

COVID 19 Y SU IMPACTO EN LA CITOMORFOLOGÍA HEMÁTICA

“UNA DE LAS EPIDEMIAS MÁS IMPORTANTES QUE EXISTE ENTRE LOS ANALISTAS CLÍNICOS ES LA DE NO REALIZAR EXTENDIDOS SANGUÍNEOS”
M. EN H. ENRIQUE DE JESÚS GONZÁLEZ CRUZ

AUTORES

M. en H. Enrique de Jesús González Cruz¹
Q.F.B. Alicia Díaz Contreras²
Q.C. Diego Hazel Gómez Aburto³
Q.C. Fabiola Elizabeth Rivera Rosado³
Q.C. Miguel Ángel de la Cruz Nicolás³

COLABORADORES

Ing. Alejandro Benítez Salazar⁴

COMUNICACIÓN CON LOS AUTORES

1. rensorlaboratorios@yahoo.com.mx
2. dagagomez13@gmail.com

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

1. Responsable del Departamento de Hematología Diagnóstica y Jefatura del Laboratorio Clínico del Centro Estatal de Cancerología “Dr. Miguel Dorantes Mesa”. Calle Aguascalientes No. 100, Col. Aguacatal, Xalapa, Veracruz México. Tel: 012288433596-99, ext. 5170. Catedrático de la Facultad de Bioanálisis de la Universidad Veracruzana; Xalapa, Veracruz, México.
2. Responsable de Tinciones en el Área de hematología, Laboratorio Clínico del Centro Estatal de Cancerología “Dr. Miguel Dorantes Mesa”.
3. Egresados de la Licenciatura en Química Clínica de la Universidad Veracruzana; Xalapa, Veracruz, México.
4. Egresado de Ingeniería en mecatrónica del Instituto Tecnológico Superior de Xalapa.

TÍTULO ABREVIADO

Abbreviated Title

“Covid 19 y su impacto en la citomorfología hemática”.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Bioanálisis Campus Xalapa de la Universidad Veracruzana.
Al Centro Estatal de Cancerología “Dr. Miguel Dorantes Mesa” de Xalapa Veracruz, México.

PALABRAS CLAVE

Keywords

COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavirus, Citomorfología hemática, Laboratorio clínico, Extendido sanguíneo.
COVID-19, SARS-COV-2, Coronavirus, hematic cyt morphology, clinical laboratory, blood smear.

RESUMEN

Summary

La enfermedad se describe como un proceso inflamatorio pulmonar que sobrepasa una simple neumonía de tipo viral, ya que desencadena la activación de diferentes mecanismos de inflamación, tanto local como sistémica e involucra diferentes órganos, produce alteraciones en la coagulación y la inmunidad, sobre todo en el adulto mayor con comorbilidades al incrementar la tasa de mortalidad. Realizar un extendido sanguíneo (1) como parte del estudio de la citometría hemática completa para el análisis morfológico de las células sanguíneas resulta una herramienta de valor pronóstico ya que nos indica la respuesta que se tiene ante el virus y el estadio en que se encuentra esta enfermedad, conocer la morfología más frecuente observada en pacientes con esta patología permite al analista clínico ofrecer un resultado más detallado del estudio para el diagnóstico que se encuentra en curso.

The sickness is defined as a pulmonic inflammatory process that surpasses the effects of a simple viral pneumonia, this triggers numerous inflammatory mechanisms, locally and systemically involving several different organs thus altering coagulation and immunity, this seems especially worrisome for the elderly with comorbidities increasing the mortality rate. To perform a blood smear as a part of the complete hematic cytometry for the morphological analysis of blood cells, prove a valuable prognostic tool since it indicates the response to the virus and the stage in which this disease is found. Knowing the common morphology observed in patients with such a pathology allows the clinical analyst to offer more detailed results for this diagnosis currently develop.

INTRODUCCIÓN

Panorama histórico:

- En diciembre del año 2019, en la ciudad de Wuhan, provincia Hubei (China), se comunicaron una serie de casos con datos clínicos de neumonía de etiología desconocida.
- El 07 de enero de 2020 un grupo de investigadores, mediante el uso de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) y cultivo viral, lograron identificar un nuevo virus, denominado “nuevo coronavirus 2019” (nCoV-2019).
- El 11 de febrero de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) nombró oficialmente la enfermedad desencadenada por nCoV-2019 como “enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19)”.
- El Comité Internacional de Taxonomía de Virus denominó al virus como SARS-CoV-2.
- El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud declara oficialmente el estado de pandemia mundial.

GENERALIDADES DEL SARS-COV-2

Los coronavirus (CoV) constituyen un amplio grupo de virus que pertenecen a la siguiente clasificación taxonómica:

Orden	Nidivirales
Familia	Coronaviridae
Subfamilia	Coronavirinae
Genero	Alphacoronavirus Betacoronavirus Gammacoronavirus Deltacoronavirus

Los CoV son agentes patógenos con distribución mundial, que pueden ser transmitidos a los animales y al hombre (2).

Debido a que los Betacoronavirus son zoonóticos, la vigilancia epidemiológica debería incluir también a los animales, ya que son hospedadores susceptibles.

