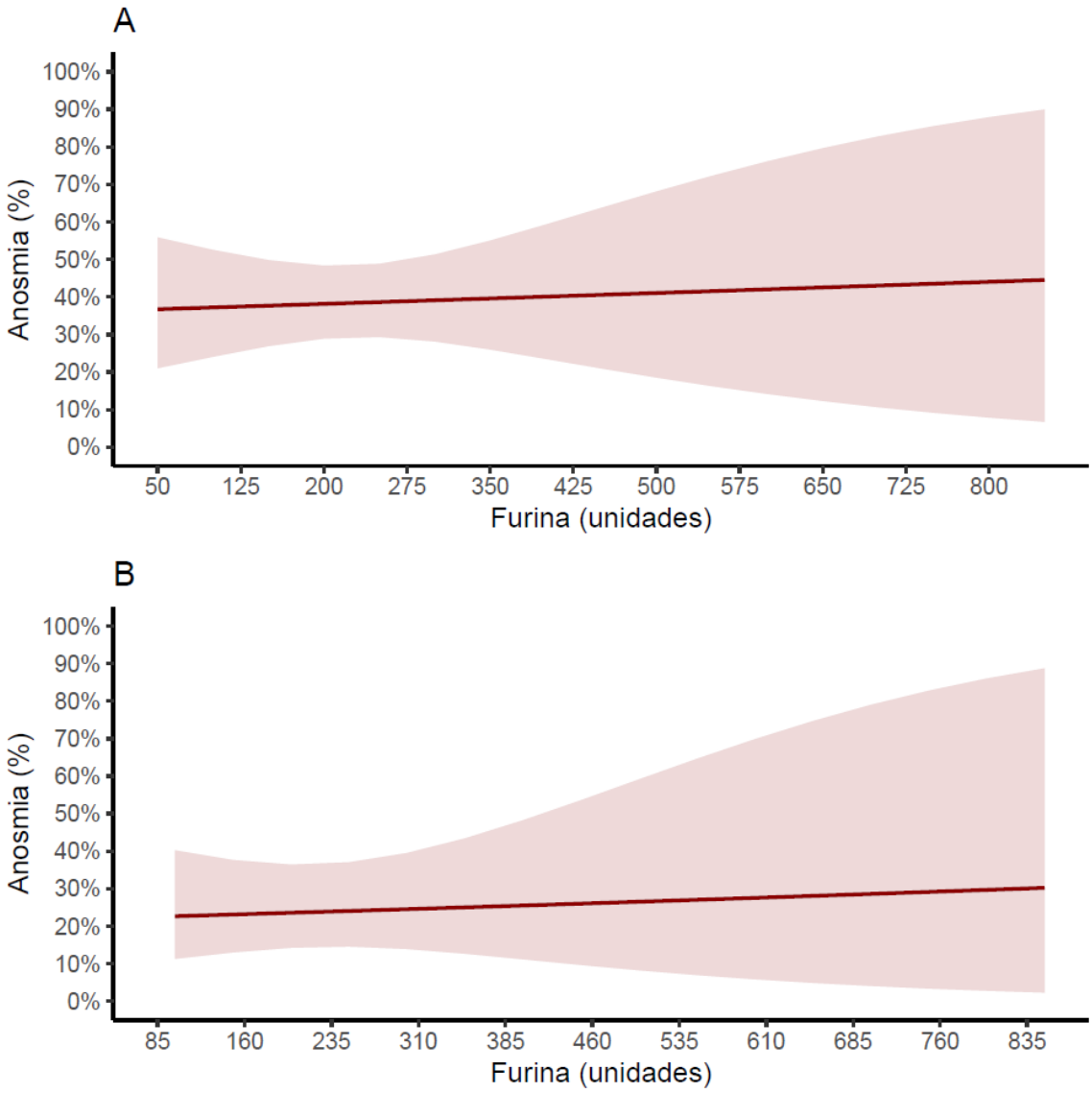


Figura 57. Furina y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de furina en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

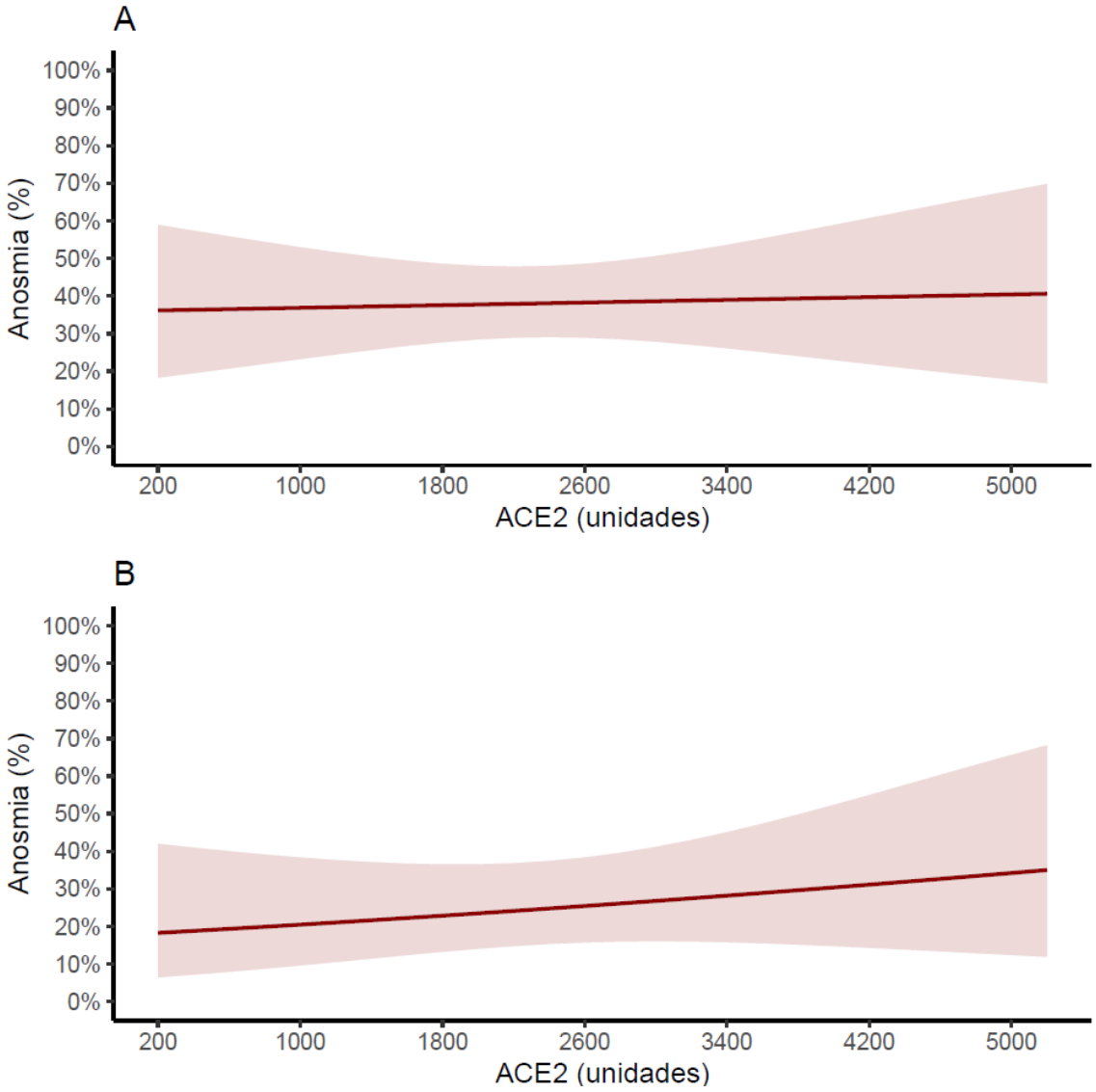


Figura 58. ACE2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de ACE2 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

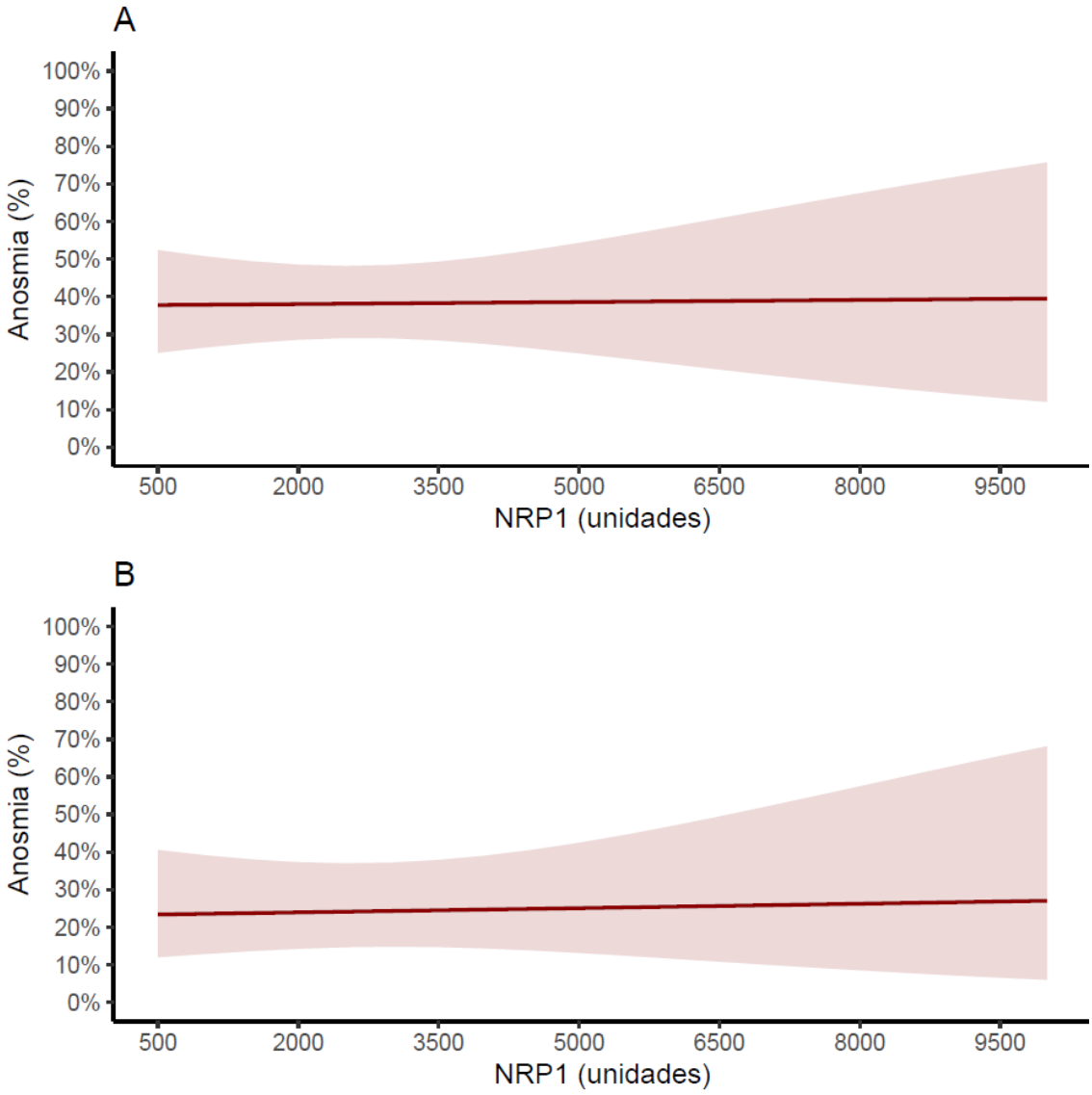


Figura 59. NRP1 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de NRP1 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

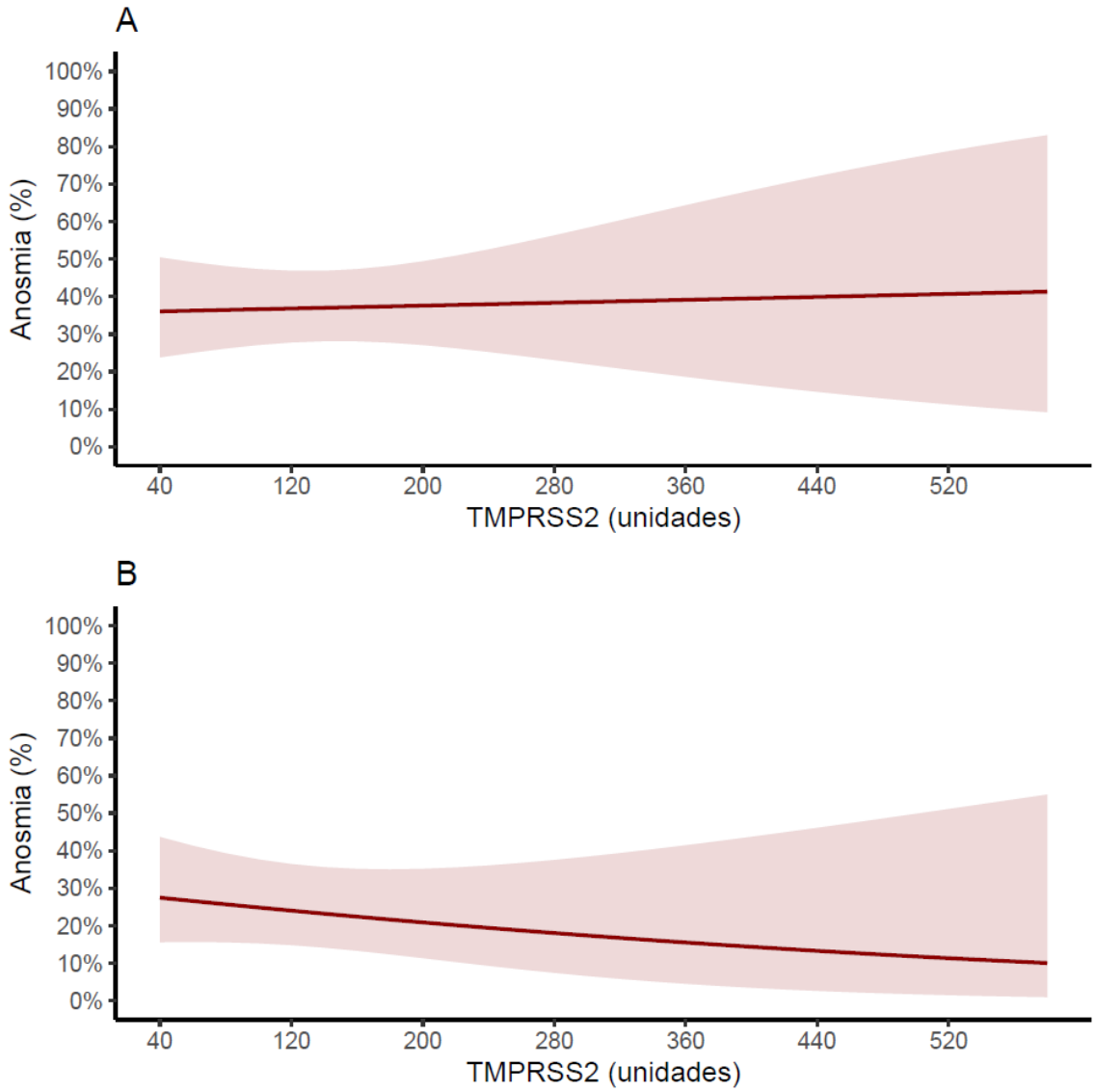


Figura 60. TMPRSS2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disfunción olfatoria en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de TMPRSS2 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

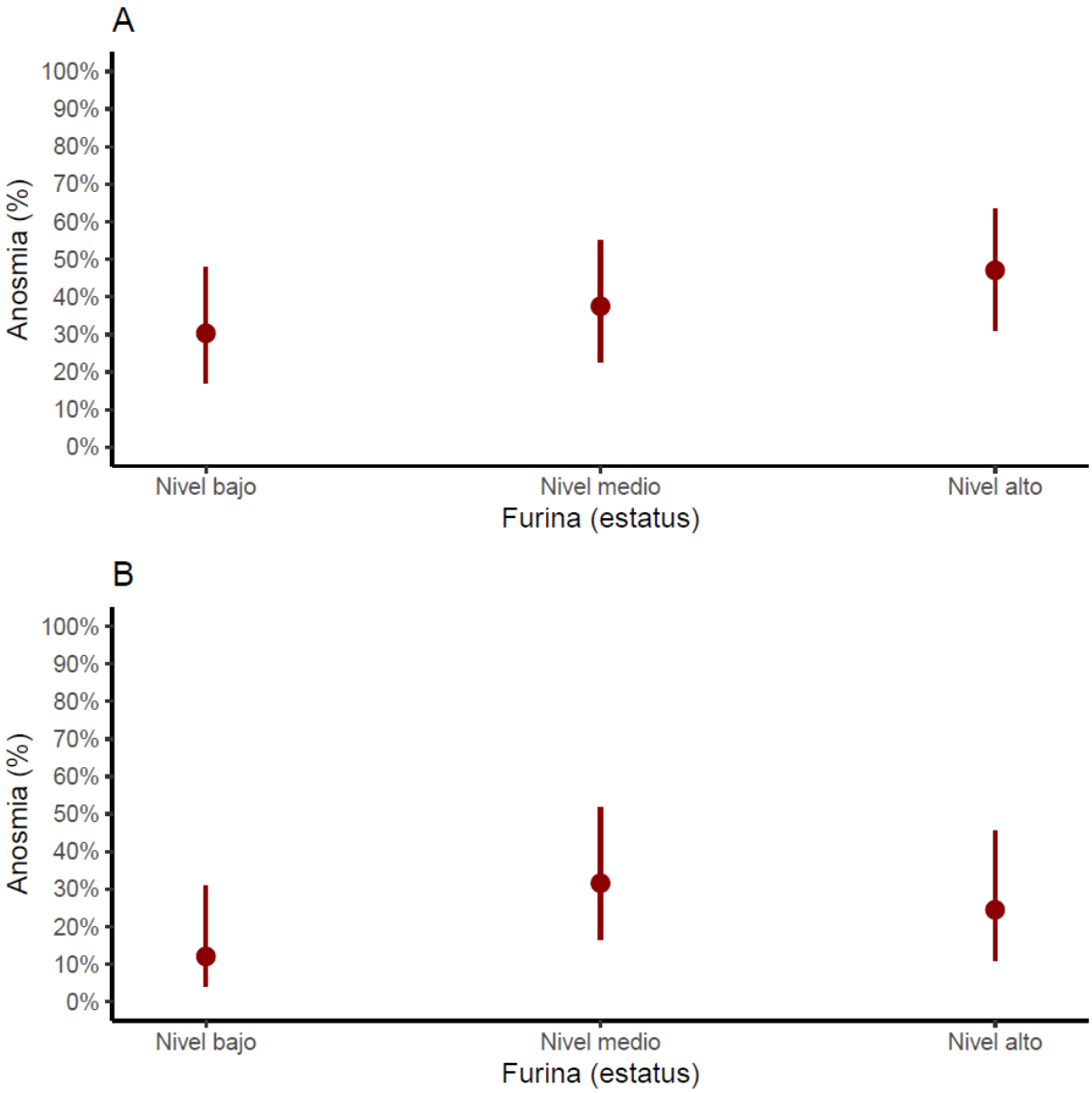


Figura 61. Estatus de niveles de furina y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de furina (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

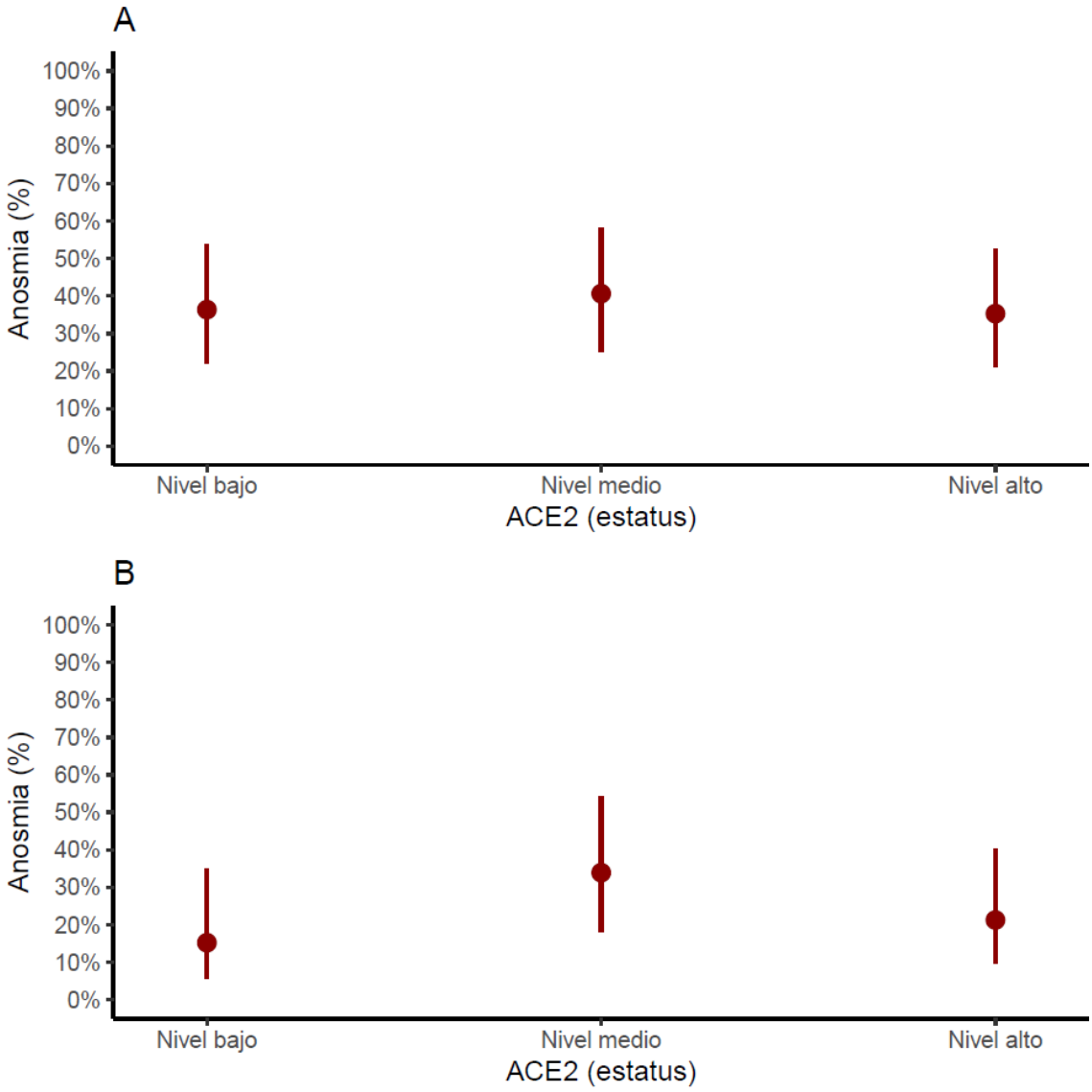


Figura 62. Estatus de niveles de ACE2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de ACE2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

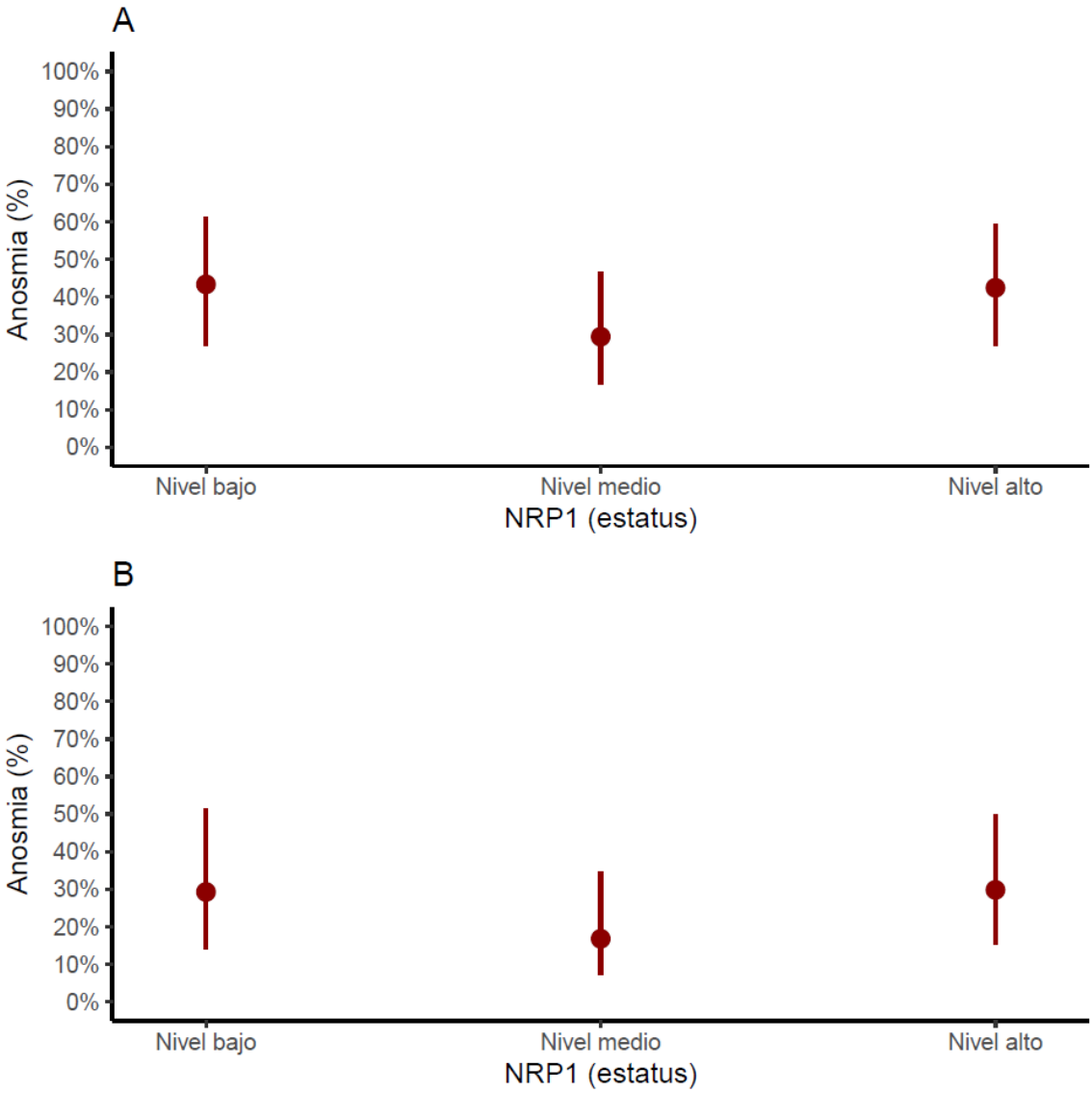


Figura 63. Estatus de niveles de NRP1 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de NRP1 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

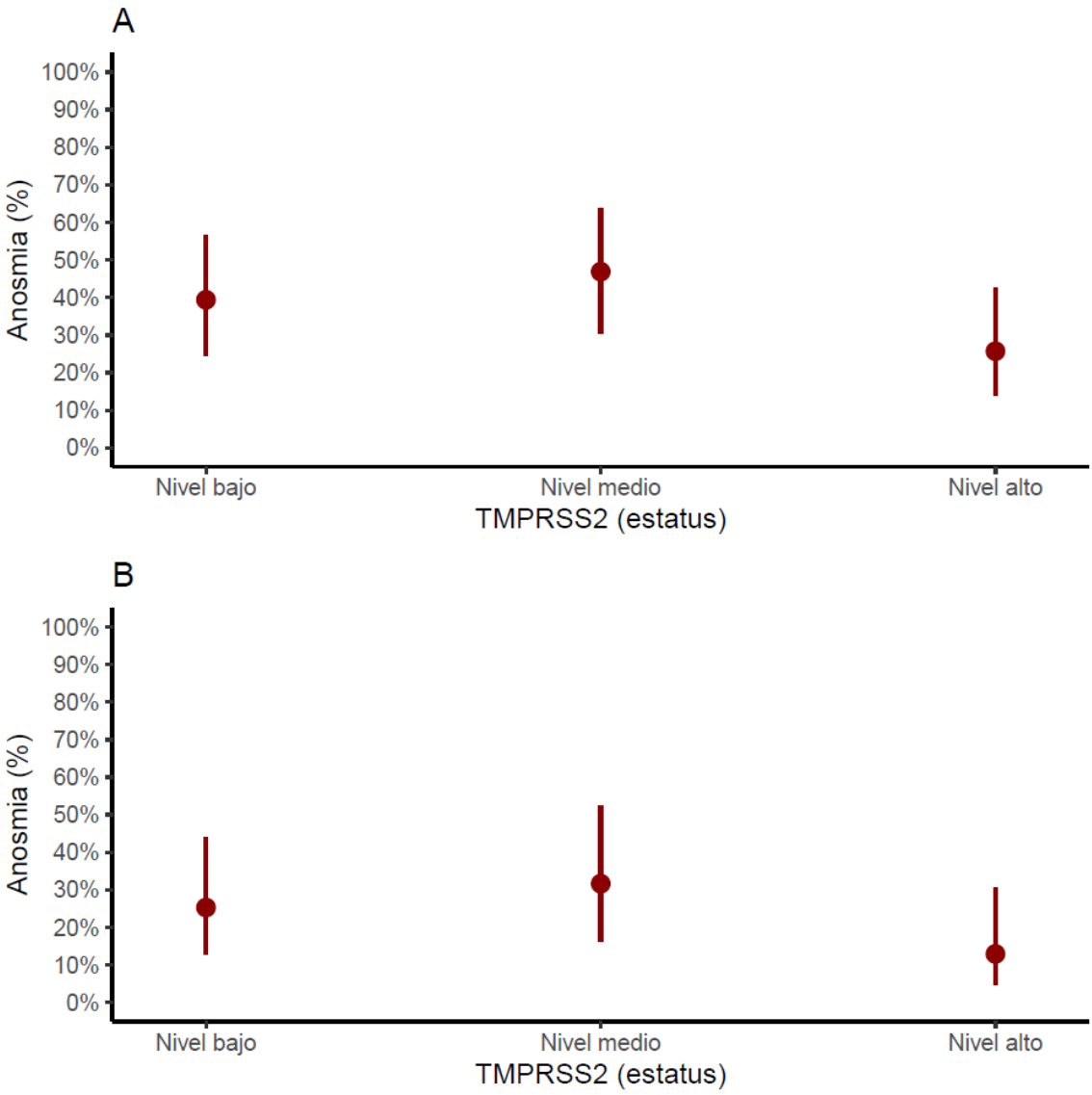


Figura 64. Estatus de niveles de TMPRSS2 y disfunción olfatoria sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disfunción olfatoria en los pacientes diagnosticados de COVID en función del nivel de receptores de TMPRSS2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