La transmisión de los Betacoronavirus es animal-humano, pero se ha observado transferencia entre humanos.

Se han identificado 4 especies de CoV capaces de infectar a los humanos.

Betacoronavirus: HCoV-OC43, HCoV-HKU1.

Alfacoronavirus: HCoV-229E y HCoV-NL63 los tres primeros ocasionan enfermedades en las vías respiratorias superiores con manifestaciones clínicas que van de leve a moderada, pueden generar infecciones graves del tracto respiratorio en grupos de edad más jóvenes y adultos mayores o en pacientes inmunosuprimidos; mientras que al HCoV-NL63 se le ha asociado como la principal causa de bronquiolitis en niños (3).

La mutación en las proteínas de la superficie del CoV puede conducir a infecciones graves como el síndrome respiratorio agudo grave (causado por el SARS-CoV) y el síndrome respiratorio del oriente medio (causado por el MERS-CoV).

Los Betacoronavirus SARS-CoV, MERS y SARS-CoV-2 comparten características específicas:

1. Son virus que con anterioridad no habían causado enfermedades en humanos.
2. Sus características clínicas: fiebre elevada, afección pulmonar y mortalidad, supera a las originadas por los virus de la influenza.
3. Los pacientes con comorbilidades tienen un mayor riesgo de complicaciones y muerte.
4. Debido a la atención hospitalaria, el personal de salud constituye un grupo de riesgo para adquirir infecciones por estos agentes patógenos (4).

ESTRUCTURA DEL SARS-CoV-2

Los coronavirus son virus conformados por una única cadena de ARN de polaridad positiva, tienen forma esférica y desde su superficie se proyectan unas proteínas en forma de punta (proteínas “spike”), asemejando una corona solar (de ahí deriva su nombre).

Dos tercios del ARN viral, codifican 16 proteínas no estructurales, cuya función es reorganizar las membranas obtenidas del retículo endoplásmico rugoso en vesículas virales en las que se replica, que dura aproximadamente una semana (5). La parte restante del genoma del virus codifica cuatro proteínas estructurales esenciales:

Proteína Spike (S): proteína glicosilada responsable de la unión y fusión del virus con las membranas celulares. Conformada por dos subunidades: la S1 que determina el grado de tropismo celular por el receptor específico y la S2, que media el proceso de fusión de la membrana celular con el virus (6, 7, 8).

Proteína M: responsable del transporte transmembrana de nutrientes, liberación de la partícula viral y formación de la envoltura viral.

Proteína E: se encuentra en pequeñas cantidades y participa en la producción y maduración de la partícula viral.

Ambas proteínas se encargan del ensamblaje del virus y la formación de las envolturas virales maduras.

Proteína N: forma la nucleocápside helicoidal, necesaria para el empaquetamiento de este durante el ensamblaje y contribuye a los mecanismos de evasión viral.

Además de estas proteínas estructurales, SARS-CoV-2 posee en su superficie la Hemaglutinina-esterasa (HE) proteína que se fija a residuos de ácido siálico en la membrana plasmática de la célula huésped y la esterasa hidroliza grupos acetilo. Potencia el ingreso a las células huésped y la patogénesis de los coronavirus (8).

Una vez completado el ingreso al citoplasma, la nucleocápside del virus se libera y permite la salida del ARN genómico viral (9). Una vez allí, la traducción del extremo 5' del ARN viral produce la ARN-polimerasa dependiente de ARN. Esta polimerasa utiliza el ARN viral como plantilla para generar ARN mensajeros (ARNm) específicos del virus a partir de cadenas subgenómicas negativas intermediarias. La traducción de los ARNm subgenómicos genera proteínas virales estructurales y no estructurales. Cuando se han producido suficientes proteínas virales estructurales y ARN