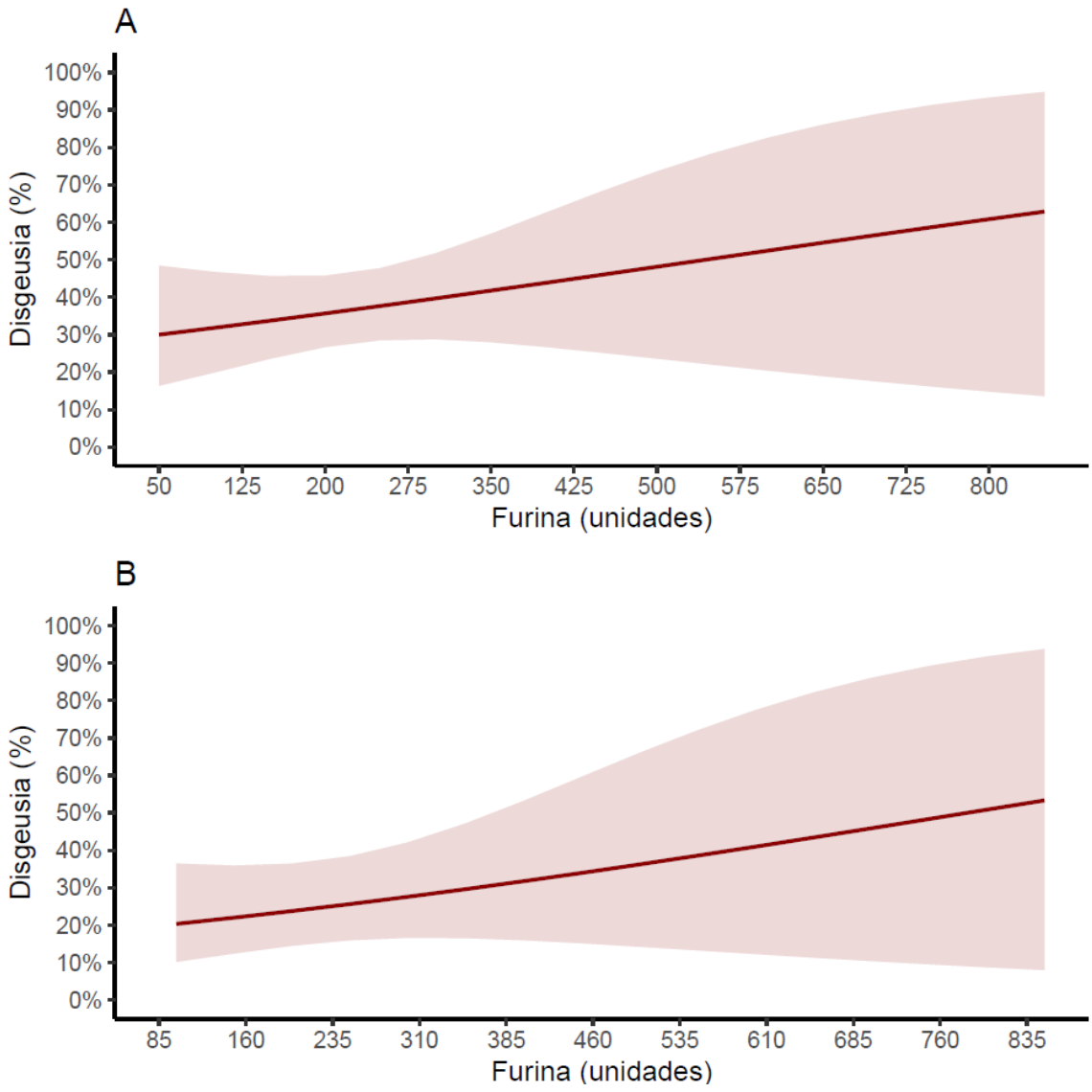


Figura 65. Furina y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de furina en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

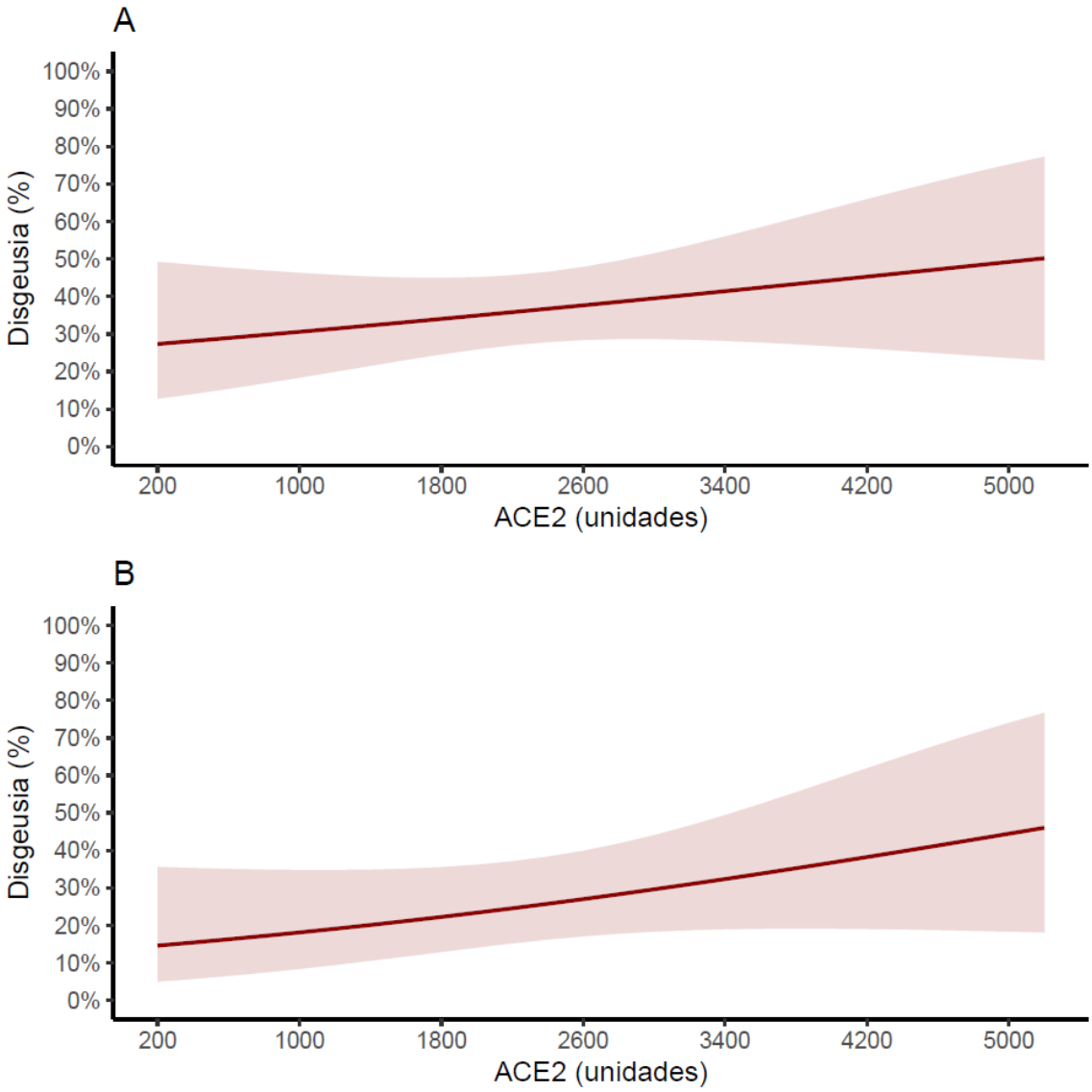


Figura 66. ACE2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de ACE2 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

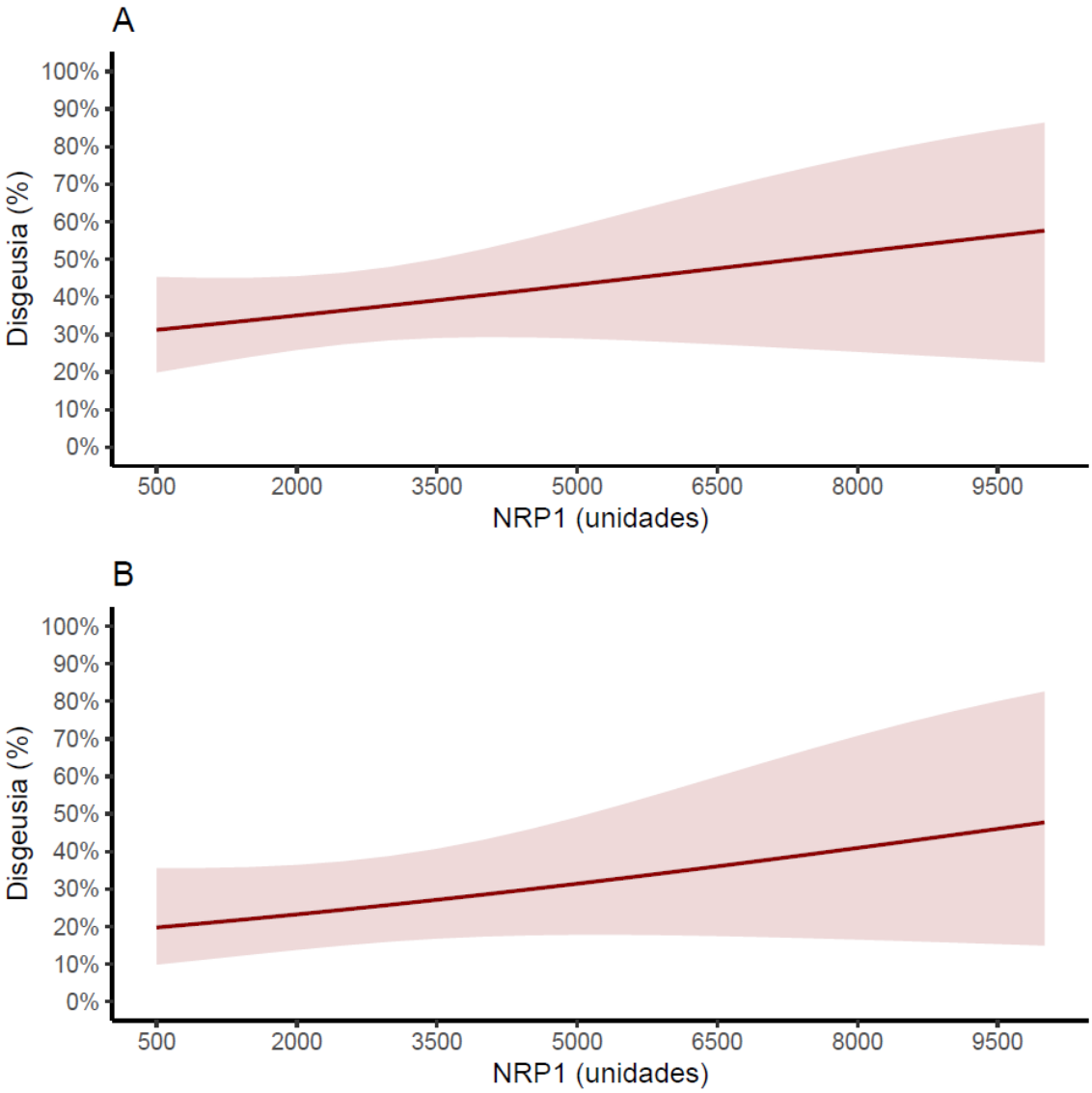


Figura 67. NRP1 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de NRP1 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