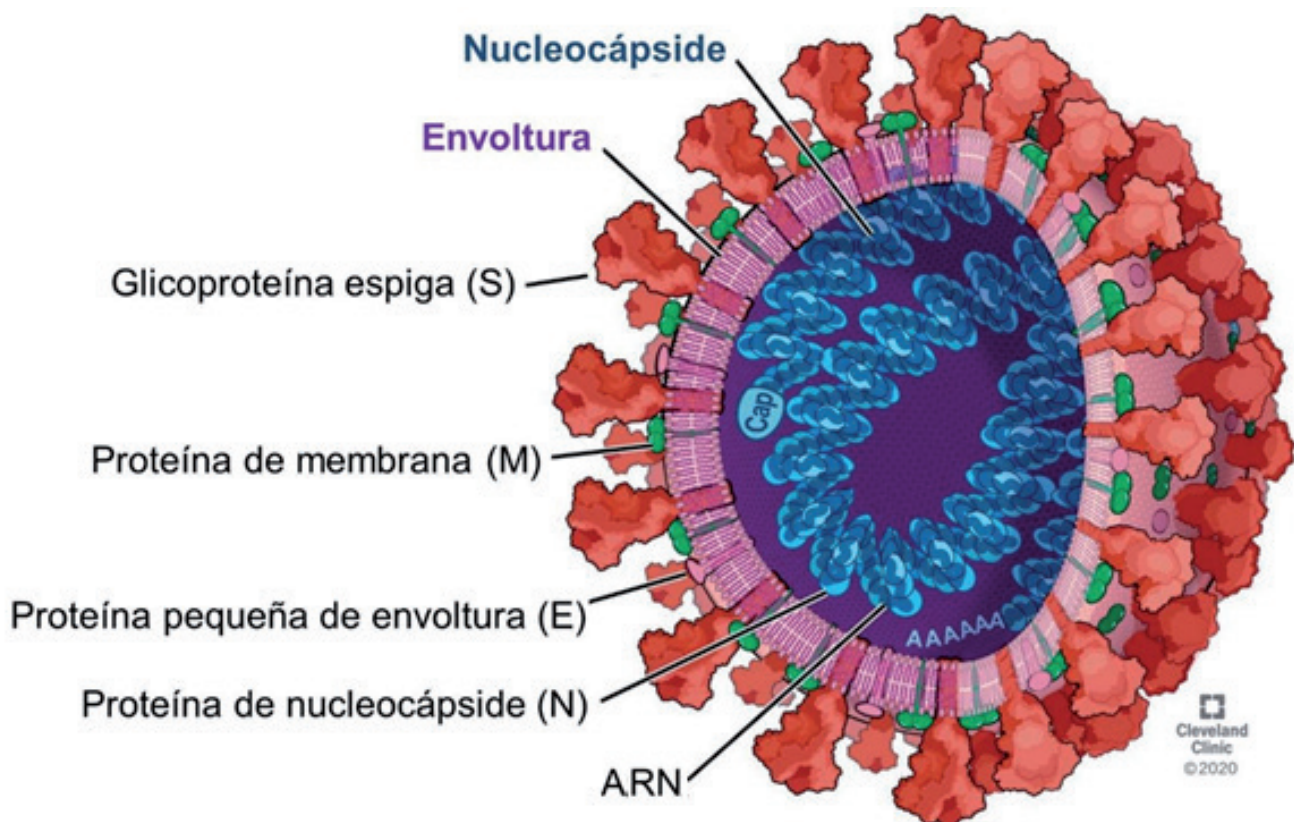


Figura 1.
Estructura del coronavirus SARS-CoV2 (Modificado) (16)

viral se combinan para formar los viriones. Las partículas virales recién formadas entonces brotan dentro del compartimento intermedio del retículo endoplásmico-Golgi.

De este compartimento, las vesículas que contienen los viriones emergen y migran hacia la membrana plasmática celular. Las partículas virales son liberadas por la célula y proceden a infectar nuevas células, en un ciclo repetitivo que culmina con la recuperación o con la muerte del paciente (10, 11).

RESPUESTA INMUNOLÓGICA

Inmunidad innata

La respuesta inmune innata ocurre *in situ*. Las células del sistema inmune innato se trasladan a los ganglios linfáticos regionales, o localizados dentro del mismo epitelio respiratorio, donde mediante sus receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) identifican moléculas intrínsecas presentes en los patógenos, es decir, a los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Los receptores involucrados en el reconocimiento viral son principalmente los receptores tipo Toll (TLR) de los cuales los TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 se asocian con el reconocimiento de los PAMPs de SARS-CoV-2 (11). La vía de señalización de los TLR induce en la célula infectada la producción de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la interleucina-6 (IL-6), las cuales activan el endotelio para atraer a células del sistema inmune adaptativo. La producción de interferones de tipo inflamatorio o tipo I (α y β) es importante frente a la respuesta anti-viral, ya que suprimen la replicación y diseminación viral en etapas tempranas.

Inmunidad adaptativa

Tras la opsonización, los macrófagos fagocitan a las células muertas por la infección viral, posteriormente estos expresan en su superficie marcadores de activación (moléculas del MHC-II), viajan por los capilares linfáticos a los ganglios linfáticos cercanos para llevar a cabo la sinapsis inmunológica con los linfocitos T *helper* (LTh) en la que ocurre una presentación antigénica mediante su receptor (TCR) el cual reconoce los péptidos del virus. Cuando los LTh reciben las señales adecuadas (reconocimiento de péptido y señales de coestimulación en el macrófago) se activan y empiezan a proliferar y a producir diferentes patrones de citocinas.

Si en el microambiente donde se lleva a cabo la presentación del antígeno existen muchas

citocinas proinflamatorias, el linfocito Th se diferencia como Th1 y produce grandes cantidades de interleucina-2 (IL-2) e interferón gamma (IFN- γ) que estimulan a los linfocitos NK (*Natural Killer*) y linfocitos citotóxicos (CD8+) para llevar a cabo la citotoxicidad y muerte por apoptosis de las células infectadas por el virus.

Al activarse la respuesta inmune en el ganglio, existen citocinas (IL-4, IL-6, IL-10, IL-13) que favorecen la diferenciación de algunos LTh hacia Th2. Estos producen más IL-4 e IL-10 que, en conjunto con el IFN- γ de los LTh1, favorecen que los linfocitos B que reconozcan antígenos virales produzcan anticuerpos IgG, los cuales evitarán la viremia y generarán protección a largo plazo.