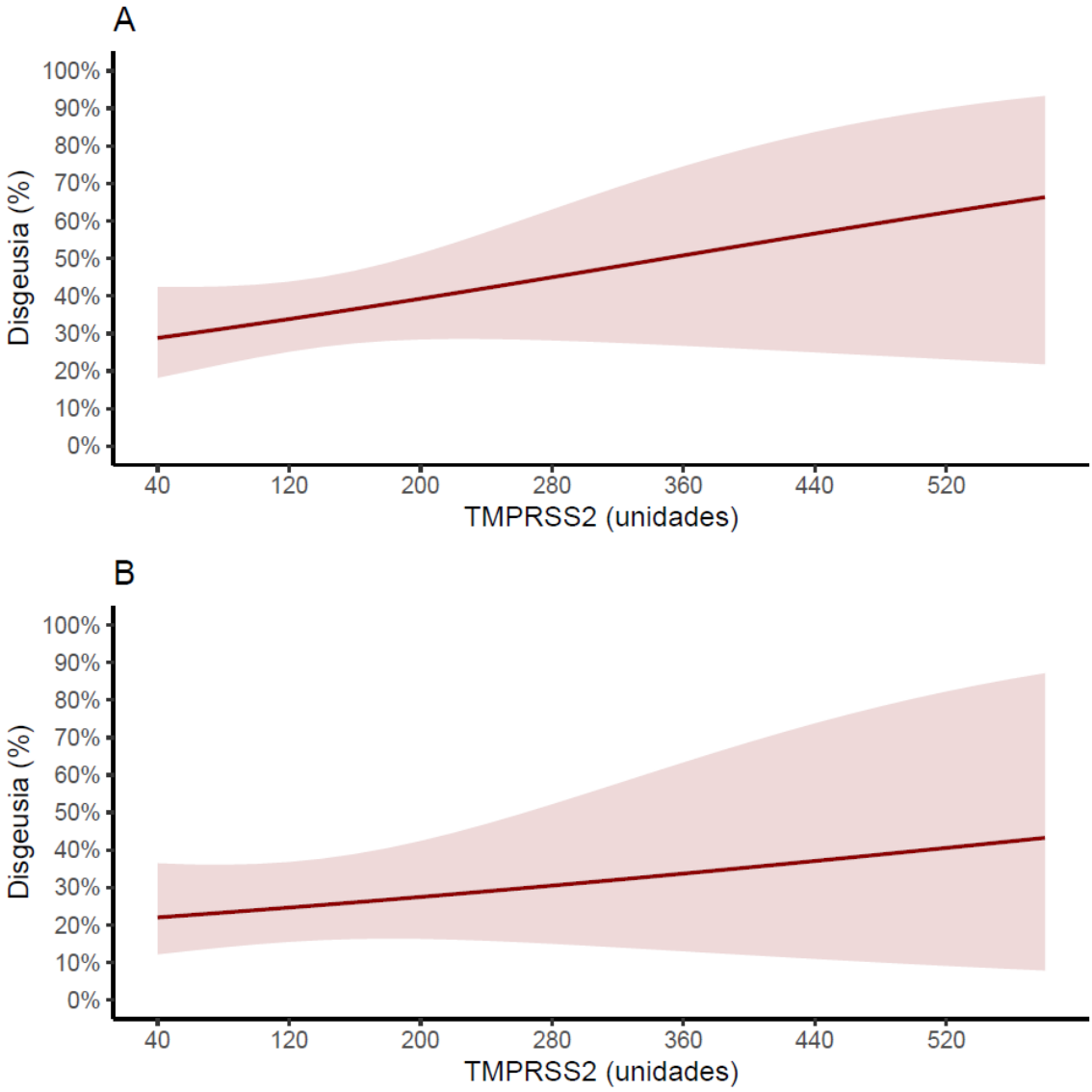


Figura 68. TMPRSS2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de tener disgeusia en pacientes con COVID-19 en función del número de receptores de TMPRSS2 en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

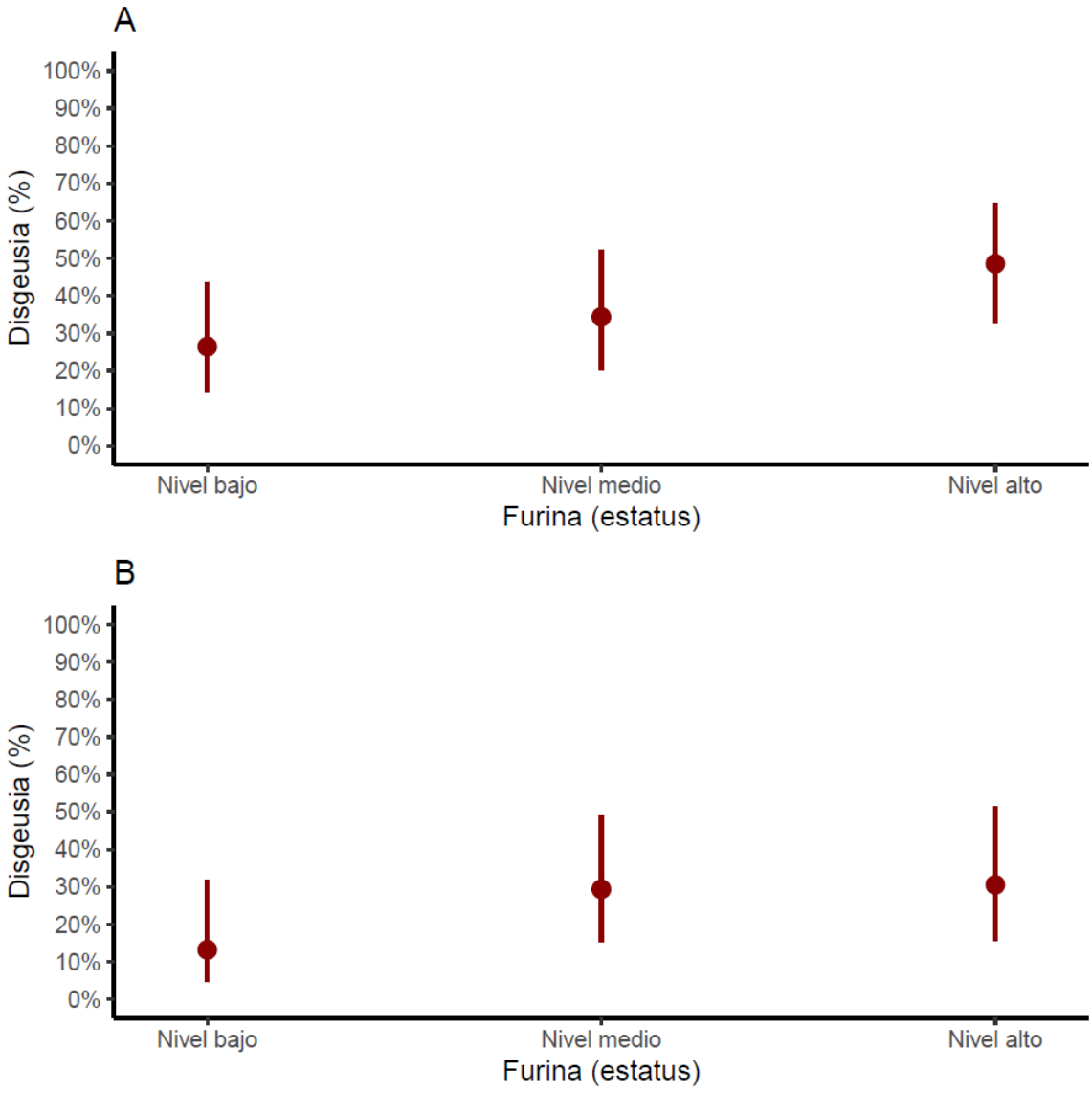


Figura 69. Estatus de niveles de furina y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de furina (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

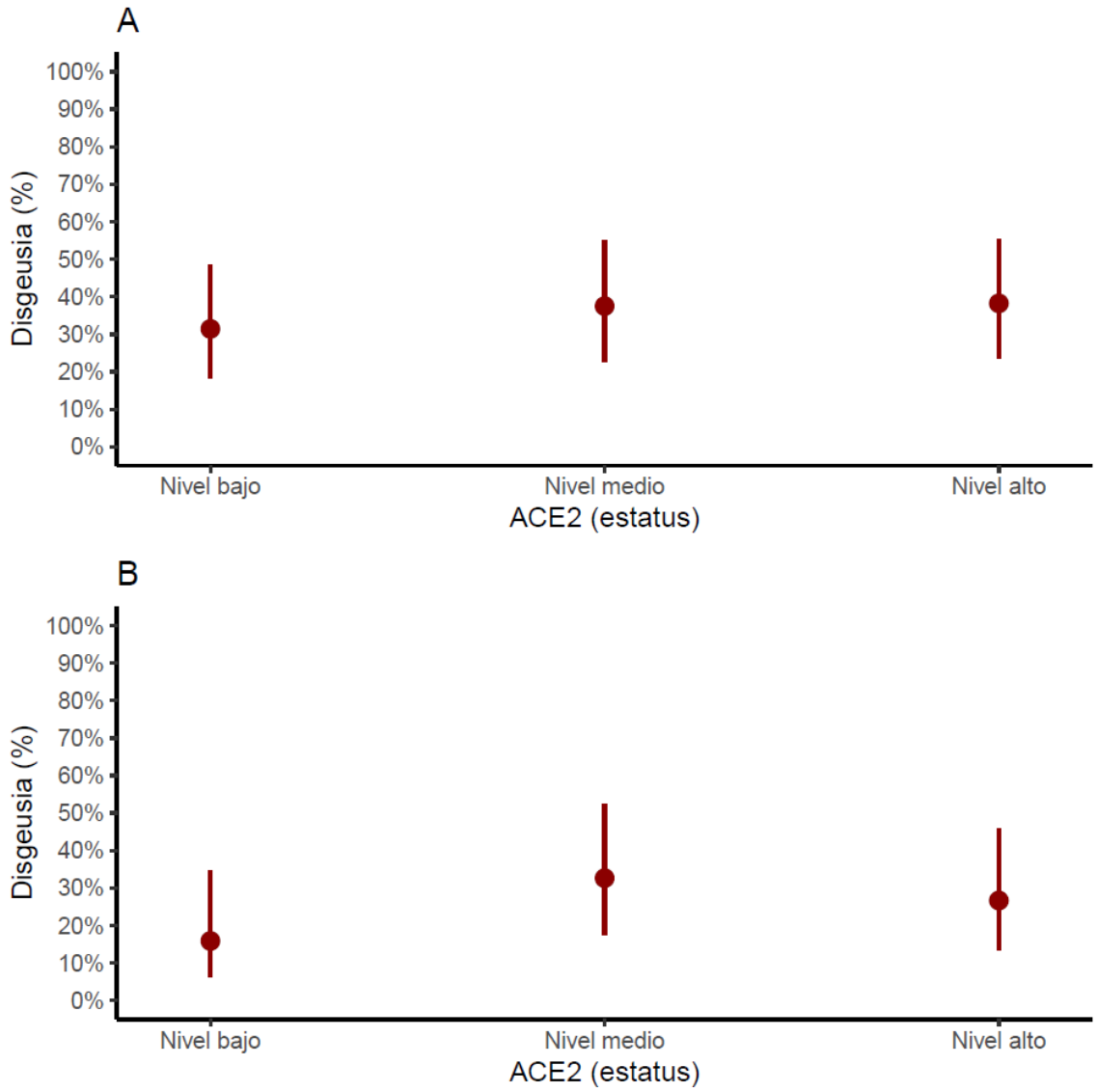


Figura 70. Estatus de niveles de ACE2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de ACE2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

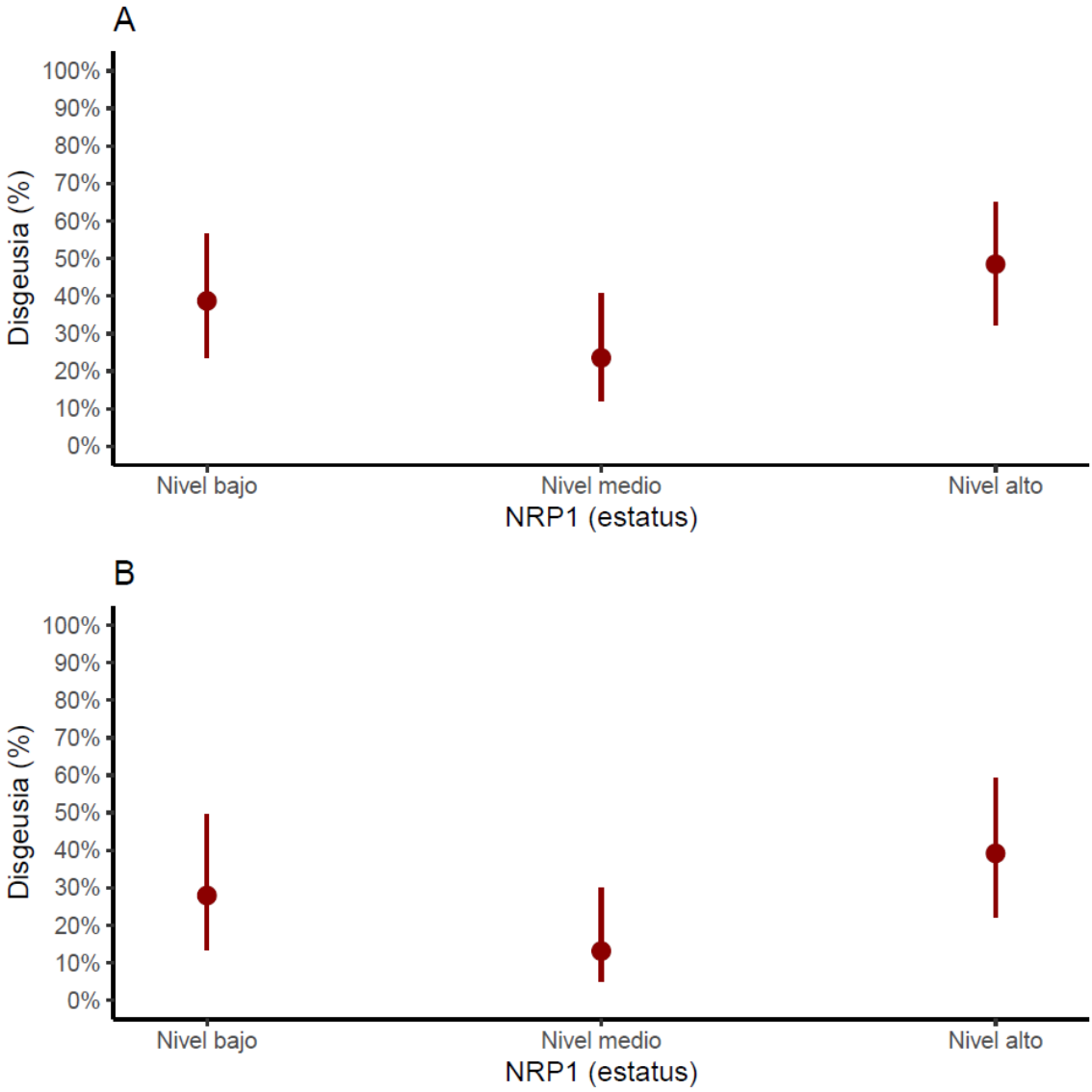


Figura 71. Estatus de niveles de NRP1 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de NRP1 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