La producción de IgA en la mucosa respiratoria es importante porque evitará la adherencia del SARS-CoV-2 a su receptor Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ACE2), en caso de volver a tener contacto con el virus en el futuro.

FISIOPATOLOGÍA

El receptor principal del SARS-CoV-2 es ACE2, este se halla en diversos tipos celulares, como las células epiteliales bronquiales no ciliadas, otras epiteliales de vías respiratorias altas, las epiteliales alveolares, células endoteliales de los vasos sanguíneos a este nivel, en el miocardio, riñones, hígado y sistema nervioso central.

El virus penetra en el cuerpo a través de la inhalación de partículas contaminantes, principalmente gotitas y aerosoles de pacientes infectados, que primero se aloja en el tracto respiratorio superior y luego llega a los pulmones. Infecta principalmente células epiteliales de la faringe, laringe, alvéolos, macrófagos alveolares y células endoteliales (12).

El mecanismo de invasión surge tras el reconocimiento celular entre el virus y el receptor ACE2 expresado en los neumocitos tipo II y las células epiteliales ciliadas. La subunidad 1 de la proteína S interacciona y se une al receptor ACE2 por medio del dominio de unión al receptor (RBD), mientras que la subunidad 2 determina la fusión de la envoltura vírica con la membrana de la célula huésped (13).

Para que el virus complete la entrada en la célula hospedadora, la proteína S debe ser escindida por la enzima proteasa de serina transmembrana tipo 2 (TMPRSS2). La escisión de la proteína S ocurre en 2 diferentes posiciones de la subunidad S2, esto contribuye a la separación de la unión RBD de la subunidad

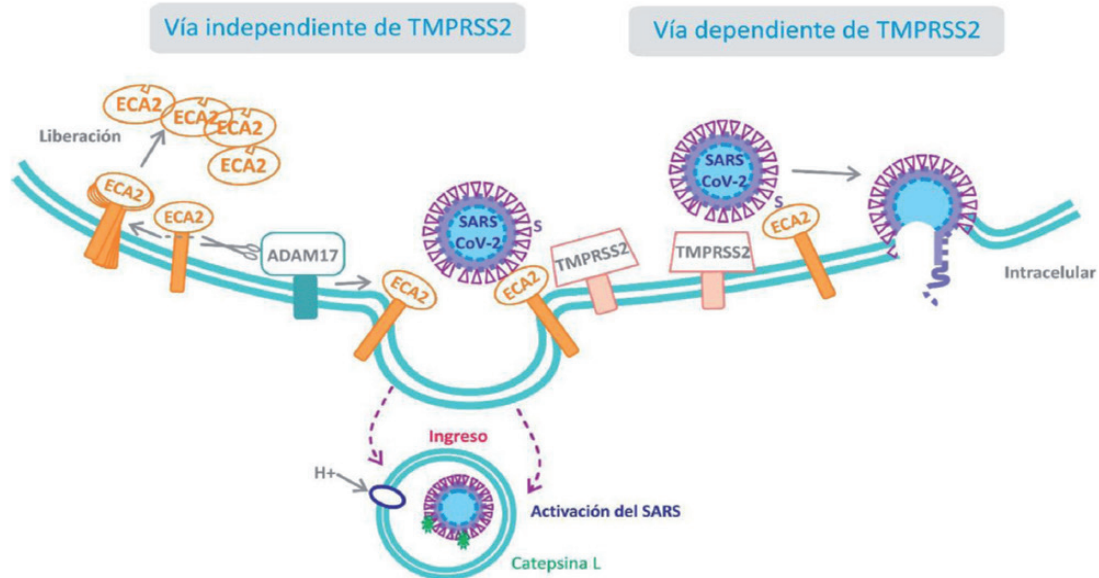


Figura 2.

Esquema de las 2 vías de invasión del virus SARS-CoV-2 a la célula huésped. ADAM17: Proteína transmembrana disintegrina y metaloproteasa 17; ACE2: Enzima convertidora de angiotensina 2; TMPRSS2: Serina-proteasa transmembrana tipo II. (13)

S1 con el receptor ACE2 y a la posterior fusión de las membranas, facilitando así, la entrada del virus mediante endocitosis (14).

En las células huésped que no expresan TMPRSS2, existe una vía de entrada alternativa, en la que el virus utiliza proteasas endosomales: Catepsina B y L (dependiente de pH) para el cebado de la proteína S. Después de la interacción Proteína S-ACE2 y la fusión de la membrana, el virus ingresa a la célula utilizando el compartimento endosómico junto con el receptor ACE2. Este endosoma temprano se convierte en un endosoma tardío y se fusiona con un lisosoma para formar un endolisosoma. En este momento, el virus abandona el endolisosoma y llega al citoplasma (15).

Durante la fase aguda de la enfermedad se produce la liberación de citoquinas y quimiocinas responsables del efecto patogénico, la inundación de estos productos químicos desencadena lo que se conoce como "tormenta de citoquinas".

Alteraciones provocadas

Nivel orgánico/sistémico

Las implicaciones funcionales del Síndrome de Distress Respiratorio Agudo (SDRA) en la enfermedad COVID-19 incluye un empeoramiento progresivo de los desequilibrios

de ventilación/perfusión y una pérdida de reflejos de vasoconstricción hipóxica, con un componente marcado de trombosis pulmonar microvascular, como lo sugieren las elevaciones de lactato deshidrogenasa, la proteína C reactiva y el dímero D.

Existe un factor de riesgo muy importante de infección bacteriana secundaria que se produce generalmente con los días de evolución, sobre todo en los pacientes ventilados con sepsis que se generaliza y provoca la destrucción de hematíes, ocasionando liberación de hemoglobina con separación del grupo hem y los enlaces capaces de captar el oxígeno, lo que explica la hipoxemia severa sin un daño pulmonar tan evidente en un gran número de casos, aumento del hierro libre (el hierro liberado en la circulación es tan tóxico que causa un poderoso daño oxidativo a los pulmones) y la ferritina. Estos últimos producen graves daños en diferentes órganos.

La ferritina es un reactante de fase aguda, conformada por las subunidades H y L, y la síntesis es inducida por diferentes estímulos inflamatorios, incluidas citoquinas como IL-6. La subunidad H funciona como una molécula inmunomoduladora con funciones proinflamatorias e inmunosupresoras, por lo tanto, concentraciones elevadas de ferritina se asocian significativamente con un mayor riesgo de desarrollar SDRA.

Nivel inmunológico

El daño ocasionado por la activación del complemento, además de causar daño endotelial, se encarga de reclutar leucocitos mediante los fragmentos C3a y C5a del complemento, se da una liberación local de citocinas proinflamatorias IL-1, IL-6, IL-8 e IFN- γ , como resultado, los linfocitos, neutrófilos, monocitos y macrófagos, ejercen sus funciones proinflamatorias ocasionando daño en los tejidos vecinos y el endotelio vascular. La inmunidad innata se afecta, los linfocitos, macrófagos y monocitos son invadidos por las partículas virales, que después de reproducirse terminan destruyendo la célula.

La célula infectada induce la producción de citocinas proinflamatorias, como TNF α e IL-6, esta potente activación de citocinas promueve la apoptosis de los linfocitos y provoca la atrofia de los órganos linfoides, disminuyendo así la regeneración de los linfocitos (linfopenia).

Nivel hemostático

Las citoquinas y quimiocinas son responsables de la respuesta inflamatoria pulmonar, pero también del proceso inflamatorio del endotelio de los vasos sanguíneos.

En la primera es responsable del cuadro de neumonía viral comunicado desde el inicio de los casos, al que se añade con los días la complicación de la sobreinfección bacteriana que lo hace aún más grave.

En los segundos se afecta la microvasculatura con inflamación del endotelio (endotelitis), liberación de más citocinas inflamatorias, producción de fibrina a partir del fibrinógeno, agregación plaquetaria y microtrombosis pulmonar y en otros órganos, también trombosis en grandes vasos. Este nuevo hallazgo sugiere que puede haber una afección a nivel hemostático que es más letal que la propia neumonía viral.

La fisiopatología de la coagulopatía es compleja en estos casos y obedece a la interrelación entre elementos celulares y plasmáticos del sistema hemostático con componentes de la respuesta inmunitaria innata. Induce la producción de citocinas junto con la expresión de factor tisular. El aumento de citocinas puede ser la causa de la inflamación pulmonar y el deterioro del intercambio gaseoso, que a su vez estimularía la fibrinólisis pulmonar y producirá el incremento del dímero D que se detecta en estos casos. Además, el aumento de la

expresión de factor tisular es un importante activador del sistema hemostático. Finalmente, la activación del endotelio, las plaquetas y otros elementos leucocitarios van a producir un desequilibrio en la producción de trombina, con el consiguiente depósito de fibrina que produce una microangiopatía y daño tisular.

El dímero D aumenta por degradación de la fibrina, se produce trombocitopenia, así lo demuestran los primeros resultados de las autopsias que muestran coágulos muy dispersos en múltiples órganos: coágulos de vasos grandes incluida la trombosis venosa profunda (TVP) en las piernas y la embolia pulmonar (EP) en los pulmones, corazón (donde además se produce una miocarditis), coágulos en las arterias que causan accidentes cerebrovasculares; y pequeños coágulos en pequeños vasos sanguíneos en todos los órganos, provocando complicaciones como síndrome de daño multiorgánico, shock y arritmias cardíacas graves.

FASES DEL PROCESO INFECCIOSO CON RESPECTO A LA MORFOLOGÍA HEMATOLÓGICA PRESENTE

Durante el desarrollo natural de la enfermedad, la activación de diferentes mecanismos inmunológicos provocados por la patogenicidad del virus, desencadena la sobreproducción de las diferentes estirpes celulares principalmente de leucocitos, todos los eventos celulares y enzimáticos generados durante el combate de la infección provoca en la celularidad alteraciones de tipo morfológico y en muchos casos cuantitativas, que son indicativos de la gravedad o la fase con la que se cursa en determinado momento.