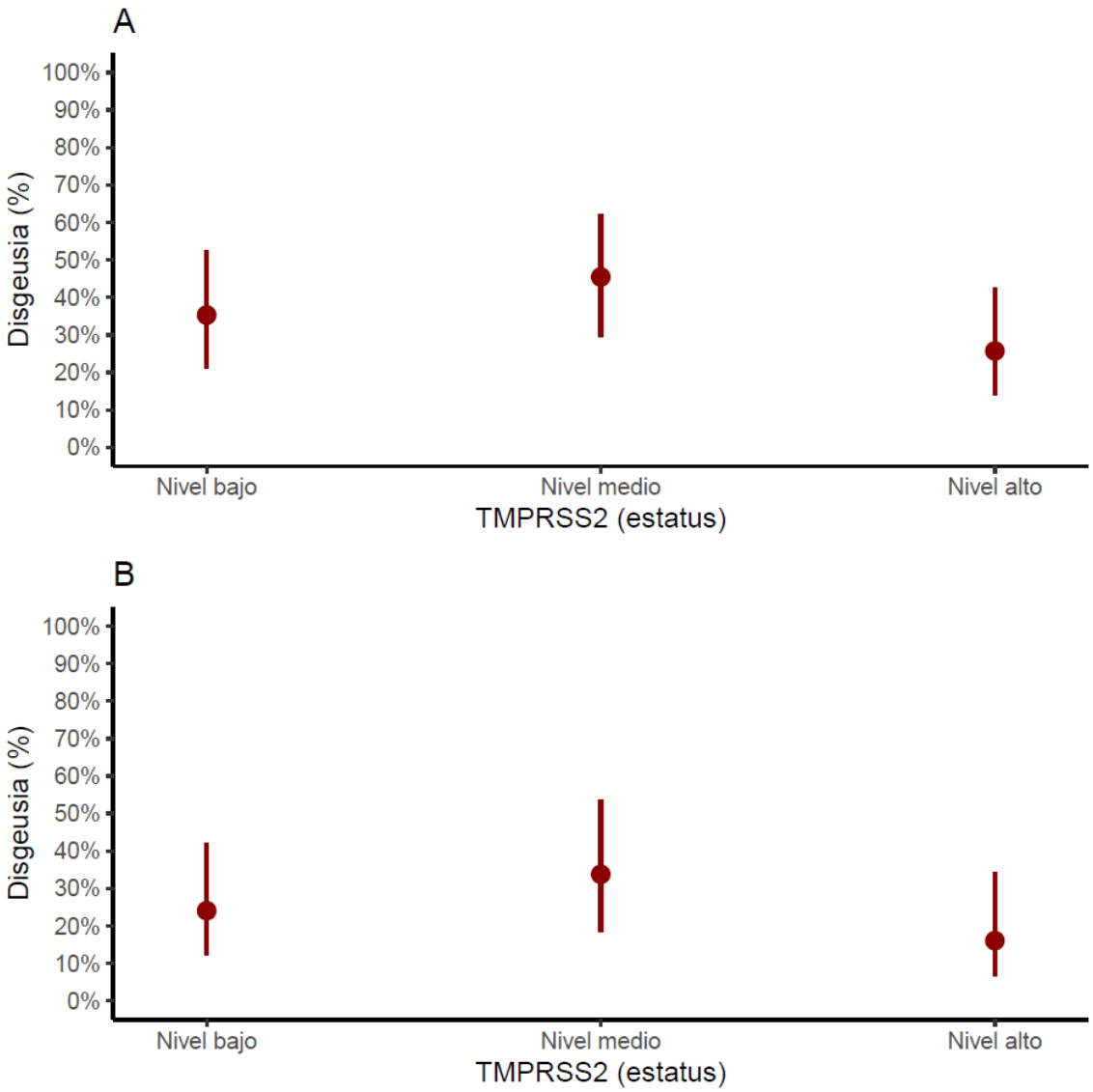


Figura 72. Estatus de niveles de TMPRSS2 y disgeusia sin usar técnicas de imputación múltiple.

Probabilidad estimada de padecer disgeusia en los pacientes diagnosticados de COVID-19 en función del nivel de receptores de TMPRSS2 (bajo, medio y alto) en los participantes del estudio sin usar técnicas de imputación múltiple. A: no ajustado; B: ajustado por edad, sexo y raza.

10. BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-Machado LF, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Postgrad Med J. diciembre de 2020;96(1142):753-8.

2. Samudrala PK, Kumar P, Choudhary K, Thakur N, Wadekar GS, Dayaramani R, et al. Virology, pathogenesis, diagnosis and in-line treatment of COVID-19. Eur J Pharmacol. septiembre de 2020;883:173375.

3. Islam KU, Iqbal J. An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. Front Cell Infect Microbiol. 10 de noviembre de 2020;10:560616.

4. Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. Nat Commun. diciembre de 2020;11(1):1620.

5. Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019 –COVID-19. Clin Microbiol Rev. 2020;33(4):48.

6. Herrera D, Serrano J, Roldán S, Sanz M. Is the oral cavity relevant in SARS-CoV-2 pandemic? Clin Oral Investig. agosto de 2020;24(8):2925-30.

7. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [citado 8 de diciembre de 2021]. Enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19). Disponible en: https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html

8. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. Nat Microbiol. abril de 2020;5(4):562-9.

9. Ullah H, Ullah A, Gul A, Mousavi T, Khan MW. Novel coronavirus 2019 (COVID-19) pandemic outbreak: A comprehensive review of the current literature. Vacunas. mayo de 2021;22(2):106-13.

10. Li MY, Li L, Zhang Y, Wang XS. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. Infect Dis Poverty. diciembre de 2020;9(1):45.

11. Liu M, Wang T, Zhou Y, Zhao Y, Zhang Y, Li J. Potential role of ACE2 in coronavirus disease 2019 (COVID-19) prevention and management. J Transl Intern Med. 9 de mayo de 2020;8(1):9-19.

12. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands J, Navis GJ, Gordijn SJ, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV -2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID -19). J Pathol. julio de 2020;251(3):228-48.

13. Mayi BS, Leibowitz JA, Woods AT, Ammon KA, Liu AE, Raja A. The role of Neuropilin-1 in COVID-19. Fearns R, editor. PLOS Pathog. 4 de enero de 2021;17(1):e1009153.

14. Daly JL, Simonetti B, Klein K, Chen KE, Williamson MK, Antón-Plágaro C, et al. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. Science. 13 de noviembre de 2020;370(6518):861-5.

15. Zang R, Gomez Castro MF, McCune BT, Zeng Q, Rothlauf PW, Sonnek NM, et al. TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. Sci Immunol. 13 de mayo de 2020;5(47):eabc3582.

16. Osman EEA, Rehemtulla A, Neamati N. Why All the Fury over Furin? J Med Chem. 24 de febrero de 2022;65(4):2747-84.

17. Chan YA, Zhan SH. The Emergence of the Spike Furin Cleavage Site in SARS-CoV-2. Kumar S, editor. Mol Biol Evol. 7 de enero de 2022;39(1):msab327.

18. Kielian M. Enhancing host cell infection by SARS-CoV-2. Science. 13 de noviembre de 2020;370(6518):765-6.

19. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat Rev Microbiol. marzo de 2021;19(3):141-54.

20. Brandal LT, MacDonald E, Veneti L, Ravlo T, Lange H, Naseer U, et al. Outbreak caused by the SARS-CoV-2 Omicron variant in Norway, November to December 2021. Eurosurveillance [Internet]. 16 de diciembre de 2021 [citado 19 de febrero de 2023];26(50). Disponible en: https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.50.2101147

21. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. Ann Intern Med. enero de 2021;174(1):69-79.

22. Wu Y, Kang L, Guo Z, Liu J, Liu M, Liang W. Incubation Period of COVID-19 Caused by Unique SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open. 1 de agosto de 2022;5(8):e2228008.

23. Jansen L, Tegomoh B, Lange K, Showalter K, Figliomeni J, Abdalhamid B, et al. Investigation of a SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant Cluster - Nebraska, November-December 2021. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 31 de diciembre de 2021;70(5152):1782-4.

24. Meyerowitz-Katz G, Merone L. A systematic review and meta-analysis of published research data on COVID-19 infection fatality rates. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. diciembre de 2020;101:138-48.

25. Ioannidis JPA. Reconciling estimates of global spread and infection fatality rates of COVID-19: An overview of systematic evaluations. Eur J Clin Invest. mayo de 2021;51(5):e13554.

26. COVID-19 Forecasting Team. Variation in the COVID-19 infection-fatality ratio by age, time, and geography during the pre-vaccine era: a systematic analysis. Lancet Lond Engl. 16 de abril de 2022;399(10334):1469-88.

27. Skowronski DM, Kaweski SE, Irvine MA, Chuang ESY, Kim S, Sabaiduc S, et al. Risk of hospital admission and death from first-ever SARS-CoV-2 infection by age group during the Delta and Omicron periods in British Columbia, Canada. CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can. 30 de octubre de 2023;195(42):E1427-39.

28. Anesi GL, Jablonski J, Harhay MO, Atkins JH, Bajaj J, Baston C, et al. Characteristics, Outcomes, and Trends of Patients With COVID-19-Related Critical Illness at a Learning Health System in the United States. Ann Intern Med. mayo de 2021;174(5):613-21.

29. Cates J, Lucero-Obusan C, Dahl RM, Schirmer P, Garg S, Oda G, et al. Risk for In-Hospital Complications Associated with COVID-19 and Influenza - Veterans Health Administration, United States, October 1, 2018-May 31, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 23 de octubre de 2020;69(42):1528-34.

30. Xie Y, Bowe B, Maddukuri G, Al-Aly Z. Comparative evaluation of clinical manifestations and risk of death in patients admitted to hospital with covid-19 and seasonal influenza: cohort study. BMJ. 15 de diciembre de 2020;371:m4677.

31. Verma AA, Hora T, Jung HY, Fralick M, Malecki SL, Lapointe-Shaw L, et al. Characteristics and outcomes of hospital admissions for COVID-19 and influenza in the Toronto area. CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can. 22 de marzo de 2021;193(12):E410-8.

32. Xie Y, Choi T, Al-Aly Z. Risk of Death in Patients Hospitalized for COVID-19 vs Seasonal Influenza in Fall-Winter 2022-2023. JAMA. 16 de mayo de 2023;329(19):1697-9.

33. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. JAMA. 26 de mayo de 2020;323(20):2052-9.

34. Myers LC, Parodi SM, Escobar GJ, Liu VX. Characteristics of Hospitalized Adults With COVID-19 in an Integrated Health Care System in California. JAMA. 2 de junio de 2020;323(21):2195-8.

35. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, Jacobson SD, Meyer BJ, Balough EM, Aaron JG, Claassen J, Rabbani LE, Hastie J, Hochman BR, Salazar-Schicchi J, Yip NH, Brodie D, O'Donnell MR. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. Lancet. 2020 Jun 6;395(10239):1763-1770. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31189-2. Epub 2020 May 19. PMID: 32442528; PMCID: PMC7237188.

36. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, Rajagopalan H, O'Donnell L, Chernyak Y, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. BMJ. 22 de mayo de 2020;369:m1966.

37. Lewnard JA, Liu VX, Jackson ML, Schmidt MA, Jewell BL, Flores JP, et al. Incidence, clinical outcomes, and transmission dynamics of severe coronavirus disease 2019 in California and Washington: prospective cohort study. BMJ. 22 de mayo de 2020;369:m1923.

38. Docherty AB, Harrison EM, Green CA, Hardwick HE, Pius R, Norman L, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. BMJ. 22 de mayo de 2020;369:m1985.

39. Garg S, Patel K, Pham H, Whitaker M, O'Halloran A, Milucky J, et al. Clinical Trends Among U.S. Adults Hospitalized With COVID-19, March to December 2020 : A Cross-Sectional Study. Ann Intern Med. octubre de 2021;174(10):1409-19.

40. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, Jacobson SD, Meyer BJ, Balough EM, et al. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. Lancet Lond Engl. 6 de junio de 2020;395(10239):1763-70.

41. Dennis JM, McGovern AP, Vollmer SJ, Mateen BA. Improving Survival of Critical Care Patients With Coronavirus Disease 2019 in England: A National Cohort Study, March to June 2020. Crit Care Med. 1 de febrero de 2021;49(2):209-14.

42. Horwitz LI, Jones SA, Cerfolio RJ, Francois F, Greco J, Rudy B, et al. Trends in COVID-19 Risk-Adjusted Mortality Rates. J Hosp Med. febrero de 2021;16(2):90-2.

43. Anesi GL et al. Characteristics, Outcomes, and Trends of Patients With COVID-19-Related Critical Illness at a Learning Health System in the United States. Ann Intern Med. 2021 May;174(5):613-621. doi: 10.7326/M20-5327. Epub 2021 Jan 19. PMID: 33460330; PMCID: PMC7901669.

44. Nguyen NT, Chinn J, Nahmias J, Yuen S, Kirby KA, Hohmann S, et al. Outcomes and Mortality Among Adults Hospitalized With COVID-19 at US Medical Centers. JAMA Netw Open. 1 de marzo de 2021;4(3):e210417.

45. African COVID-19 Critical Care Outcomes Study (ACCCOS) Investigators. Patient care and clinical outcomes for patients with COVID-19 infection admitted to African high-care or intensive care units (ACCCOS): a multicentre, prospective, observational cohort study. Lancet Lond Engl. 22 de mayo de 2021;397(10288):1885-94.

46. Alizadehsani R, Alizadeh Sani Z, Behjati M, Roshanzamir Z, Hussain S, Abedini N, et al. Risk factors prediction, clinical outcomes, and mortality in COVID-19 patients. J Med Virol. abril de 2021;93(4):2307-20.

47. Rashedi J, Mahdavi Poor B, Asgharzadeh V, Pourostadi M, Samadi Kafil H, Vegari A, et al. Risk Factors for COVID-19. Infez Med. 1 de diciembre de 2020;28(4):469-74.

48. Risk for COVID-19 Infection, Hospitalization, and Death By Age Group | CDC [Internet]. [citado 22 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/covid-data/investigations-discovery/hospitalization-death-by-age.html

49. Statista [Internet]. [citado 8 de diciembre de 2021]. Países con más casos de coronavirus. Disponible en: https://es.statista.com/estadisticas/1091192/paises-afectados-por-el-coronavirus-de-wuhan-segun-los-casos-confirmados/

50. Miller A, Reandelar MJ, Fasciglione K, Roumenova V, Li Y, Otazu GH. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. :9.

51. Shet A, Ray D, Malavige N, Santosham M, Bar-Zeev N. Differential COVID-19-attributable mortality and BCG vaccine use in countries [Internet]. Infectious Diseases (except HIV/AIDS); 2020 abr [citado 10 de diciembre de 2021]. Disponible en: http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.04.01.20049478

52. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. N Engl J Med. 19 de marzo de 2020;382(12):1177-9.

53. Cevik M, Marcus JL, Buckee C, Smith TC. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Transmission Dynamics Should Inform Policy. Clin Infect Dis. 30 de julio de 2021;73(Supplement_2):S170-6.