Es imperativo para el profesional clínico y de laboratorio, establecer los criterios para el análisis de muestras hematológicas provenientes de pacientes con COVID-19, partiendo del entendimiento del proceso infeccioso viral y los mecanismos que este activa, para poder generar resultados de valor pronóstico y monitorizar las alertas que puedan surgir antes de que el paciente presente mayores complicaciones.

La respuesta inmune mediada por células fagocíticas y células NK principalmente, actúan como la primera barrera de defensa que se desarrolla ante la infección e intervienen inmediatamente para contrarrestar la replicación viral.

FASE I - INFECCIÓN TEMPRANA

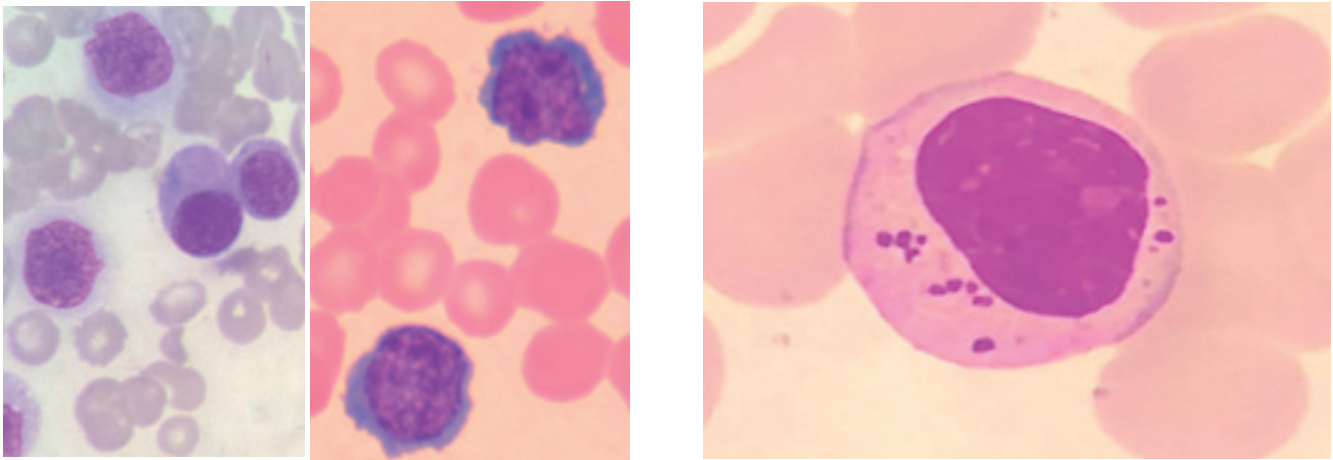


Imagen 1.

En ambas imágenes se observan linfocitos de escaso citoplasma basófilo y de aspecto plasmocitoide con cambios morfológicos visibles que demuestran cambios de activación hacia el linaje de los linfocitos T. Sangre periférica. Tinción de Wright.

Imagen 2.

Se observa célula de tamaño medio a grande, abundante citoplasma que evidencia gránulos azurófilos, cromatina gruesa, morfológicamente corresponde a linfocito NK. Sangre periférica. Tinción Wright.

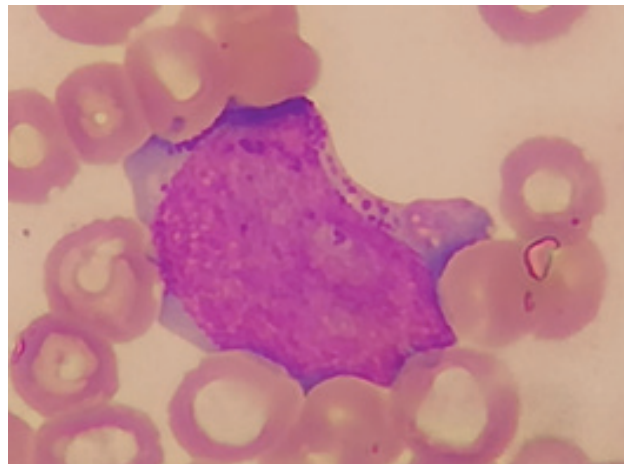


Imagen 3.

Se observa célula de gran tamaño, citoplasma basófilo, cromatina laxa-gruesa, evidencia nucleolos, granulación azurófila, se adosa fácilmente a los eritrocitos y al hacerlo intensifica su basofilia citoplasmica, morfológicamente corresponde a linfocito T activado. Sangre periférica. Tinción de Wright.

FASE I (FASE DE INFECCIÓN TEMPRANA)

Durante el inicio de la infección, en la **Fase I**, el virus se replica en la mucosa respiratoria y ocurre la viremia, cursa con sintomatología leve, los pacientes manifiestan tos seca, fiebre y en algunos casos, vómitos y diarrea; suele aparecer linfopenia. La celularidad correspondiente a esta etapa inicial de la enfermedad es la que conforma la respuesta inmune innata (Imágenes 1 y 2), cuya función es iniciar el reconocimiento del patógeno, desarrollar señalización para el reclutamiento de las células del sistema inmune adaptativo y generar lisis de las células infectadas por el virus.