54. Ghinai I, Woods S, Ritger KA, McPherson TD, Black SR, Sparrow L, et al. Community Transmission of SARS-CoV-2 at Two Family Gatherings — Chicago, Illinois, February–March 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 17 de abril de 2020;69(15):446-50.

55. Wei WE, Li Z, Chiew CJ, Yong SE, Toh MP, Lee VJ. Presymptomatic Transmission of SARS-CoV-2 — Singapore, January 23–March 16, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 10 de abril de 2020;69(14):411-5.

56. Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, Prasad PV, Steele M, Brooks JT, et al. SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. JAMA Netw Open. 7 de enero de 2021;4(1):e2035057.

57. Chen C, Haupert SR, Zimmermann L, Shi X, Fritsche LG, Mukherjee B. Global Prevalence of Post-Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review. J Infect Dis. 1 de noviembre de 2022;226(9):1593-607.

58. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, Fahim M, Arendt C, Hoffmann J, et al. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). JAMA Cardiol. 1 de noviembre de 2020;5(11):1265-73.

59. Rajpal S, Tong MS, Borchers J, Zareba KM, Obarski TP, Simonetti OP, et al. Cardiovascular Magnetic Resonance Findings in Competitive Athletes Recovering From COVID-19 Infection. JAMA Cardiol. 1 de enero de 2021;6(1):116-8.

60. Morawska L, Milton DK. It Is Time to Address Airborne Transmission of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Clin Infect Dis. 6 de julio de 2020;ciaa939.

61. Indian Society of Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition, Pediatric Gastroenterology Chapter of Indian Academy of Pediatrics, Matthai J, Shanmugam N, Sobhan P. Coronavirus Disease (COVID-19) and the Gastrointestinal System in Children. Indian Pediatr. junio de 2020;57(6):533-5.

62. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. JAMA. 12 de mayo de 2020;323(18):1843-4.

63. Newman A, Smith D, Ghai RR, Wallace RM, Torchetti MK, Loiacono C, et al. First Reported Cases of SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals — New York, March–April 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 12 de junio de 2020;69(23):710-3.

64. Menni C, Valdes AM, Polidori L, Antonelli M, Penamakuri S, Nogal A, et al. Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study. Lancet Lond Engl. 23 de abril de 2022;399(10335):1618-24.

65. Galván Casas C, Català A, Carretero Hernández G, Rodríguez-Jiménez P, Fernández-Nieto D, Rodríguez-Villa Lario A, et al. Classification of the cutaneous manifestations of COVID-19: a rapid prospective nationwide consensus study in Spain with 375 cases. Br J Dermatol. julio de 2020;183(1):71-7.

66. Alramthan A, Aldaraji W. Two cases of COVID-19 presenting with a clinical picture resembling chilblains: first report from the Middle East. Clin Exp Dermatol. agosto de 2020;45(6):746-8.

67. Kolivras A, Dehavay F, Delplace D, Feoli F, Meiers I, Milone L, et al. Coronavirus (COVID-19) infection-induced chilblains: A case report with histopathologic findings. JAAD Case Rep. junio de 2020;6(6):489-92.

68. de Masson A, Bouaziz JD, Sulimovic L, Cassius C, Jachiet M, Ionescu MA, et al. Chilblains is a common cutaneous finding during the COVID-19 pandemic: A retrospective nationwide study from France. J Am Acad Dermatol. agosto de 2020;83(2):667-70.

69. Reiter ER, Coelho DH, French E, Costanzo RM, N3C Consortium. COVID-19-Associated Chemosensory Loss Continues to Decline. Otolaryngol--Head Neck Surg Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg. noviembre de 2023;169(5):1386-9.

70. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet Lond Engl. 15 de febrero de 2020;395(10223):497-506.

71. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. JAMA. 17 de marzo de 2020;323(11):1061-9.

72. Guan W jie, Ni Z yi, Hu Y, Liang W hua, Ou C quan, He J xing, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. N Engl J Med. 30 de abril de 2020;382(18):1708-20.

73. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, HCA Lung Biological Network. SARS-CoV-2 Entry Genes Are Most Highly Expressed in Nasal Goblet and Ciliated Cells within Human Airways. ArXiv. 13 de marzo de 2020;

74. Moll M, Zon RL, Sylvester KW, Chen EC, Cheng V, Connell NT, et al. VTE in ICU Patients With COVID-19. Chest. noviembre de 2020;158(5):2130-5.

75. Bilaloglu S, Aphinyanaphongs Y, Jones S, Iturrate E, Hochman J, Berger JS. Thrombosis in Hospitalized Patients With COVID-19 in a New York City Health System. JAMA. 25 de agosto de 2020;324(8):799-801.

76. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. Intensive Care Med. junio de 2020;46(6):1089-98.

77. Katsoularis I, Fonseca-Rodríguez O, Farrington P, Jerndal H, Lundevaller EH, Sund M, et al. Risks of deep vein thrombosis, pulmonary embolism, and bleeding after covid-19: nationwide self-controlled cases series and matched cohort study. BMJ. 6 de abril de 2022;377:e069590.

78. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. BMJ. 26 de marzo de 2020;368:m1091.

79. Arentz M, Yim E, Klaff L, Lokhandwala S, Riedo FX, Chong M, et al. Characteristics and Outcomes of 21 Critically Ill Patients With COVID-19 in Washington State. JAMA. 28 de abril de 2020;323(16):1612-4.

80. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, Ruiz L, Invernizzi P, Cuzzoni MG, et al. Guillain–Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. N Engl J Med. 25 de junio de 2020;382(26):2574-6.

81. Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, Martelli L, Ruggeri M, Ciuffreda M, et al. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. 2020;395.

82. Douaud G, Lee S, Alfaro-Almagro F, Arthofer C, Wang C, McCarthy P, et al. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank. Nature. abril de 2022;604(7907):697-707.

83. Hanson BA, Visvabharathy L, Ali ST, Kang AK, Patel TR, Clark JR, et al. Plasma Biomarkers of Neuropathogenesis in Hospitalized Patients With COVID-19 and Those With Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection. Neurol Neuroimmunol Neuroinflammation. mayo de 2022;9(3):e1151.

84. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, Ranganathan N, Skolimowska K, Gilchrist M, et al. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 3 de diciembre de 2020;71(9):2459-68.

85. Sepulveda J, Westblade LF, Whittier S, Satlin MJ, Greendyke WG, Aaron JG, et al. Bacteremia and Blood Culture Utilization during COVID-19 Surge in New York City. J Clin Microbiol. 23 de julio de 2020;58(8):e00875-20.

86. Kubin CJ, McConville TH, Dietz D, Zucker J, May M, Nelson B, et al. Characterization of Bacterial and Fungal Infections in Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 and Factors Associated With Health Care-Associated Infections. Open Forum Infect Dis. junio de 2021;8(6):ofab201.

87. Musuuza JS, Watson L, Parmasad V, Putman-Buehler N, Christensen L, Safdar N. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: A systematic review and meta-analysis. PloS One. 2021;16(5):e0251170.

88. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, Schenck EJ, Chen R, Jabri A, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. N Engl J Med. 11 de junio de 2020;382(24):2372-4.

89. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. The Lancet. febrero de 2020;395(10223):507-13.

90. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases [Internet]. [citado 22 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501

91. Langa LS, Sallent LV, Díez SR. Interpretación de las pruebas diagnósticas de la COVID-19. FMC - Form Médica Contin En Aten Primaria. marzo de 2021;28(3):167-73.

92. Weissleder R, Lee H, Ko J, Pittet MJ. COVID-19 diagnostics in context. Sci Transl Med. 3 de junio de 2020;12(546):eabc1931.

93. Isolation and Precautions for People with COVID-19 | CDC [Internet]. [citado 22 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/isolation.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fyour-health%2Fquarantine-isolation.html

94. Cheng MP, Yansouni CP, Basta NE, Desjardins M, Kanjilal S, Paquette K, et al. Serodiagnostics for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus 2: A Narrative Review. Ann Intern Med. 15 de septiembre de 2020;173(6):450-60.

95. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing | CDC [Internet]. [citado 22 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing/antibody-tests-guidelines.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Flab%2Fresources%2Fantibody-tests-guidelines.html

96. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. N Engl J Med. 29 de octubre de 2020;383(18):1724-34.

97. Isho B, Abe KT, Zuo M, Jamal AJ, Rathod B, Wang JH, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. Sci Immunol. 8 de octubre de 2020;5(52):eabe5511.

98. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus 2: A Narrative Review. Ann Intern Med. 2 de junio de 2020;172(11):726-34.

99. Wong HYF, Lam HYS, Fong AHT, Leung ST, Chin TWY, Lo CSY, et al. Frequency and Distribution of Chest Radiographic Findings in Patients Positive for COVID-19. Radiology. agosto de 2020;296(2):E72-8.

100. Pan F, Ye T, Sun P, Gui S, Liang B, Li L, et al. Time Course of Lung Changes at Chest CT during Recovery from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Radiology. junio de 2020;295(3):715-21.

101. Bernheim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayad ZA, Zhang N, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. Radiology. junio de 2020;295(3):200463.

102. Islam N, Ebrahimzadeh S, Salameh JP, Kazi S, Fabiano N, Treanor L, et al. Thoracic imaging tests for the diagnosis of COVID-19. Cochrane Infectious Diseases Group, editor. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 16 de marzo de 2021 [citado 21 de febrero de 2023];2021(3). Disponible en: http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD013639.pub4

103. Abrams ER, Rose G, Fields JM, Esener D. Point-of-Care Ultrasound in the Evaluation of COVID-19. J Emerg Med. septiembre de 2020;59(3):403-8.

104. Peng QY, Wang XT, Zhang LN, Chinese Critical Care Ultrasound Study Group (CCUSG). Findings of lung ultrasonography of novel corona virus pneumonia during the 2019-2020 epidemic. Intensive Care Med. mayo de 2020;46(5):849-50.

105. Bar S, Lecourtois A, Diouf M, Goldberg E, Bourbon C, Arnaud E, et al. The association of lung ultrasound images with COVID-19 infection in an emergency room cohort. Anaesthesia. diciembre de 2020;75(12):1620-5.

106. ACR Recommendations for the use of Chest Radiography and Computed Tomography (CT) for Suspected COVID-19 Infection | American College of Radiology [Internet]. [citado 21 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.acr.org/Advocacy-and-Economics/ACR-Position-Statements/Recommendations-for-Chest-Radiography-and-CT-for-Suspected-COVID19-Infection

107. García-Matarín L, Velilla-Zancada S, Trillo-Calvo E, Molina-Escribano F, Serrano-Cumplido A. Fármacos potencialmente útiles en el tratamiento de la COVID-19 en Atención Primaria. Med Fam SEMERGEN. julio de 2021;S1138359321002215.

108. Nonhospitalized Adults: Therapeutic Management | COVID-19 Treatment Guidelines [Internet]. [citado 22 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/management/clinical-management-of-adults/nonhospitalized-adults--therapeutic-management/

109. Tsay SV, Bartoces M, Gouin K, Kabbani S, Hicks LA. Antibiotic Prescriptions Associated With COVID-19 Outpatient Visits Among Medicare Beneficiaries, April 2020 to April 2021. JAMA. 24 de mayo de 2022;327(20):2018-9.

110. Takashita E, Yamayoshi S, Simon V, van Bakel H, Sordillo EM, Pekosz A, et al. Efficacy of Antibodies and Antiviral Drugs against Omicron BA.2.12.1, BA.4, and BA.5 Subvariants. N Engl J Med. 4 de agosto de 2022;387(5):468-70.

111. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines.

112. The RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. N Engl J Med. 25 de febrero de 2021;384(8):693-704.

113. Clemency BM, Varughese R, Gonzalez-Rojas Y, Morse CG, Phipatanakul W, Koster DJ, et al. Efficacy of Inhaled Ciclesonide for Outpatient Treatment of Adolescents and Adults With Symptomatic COVID-19. JAMA Intern Med. enero de 2022;182(1):1-9.

114. Li M, Beck EJ, Laeyendecker O, Eby Y, Tobian AAR, Caturegli P, et al. Convalescent plasma with a high level of virus-specific antibody effectively neutralizes SARS-CoV-2 variants of concern. Blood Adv. 28 de junio de 2022;6(12):3678-83.

115. Antithrombotic Therapy | COVID-19 Treatment Guidelines [Internet]. [citado 22 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/antithrombotic-therapy/

116. Reis G, dos Santos Moreira Silva EA, Medeiros Silva DC, Thabane L, Cruz Milagres A, Ferreira TS, et al. Effect of early treatment with metformin on risk of emergency care and hospitalization among patients with COVID-19: The TOGETHER randomized platform clinical trial. Lancet Reg Health - Am. febrero de 2022;6:100142.

117. López-Medrano F, Pérez-Jacoiste Asín MA, Fernández-Ruiz M, Carretero O, Lalueza A, Maestro de la Calle G, et al. Combination therapy with tocilizumab and corticosteroids for aged patients with severe COVID-19 pneumonia: A single-center retrospective study. Int J Infect Dis. abril de 2021;105:487-94.

118. Chen P, Nirula A, Heller B, Gottlieb RL, Boscia J, Morris J, et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. N Engl J Med. 21 de enero de 2021;384(3):229-37.

119. Weinreich DM, Sivapalasingam S, Norton T, Ali S, Gao H, Bhore R, et al. REGEN-COV Antibody Combination and Outcomes in Outpatients with Covid-19. N Engl J Med. 2 de diciembre de 2021;385(23):e81.

120. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2021 [citado 8 de diciembre de 2021]. Diferentes vacunas contra el COVID-19. Disponible en: https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines.html

121. Vacunación COVID-19 Gobierno de España [Internet]. [citado 8 de diciembre de 2021]. Vacunación COVID-19 Gobierno de España. Disponible en: https://www.vacunacovid.gob.es/homepage

122. ¿Qué vacunas tendremos disponibles en España? | Vacunación COVID-19 Gobierno de España [Internet]. [citado 8 de agosto de 2024]. Disponible en: http://www.vacunacovid.gob.es/preguntas-y-respuestas/que-vacunas-tendremos-disponibles-en-espana

123. Ahmad FB, Cisewski JA, Xu J, Anderson RN. COVID-19 Mortality Update - United States, 2022. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 5 de mayo de 2023;72(18):493-6.

124. Barber RM, Sorensen RJD, Pigott DM, Bisignano C, Carter A, Amlag JO, et al. Estimating global, regional, and national daily and cumulative infections with SARS-CoV-2 through Nov 14, 2021: a statistical analysis. The Lancet. junio de 2022;399(10344):2351-80.