Linfocitos T activados

Durante la infección producida por el virus se lleva a cabo el renacimiento del mismo a través de mecanismos de presentación antigénica por las células dendríticas en donde, por medio de un proteosoma, extraen un péptido que será reconocido por los linfocitos T mediante su receptor TCR para posteriormente madurar a linfocito T activado (Imagen 3), el cual tendrá una función citotóxica que desencadenará la destrucción de las células infectadas por el SARS-CoV-2 y comenzará a producir INF- γ para la activación de la estirpe monofagocítica.

Neutrofilia

La evolución de la enfermedad aguda a crónica con alteraciones a nivel pulmonar debido a la respuesta hiperinflamatoria provoca una infiltración masiva de neutrófilos en el parénquima pulmonar y como consecuencia un aumento en el recuento de neutrófilos en sangre.

La neutrofilia se asocia con una progresión de la enfermedad, un mayor riesgo de SDRA y la muerte.

FASE II (FASE PULMONAR):

el virus se ha diseminado a nivel pulmonar; continúan la tos y la fiebre; la neumonía puede ser leve o cursar con signos de gravedad (taquipnea, hipoxia); hay una elevación en los valores de dímero-D. A partir de esta fase, la evolución puede ser favorable, con eliminación del virus (detectable por la disminución de la carga viral) y paulatina

desaparición de los síntomas, o el enfermo puede entrar en el estado crítico.

Tras el estudio de la citometría hemática, se evidencia una considerable linfopenia, presencia de linfocitos NK y un aumento considerable de neutrófilos (Imágenes 4, 5 y 6).

Linfocitos granulares NK, cuya función principal es la destrucción del ARN viral, mediante lisosomas secretores:

- Granzimas: estimulan el proceso de apoptosis de las células infectadas.
- Perforinas: perforan la membrana de la célula infectada y generan un canal por el que van a penetrar hacia el citoplasma las granzimas.
- Citoquinas: al activarse las células NK, producen IFN- γ estimulando la activación de macrófagos.

Aumento de neutrófilos

La desregulación inmunitaria asociada a COVID-19 conduce a la producción de neutrófilos, además la neutrofilia puede ser secundaria a una infección bacteriana superpuesta, principalmente en pacientes con enfermedad grave.

En diversos estudios de pacientes hospitalizados con progresión grave de COVID-19, se ha encontrado una relación entre la proporción de neutrófilos a linfocitos (NLR), es decir, la concentración a nivel sanguíneo de estas células es inversamente proporcional, por lo tanto, la NLR se ha utilizado como indicador de pronóstico de la evaluación clínica de los pacientes.

FASE III (FASE HIPERINFLAMATORIA):

La **FASE III**, se caracteriza por extrema dificultad respiratoria (el enfermo requiere respiración asistida) y un cuadro de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS, de "Systemic Inflammatory Response Syndrome"), con su cohorte de signos (paso de fiebre a hipotermia, taquipnea, taquicardia, hipotensión) que puede llegar a un shock séptico (hipotensión refractaria, coagulación intravascular, isquemia en extremidades, fallo multiorgánico); se elevan los marcadores de inflamación (proteínas de fase aguda, ferritina). La respuesta inmunológica es desequilibrada debido a la producción excesiva de citoquinas inflamatorias.

FASE II – FASE PULMONAR
AUMENTO DE LA CELULARIDAD CON RESPECTO A LA FASE ANTERIOR

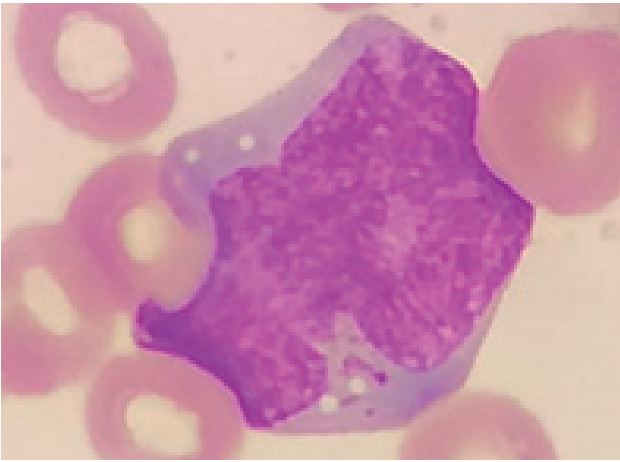


Imagen 4.
Se observa célula de gran tamaño, citoplasma basófilo, cromatina laxa-gruesa, evidencia nucleolos, granulación azurófila, se adosa fácilmente a los eritrocitos y al hacerlo intensifica su basofilia citoplasmica, morfológicamente corresponde a linfocito T activado. Sangre periférica. Tinción de Wright.