125. Nab L, Parker EPK, Andrews CD, Hulme WJ, Fisher L, Morley J, et al. Changes in COVID-19-related mortality across key demographic and clinical subgroups in England from 2020 to 2022: a retrospective cohort study using the OpenSAFELY platform. Lancet Public Health. mayo de 2023;8(5):e364-77.

126. Devaux CA, Rolain JM, Raoult D. ACE2 receptor polymorphism: Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome. J Microbiol Immunol Infect. junio de 2020;53(3):425-35.

127. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. Science. 27 de marzo de 2020;367(6485):1444-8.

128. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci. diciembre de 2020;12(1):8.

129. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbano IM, Miao VN, Tzouanas CN, et al. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. Cell. mayo de 2020;181(5):1016-1035.e19.

130. Saheb Sharif-Askari N, Saheb Sharif-Askari F, Alabed M, Temsah MH, Al Heialy S, Hamid Q, et al. Airways Expression of SARS-CoV-2 Receptor, ACE2, and TMPRSS2 Is Lower in Children Than Adults and Increases with Smoking and COPD. Mol Ther - Methods Clin Dev. septiembre de 2020;18:1-6.

131. Kimura H, Francisco D, Conway M, Martinez FD, Vercelli D, Polverino F, et al. Type 2 inflammation modulates ACE2 and TMPRSS2 in airway epithelial cells. J Allergy Clin Immunol. julio de 2020;146(1):80-88.e8.

132. Bertram S, Dijkman R, Habjan M, Heurich A, Gierer S, Glowacka I, et al. TMPRSS2 Activates the Human Coronavirus 229E for Cathepsin-Independent Host Cell Entry and Is Expressed in Viral Target Cells in the Respiratory Epithelium. J Virol. 1 de junio de 2013;87(11):6150-60.

133. News-Medical.net [Internet]. 2020 [citado 11 de diciembre de 2021]. Una mirada más atenta en TMPRSS2: Esto podía ayudar a tratar COVID-19. Disponible en: https://www.news-medical.net/news/20200528/21294/Spanish.aspx

134. Zhang Y, Gao X, Bai X, Yao S, Chang YZ, Gao G. The emerging role of furin in neurodegenerative and neuropsychiatric diseases. Transl Neurodegener. 23 de agosto de 2022;11(1):39.

135. Hypoxia-enhanced Expression of the Proprotein Convertase Furin Is Mediated by Hypoxia-inducible Factor-1 - Journal of Biological Chemistry [Internet]. [citado 23 de

febrero de 2023]. Disponible en: https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)62767-5/fulltext

136. Braun E, Sauter D. Furin-mediated protein processing in infectious diseases and cancer. Clin Transl Immunol [Internet]. enero de 2019 [citado 23 de febrero de 2023];8(8). Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cti2.1073

137. Tissue-based map of the human proteome | Science [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.science.org/doi/10.1126/science.1260419?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed

138. Li D, Liu X, Zhang L, He J, Chen X, Liu S, et al. COVID-19 disease and malignant cancers: The impact for the *furin* gene expression in susceptibility to SARS-CoV-2. Int J Biol Sci. 2021;17(14):3954-67.

139. Kofler N, Simons M. The expanding role of neuropilin: regulation of transforming growth factor-β and platelet-derived growth factor signaling in the vasculature. Curr Opin Hematol. mayo de 2016;23(3):260-7.

140. Guo HF, Vander Kooi CW. Neuropilin Functions as an Essential Cell Surface Receptor. J Biol Chem. diciembre de 2015;290(49):29120-6.

141. Patel AB, Verma A. Nasal ACE2 Levels and COVID-19 in Children. JAMA. 16 de junio de 2020;323(23):2386.

142. Lukassen S, Chua RL, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley T, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. EMBO J [Internet]. 18 de mayo de 2020 [citado 2 de marzo de

2021];39(10). Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.15252/embj.20105114

143. Bunyavanich S, Do A, Vicencio A. Nasal Gene Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Children and Adults. JAMA. 16 de junio de 2020;323(23):2427.

144. Hajikhani B, Calcagno T, Nasiri MJ, Jamshidi P, Dadashi M, Goudarzi M, et al. Olfactory and gustatory dysfunction in COVID-19 patients: A meta-analysis study. Physiol Rep [Internet]. septiembre de 2020 [citado 12 de diciembre de 2021];8(18). Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.14814/phy2.14578

145. Santamaría-Gadea A, Izquierdo-Domínguez A, Mullol J, Alobid I. Disfunción olfatoria en la COVID-19 persistente. Actualización. SEORL. :6.

146. Izquierdo-Domínguez A, Rojas-Lechuga MJ, Mullol J, Alobid I. Pérdida del sentido del olfato durante la pandemia COVID-19. Med Clínica. noviembre de 2020;155(9):403-8.

147. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Hans S, Barillari MR, Jouffe L, Saussez S. Loss of Smell and Taste in 2013 European Patients With Mild to Moderate COVID-19. Ann Intern Med. 20 de octubre de 2020;173(8):672-5.

148. Bilinska K, Jakubowska P, Von Bartheld CS, Butowt R. Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age. ACS Chem Neurosci. 3 de junio de 2020;11(11):1555-62.

149. Divani AA, Andalib S, Di Napoli M, Lattanzi S, Hussain MS, Biller J, et al. Coronavirus Disease 2019 and Stroke: Clinical Manifestations and Pathophysiological Insights. J Stroke Cerebrovasc Dis. agosto de 2020;29(8):104941.

150. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, Djannatian M, Franz J, Kuivanen S, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. Science. 13 de noviembre de 2020;370(6518):856-60.

151. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. Eur Arch Otorhinolaryngol. agosto de 2020;277(8):2251-61.

152. Lechien JR, Ducarme M, Place S, Chiesa-Estomba CM, Khalife M, De Riu G, et al. Objective Olfactory Findings in Hospitalized Severe COVID-19 Patients. Pathogens. 31 de julio de 2020;9(8):627.

153. Hopkins C, Surda P, Whitehead E, Kumar BN. Early recovery following new onset anosmia during the COVID-19 pandemic - an observational cohort study. J Otolaryngol - Head Neck Surg J Oto-Rhino-Laryngol Chir Cervico-Faciale. 4 de mayo de 2020;49(1):26.

154. Brandão Neto D, Fornazieri MA, Dib C, Di Francesco RC, Doty RL, Voegels RL, et al. Chemosensory Dysfunction in COVID-19: Prevalences, Recovery Rates, and Clinical Associations on a Large Brazilian Sample. Otolaryngol Neck Surg. marzo de 2021;164(3):512-8.

155. Vaira LA, Hopkins C, Petrocelli M, Lechien JR, Soma D, Giovanditto F, et al. Do olfactory and gustatory psychophysical scores have prognostic value in COVID-19 patients? A prospective study of 106 patients. J Otolaryngol - Head Neck Surg. diciembre de 2020;49(1):56.

156. Lechien JR, Cabaraux P, Chiesa-Estomba CM, Khalife M, Plzak J, Hans S, et al. Psychophysical Olfactory Tests and Detection of COVID-19 in Patients With Sudden

Onset Olfactory Dysfunction: A Prospective Study. Ear Nose Throat J. noviembre de 2020;99(9):579-83.

157. Politi LS, Salsano E, Grimaldi M. Magnetic Resonance Imaging Alteration of the Brain in a Patient With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Anosmia. JAMA Neurol. 1 de agosto de 2020;77(8):1028.

158. Toledano A, Borromeo S, Luna G, Molina E, Solana AB, García-Polo P, et al. Estudio objetivo del olfato mediante resonancia magnética funcional. Acta Otorrinolaringológica Esp. julio de 2012;63(4):280-5.

159. Kasiri H, Rouhani N, Salehifar E, Ghazaeian M, Fallah S. Mometasone furoate nasal spray in the treatment of patients with COVID-19 olfactory dysfunction: A randomized, double blind clinical trial. Int Immunopharmacol. septiembre de 2021;98:107871.

160. Científica (SIIC) SI de I. CORTICOIDES INTRANASALES PARA LA RECUPERACIÓN DEL SENTIDO DEL OLFATO EN PACIENTES CON COVID-19 [Internet]. [citado 11 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://www.siicsalud.com/dato/resiiccompleto.php/165751

161. Pfaar O, Klimek L, Jutel M, Akdis CA, Bousquet J, Breiteneder H, et al. COVID-19 pandemic: Practical considerations on the organization of an allergy clinic-An EAACI/ARIA Position Paper. Allergy. marzo de 2021;76(3):648-76.

162. Bousquet J, Akdis CA, Jutel M, Bachert C, Klimek L, Agache I, et al. Intranasal corticosteroids in allergic rhinitis in COVID-19 infected patients: An ARIA-EAACI statement. Allergy. octubre de 2020;75(10):2440-4.

163. Chen M, Shen W, Rowan NR, Kulaga H, Hillel A, Ramanathan M, et al. Elevated ACE2 expression in the olfactory neuroepithelium: implications for anosmia and upper respiratory SARS-CoV-2 entry and replication [Internet]. Molecular Biology; 2020 may [citado 2 de marzo de 2021]. Disponible en: http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.05.08.084996

164. Simadibrata DM, Lubis AM. D-dimer levels on admission and all-cause mortality risk in COVID-19 patients: a meta-analysis. Epidemiol Infect. 148:e202.

165. Wu Y, Feng Z, Li P, Yu Q. Relationship between ABO blood group distribution and clinical characteristics in patients with COVID-19. Clin Chim Acta Int J Clin Chem. octubre de 2020;509:220-3.

166. Bernal E, Gimeno L, Alcaraz MJ, Quadeer AA, Moreno M, Martínez-Sánchez MV, et al. Activating Killer-Cell Immunoglobulin-Like Receptors Are Associated With the Severity of Coronavirus Disease 2019. J Infect Dis. 15 de julio de 2021;224(2):229-40.

167. Clinical management of COVID-19 [Internet]. [citado 26 de mayo de 2024]. Disponible en: https://www.who.int/teams/health-care-readiness/covid-19

168. Maechler M, Sn) PR (Qn and, Sn) CC (Qn and, Cov) VT (most robust, Ruckstuhl (nlrob A, anova, et al. robustbase: Basic Robust Statistics [Internet]. 2024 [citado 20 de agosto de 2024]. Disponible en: https://cran.r-project.org/web/packages/robustbase/index.html

169. Buuren S, Groothuis-Oudshoorn C. MICE: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. J Stat Softw. 1 de diciembre de 2011;45.

170. White IR, Royston P, Wood AM. Multiple imputation using chained equations: Issues and guidance for practice. Stat Med. 20 de febrero de 2011;30(4):377-99.

171. Cardesín A, Alobid I, Benítez P, Sierra E, de Haro J, Bernal-Sprekelsen M, et al. Barcelona Smell Test - 24 (BAST-24): validation and smell characteristics in the healthy Spanish population. Rhinology. marzo de 2006;44(1):83-9.

172. Gusev E, Sarapultsev A, Solomatina L, Chereshnev V. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19. Int J Mol Sci. 2 de febrero de 2022;23(3):1716.

173. Pringle KG, Philp LK. Impact of ACE2 on the susceptibility and vulnerability to COVID-19. J Endocrinol. 1 de septiembre de 2023;258(3):e220262.

174. Lechien JR, Radulesco T, Calvo-Henriquez C, Chiesa-Estomba CM, Hans S, Barillari MR, et al. ACE2 & TMPRSS2 Expressions in Head & Neck Tissues: A Systematic Review. Head Neck Pathol. 20 de agosto de 2020;15(1):225-35.

175. Afiadenyo M, Adams L, Agoni C, Moane S, Mckeon-Bennett M, Obiri-Yeboah D, et al. Computational Screening of Neuropilin-1 Unveils Novel Potential Anti-SARS-CoV-2 Therapeutics. Chem Biodivers. diciembre de 2023;20(12):e202301227.

176. Chekol Abebe E, Mengie Ayele T, Tilahun Muche Z, Asmamaw Dejenie T. Neuropilin 1: A Novel Entry Factor for SARS-CoV-2 Infection and a Potential Therapeutic Target. Biol Targets Ther. 6 de mayo de 2021;15:143-52.

177. Kakavandi S, Zare I, VaezJalali M, Dadashi M, Azarian M, Akbari A, et al. Structural and non-structural proteins in SARS-CoV-2: potential aspects to COVID-19 treatment or prevention of progression of related diseases. Cell Commun Signal CCS. 15 de mayo de 2023;21(1):110.

178. Doty RL. Olfactory dysfunction in COVID-19: pathology and long-term implications for brain health. Trends Mol Med. septiembre de 2022;28(9):781-94.

179. Brann DH, Tsukahara T, Weinreb C, Lipovsek M, Van den Berge K, Gong B, et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. Sci Adv. 31 de julio de 2020;6(31):eabc5801.

180. Doyle ME, Appleton A, Liu QR, Yao Q, Mazucanti CH, Egan JM. Human Taste Cells Express ACE2: a Portal for SARS-CoV-2 Infection. bioRxiv. 21 de abril de 2021;2021.04.21.440680.

181. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. 16 de abril de 2020;181(2):271-280.e8.

182. Heurich A, Hofmann-Winkler H, Gierer S, Liepold T, Jahn O, Pöhlmann S. TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. J Virol. enero de 2014;88(2):1293-307.

183. Tong JY, Wong A, Zhu D, Fastenberg JH, Tham T. The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. Otolaryngol Neck Surg. julio de 2020;163(1):3-11.

184. Lima MA, Silva MTT, Oliveira RV, Soares CN, Takano CL, Azevedo AE, et al. Smell dysfunction in COVID-19 patients: More than a yes-no question. J Neurol Sci. 15 de noviembre de 2020;418:117107.

185. Samaranayake LP, Fakhruddin KS, Panduwawala C. Sudden onset, acute loss of taste and smell in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review. Acta Odontol Scand. 17 de agosto de 2020;78(6):467-73.

186. Cavazzana A, Larsson M, Münch M, Hähner A, Hummel T. Postinfectious olfactory loss: A retrospective study on 791 patients. The Laryngoscope. enero de 2018;128(1):10-5.

187. Agyeman AA, Chin KL, Landersdorfer CB, Liew D, Ofori-Asenso R. Smell and Taste Dysfunction in Patients With COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. Mayo Clin Proc. agosto de 2020;95(8):1621-31.

188. Costa KVT da, Carnaúba ATL, Rocha KW, Andrade KCL de, Ferreira SMS, Menezes P de L. Olfactory and taste disorders in COVID-19: a systematic review. Braz J Otorhinolaryngol. 2020;86(6):781-92.

189. Porta-Etessam J, Núñez-Gil IJ, González García N, Fernandez-Perez C, Viana-Llamas MC, Eid CM, et al. COVID-19 anosmia and gustatory symptoms as a prognosis factor: a subanalysis of the HOPE COVID-19 (Health Outcome Predictive Evaluation for COVID-19) registry. Infection. 2021;49(4):677-84.

190. Yan CH, Faraji F, Prajapati DP, Boone CE, DeConde AS. Association of chemosensory dysfunction and COVID-19 in patients presenting with influenza-like symptoms. Int Forum Allergy Rhinol. julio de 2020;10(7):806-13.

191. Yan CH, Faraji F, Prajapati DP, Ostrander BT, DeConde AS. Self-reported olfactory loss associates with outpatient clinical course in COVID-19. Int Forum Allergy Rhinol. julio de 2020;10(7):821-31.

192. Meng X, Deng Y, Dai Z, Meng Z. COVID-19 and anosmia: A review based on up-to-date knowledge. Am J Otolaryngol. 2020;41(5):102581.

193. Vaira LA, Hopkins C, Petrocelli M, Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Salzano G, et al. Smell and taste recovery in coronavirus disease 2019 patients: a 60-day objective and prospective study. J Laryngol Otol. agosto de 2020;134(8):703-9.

194. Printza A, Katotomichelakis M, Valsamidis K, Metallidis S, Panagopoulos P, Panopoulou M, et al. Smell and Taste Loss Recovery Time in COVID-19 Patients and Disease Severity. J Clin Med. 2 de marzo de 2021;10(5):966.

195. Rojas-Lechuga MJ, Izquierdo-Domínguez A, Chiesa-Estomba C, Calvo-Henríquez C, Villarreal IM, Cuesta-Chasco G, et al. Chemosensory dysfunction in COVID-19 out-patients. Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg. marzo de 2021;278(3):695-702.

196. Mendes NF, Jara CP, Mansour E, Araújo EP, Velloso LA. Asthma and COVID-19: a systematic review. Allergy Asthma Clin Immunol Off J Can Soc Allergy Clin Immunol. 6 de enero de 2021;17(1):5.

197. Morawska L, Milton DK. It is Time to Address Airborne Transmission of. :9.

198. Efectividad_VacunacionCOVID-19_Espana.pdf [Internet]. [citado 8 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/covid19/docs/Efectividad_VacunacionCOVID-19_Espana.pdf

199. Novoa Jurado AJ, Abellán JM. Aspectos cognitivos, éticos, sociales y políticos en la evaluación de riesgos: a propósito de las vacunas contra el SARS-CoV-2. Gac Sanit. julio de 2021;S0213911121001357.

200. Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. Curr Biol. abril de 2020;30(7):1346-1351.e2.

201. Yin X, Riva L, Pu Y, Martin-Sancho L, Kanamune J, Yamamoto Y, et al. MDA5 Governs the Innate Immune Response to SARS-CoV-2 in Lung Epithelial Cells. SSRN Electron J [Internet]. 2020 [citado 2 de marzo de 2021]; Disponible en: https://www.ssrn.com/abstract=3682826

202. Sajuthi SP, DeFord P, Jackson ND, Montgomery MT, Everman JL, Rios CL, et al. Type 2 and interferon inflammation strongly regulate SARS-CoV-2 related gene expression in the airway epithelium [Internet]. Genomics; 2020 abr [citado 2 de marzo de 2021]. Disponible en: http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.04.09.034454

203. Butowt R, Bilinska K. SARS-CoV-2: Olfaction, Brain Infection, and the Urgent Need for Clinical Samples Allowing Earlier Virus Detection. ACS Chem Neurosci. 6 de mayo de 2020;11(9):1200-3.

204. Guillamón CF, Martínez-Sánchez MV, Gimeno L, Mrowiec A, Martínez-García J, Server-Pastor G, et al. NK Cell Education in Tumor Immune Surveillance: DNAM-1/KIR Receptor Ratios as Predictive Biomarkers for Solid Tumor Outcome. Cancer Immunol Res. 1 de diciembre de 2018;6(12):1537-47.

205. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. Cell. junio de 2020;181(7):1489-1501.e15.

206. Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. Cell. enero de 2021;184(1):169-183.e17.

207. Crawford KHD, Dingens AS, Eguia R, Wolf CR, Wilcox N, Logue JK, et al. Dynamics of Neutralizing Antibody Titers in the Months After Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. J Infect Dis. 3 de febrero de 2021;223(2):197-205.

208. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. 2021;

209. Rijkers G, Murk JL, Wintermans B, van Looy B, van den Berge M, Veenemans J, et al. Differences in Antibody Kinetics and Functionality Between Severe and Mild Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infections. J Infect Dis. 14 de septiembre de 2020;222(8):1265-9.

210. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. 28 de mayo de 2020;581(7809):465-9.

211. To KKW, Tsang OTY, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. Lancet Infect Dis. mayo de 2020;20(5):565-74.

212. Venstrom JM, Pittari G, Gooley TA, Chewning JH, Spellman S, Haagenson M, et al. *HLA-C* –Dependent Prevention of Leukemia Relapse by Donor Activating *KIR2DS1*. N Engl J Med. 30 de agosto de 2012;367(9):805-16.

213. Fauriat C, Ivarsson MA, Ljunggren HG, Malmberg KJ, Michaëlsson J. Education of human natural killer cells by activating killer cell immunoglobulin-like receptors. Blood. 11 de febrero de 2010;115(6):1166-74.

214. Ivarsson MA, MichaÃ«lsson J, Fauriat C. Activating Killer Cell Ig-Like Receptors in Health and Disease. Front Immunol [Internet]. 22 de abril de 2014 [citado 23 de febrero de 2023];5. Disponible en: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00184/abstract

215. Pesce S, Carlomagno S, Moretta A, Sivori S, Marcenaro E. Uptake of CCR7 by KIR2DS4 $^{+}$ NK Cells Is Induced upon Recognition of Certain HLA-C Alleles. J Immunol Res. 2015;2015:1-10.

216. Moretta A, Sivori S, Vitale M, Pende D, Morelli L, Augugliaro R, Bottino C, Moretta L. Existence of both inhibitory (p58) and activatory (p50) receptors for HLA-C molecules in human natural killer cells. J Exp Med. 1995 Sep 1;182(3):875-84. doi: 10.1084/jem.182.3.875. PMID: 7650491; PMCID: PMC2192157.

217. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells - ScienceDirect [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0161589001001079?via%3Dihub

218. Estimation of the Size of the Alloreactive NK Cell Repertoire: Studies in Individuals Homozygous for the Group A KIR Haplotype1 | The Journal of Immunology | American Association of Immunologists [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://journals.aai.org/jimmunol/article/181/9/6010/78879/Estimation-of-the-Size-of-the-Alloreactive-NK-Cell

219. Moretta A, Pende D, Locatelli F, Moretta L. Activating and inhibitory killer immunoglobulin-like receptors (KIR) in haploidentical haemopoietic stem cell transplantation to cure high-risk leukaemias. Clin Exp Immunol. 27 de julio de 2009;157(3):325-31.

220. Synergistic Polymorphism at Two Positions Distal to the Ligand-Binding Site Makes KIR2DL2 a Stronger Receptor for HLA-C Than KIR2DL31 | The Journal of Immunology | American Association of Immunologists [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://journals.aai.org/jimmunol/article/180/6/3969/75971/Synergistic-Polymorphism-at-Two-Positions-Distal

221. MHC class I molecules and kirs in human history, health and survival | Nature Reviews Immunology [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.nature.com/articles/nri1570

222. The genomic context of natural killer receptor extended gene families - Trowsdale - 2001 - Immunological Reviews - Wiley Online Library [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-065X.2001.1810102.x?sid=nlm%3Apubmed

223. KIR: Diverse, Rapidly Evolving Receptors of Innate and Adaptive Immunity | Annual Review of Immunology [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.immunol.20.092501.134942

224. The HLA System | NEJM [Internet]. [citado 23 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM200009143431106?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed

225. Campoli M, Ferrone S. HLA antigen and NK cell activating ligand expression in malignant cells: a story of loss or acquisition. Semin Immunopathol. julio de 2011;33(4):321-34.

226. Pandya PH, Murray ME, Pollok KE, Renbarger JL. The Immune System in Cancer Pathogenesis: Potential Therapeutic Approaches. J Immunol Res. 2016;2016:1-13.

227. Clemency BM, Varughese R, Gonzalez-Rojas Y, Morse CG, Phipatanakul W, Koster DJ, Blaiss MS. Efficacy of Inhaled Ciclesonide for Outpatient Treatment of Adolescents and Adults With Symptomatic COVID-19: A Randomized Clinical Trial. JAMA Intern Med. 2022 Jan 1;182(1):42-49. doi: 10.1001/jamainternmed.2021.6759. PMID: 34807241; PMCID: PMC8609464.

228. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. Ann Intern Med. enero de 2021;174(1):69-79.

229. 56. It Is Time to Address Airborne Transmission of COVID-19.pdf.

230. Lee JC, Nallani R, Cass L, Bhalla V, Chiu AG, Villwock JA. A Systematic Review of the Neuropathologic Findings of Post-Viral Olfactory Dysfunction: Implications and Novel Insight for the COVID-19 Pandemic. Am J Rhinol Allergy. mayo de 2021;35(3):323-33.

231. Vaira LA, Hopkins C, Petrocelli M, Lechien JR, Soma D, Giovanditto F, et al. Do olfactory and gustatory psychophysical scores have prognostic value in COVID-19 patients? A prospective study of 106 patients. J Otolaryngol - Head Neck Surg. 6 de agosto de 2020;49:56.

232. Samaranayake LP, Fakhruddin KS, Panduwawala C. Sudden onset, acute loss of taste and smell in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review. Acta Odontol Scand. agosto de 2020;78(6):467-73.

233. Walliczek-Dworschak U, Hummel T. The Human Sense of Olfaction. Facial Plast Surg FPS. agosto de 2017;33(4):396-404.

234. AlJulaih GH, Sharma P, Lasrado S. Anatomy, Head and Neck, Nose Bones. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [citado 24 de julio de 2024]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541117/

235. Lane AP. Nasal anatomy and physiology. Facial Plast Surg Clin N Am. noviembre de 2004;12(4):387-95, v.

236. Salazar I, Sanchez-Quinteiro P, Barrios AW, López Amado M, Vega JA. Anatomy of the olfactory mucosa. Handb Clin Neurol. 2019;164:47-65. doi: 10.1016/B978-0-444-63855-7.00004-6. PMID: 31604563.

237. Fuentes A, Fresno MJ, Santander H, Valenzuela S, Gutiérrez MF, Miralles R. Sensopercepción olfatoria: una revisión. Rev Médica Chile. marzo de 2011;139(3):362-7.

238. Zelano C, Sobel N. Humans as an animal model for systems-level organization of olfaction. Neuron. 3 de noviembre de 2005;48(3):431-54.

239. Rolls ET. The functions of the orbitofrontal cortex. Brain Cogn. junio de 2004;55(1):11-29.

240. Courtiol E, Wilson DA. The olfactory thalamus: unanswered questions about the role of the mediodorsal thalamic nucleus in olfaction. Front Neural Circuits. 2015;9:49.

241. Parma V, Ohla K, Veldhuizen MG, Niv MY, Kelly CE, Bakke AJ, et al. More Than Smell-COVID-19 Is Associated With Severe Impairment of Smell, Taste, and Chemesthesis. Chem Senses. 9 de octubre de 2020;45(7):609-22.

242. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. JAMA. 25 de agosto de 2020;324(8):782-93.

243. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. Clin Immunol Orlando Fla. junio de 2020;215:108427.

244. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg. agosto de 2020;277(8):2251-61.

245. Gane SB, Kelly C, Hopkins C. Isolated sudden onset anosmia in COVID-19 infection. A novel syndrome? Rhinology. 1 de junio de 2020;58(3):299-301.

246. Lee Y, Min P, Lee S, Kim SW. Prevalence and Duration of Acute Loss of Smell or Taste in COVID-19 Patients. J Korean Med Sci. 11 de mayo de 2020;35(18):e174.

247. Li YC, Bai WZ, Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. J Med Virol. junio de 2020;92(6):552-5.

248. Chiesa-Estomba CM, Lechien JR, Calvo-Henríquez C, Mayo M, Maldonado B, Maza J, et al. Translation and validation of the short version of the Questionnaire of

Olfactory Disorders-Negative Statements to Spanish. Am J Otolaryngol. 2021;42(1):102775.

249. Langstaff L, Pradhan N, Clark A, Boak D, Salam M, Hummel T, et al. Validation of the olfactory disorders questionnaire for English-speaking patients with olfactory disorders. Clin Otolaryngol Off J ENT-UK Off J Neth Soc Oto-Rhino-Laryngol Cervico-Facial Surg. septiembre de 2019;44(5):715-28.

250. Mattos JL, Schlosser RJ, DeConde AS, Hyer M, Mace JC, Smith TL, et al. Factor analysis of the questionnaire of olfactory disorders in patients with chronic rhinosinusitis. Int Forum Allergy Rhinol. julio de 2018;8(7):777-82.

251. Mattos JL, Edwards C, Schlosser RJ, Hyer M, Mace JC, Smith TL, et al. A brief version of the questionnaire of olfactory disorders in patients with chronic rhinosinusitis. Int Forum Allergy Rhinol. octubre de 2019;9(10):1144-50.

252. Izquierdo-Domínguez A, Rojas-Lechuga MJ, Chiesa-Estomba C, Calvo-Henríquez C, Ninchritz-Becerra E, Soriano-Reixach M, et al. Smell and Taste Dysfunction in COVID-19 Is Associated With Younger Age in Ambulatory Settings: A Multicenter Cross-Sectional Study. J Investig Allergol Clin Immunol. 2020;30(5):346-57.

253. Yan CH, Faraji F, Prajapati DP, Boone CE, DeConde AS. Association of chemosensory dysfunction and COVID-19 in patients presenting with influenza-like symptoms. Int Forum Allergy Rhinol. julio de 2020;10(7):806-13.

254. Alizadehsani R, Alizadeh Sani Z, Behjati M, Roshanzamir Z, Hussain S, Abedini N, et al. Risk factors prediction, clinical outcomes, and mortality in COVID-19 patients. J Med Virol. abril de 2021;93(4):2307-20.

255. Wu Y, Feng Z, Li P, Yu Q. Relationship between ABO blood group distribution and clinical characteristics in patients with COVID-19. Clin Chim Acta Int J Clin Chem. octubre de 2020;509:220-3.