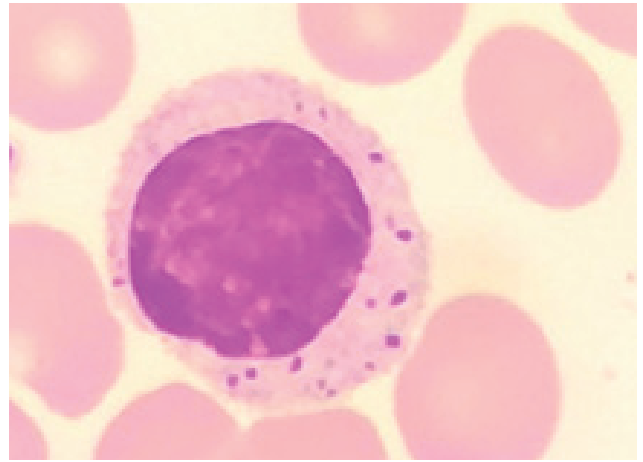


Imagen 5.
Se observa célula de tamaño medio a grande, abundante citoplasma que evidencia gránulos azurófilos, cromatina gruesa, morfológicamente corresponde a linfocito NK. Sangre periférica. Tinción Wright.

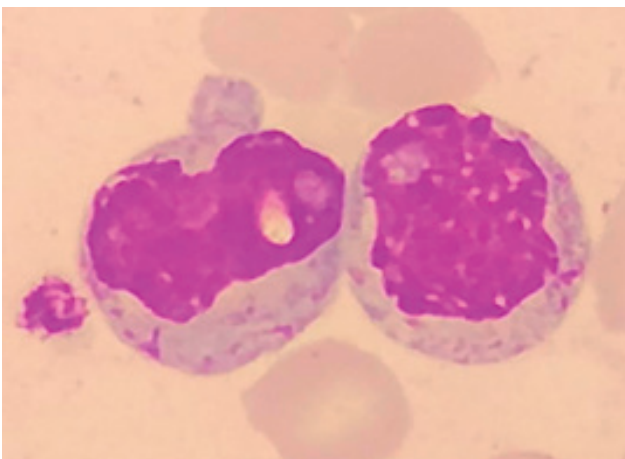


Imagen 6.
Se observa célula de tamaño medio a grande, abundante citoplasma que evidencia gránulos azurófilos, algunos presentan vacuolización citoplásmica, cromatina gruesa, morfológicamente corresponde a linfocito NK. Sangre periférica. Tinción Wright.

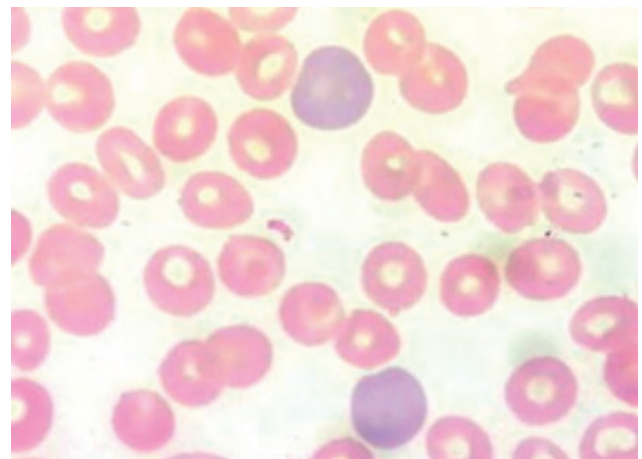


Imagen 7.
Se observa basofilia difusa, y reticulocitos de estrés. Sangre periférica. Tinción de Wright.

La respuesta hiperinflamatoria y la posterior producción de citocinas provocan una infiltración exagerada de neutrófilos, macrófagos y monocitos en el parénquima pulmonar.

Sistema monofagocítico activado

Los monocitos y los macrófagos tienen una participación activa en el proceso infeccioso viral por SARS-CoV-2, ya que son los responsables de fagocitar los restos celulares de las células destruidas por la acción citotóxica de los linfocitos NK y los linfocitos T citotóxicos, la activación monocítica procede de la secreción de INF- γ producido por estas células.

Al activarse los macrófagos liberan citoquinas y otros mediadores químicos, como las quimiocinas IL-8 que inician una respuesta inflamatoria aguda local atrayendo a neutrófilos fagocíticos al lugar de la infección.

Rodamiento del endotelio y movilidad aleatoria

Tras la activación del sistema monofagocítico (Imagen 9), los macrófagos producen TNF- α que activan a las células endoteliales, estas expresan E-selectinas y P-selectinas, proteínas que permiten la adhesión de los neutrófilos al endotelio, disminuyendo su velocidad y haciéndolo rodar sobre el endotelio para migrar al lugar de inflamación tisular.

Los macrófagos producen IL-1 que favorece la movilidad de los neutrófilos, permitiendo la emisión de pseudópodos, lo que facilita su migración a través del espacio extracelular por medio de movimientos repetitivos ameboides hasta el lugar de inflamación.

En el extendido sanguíneo, la movilidad aleatoria se observa morfológicamente como neutrófilos ovoides o citoplasma irregular (Imagen 8).

Los resultados pueden ser variables de acuerdo con el estadio de la enfermedad, sin embargo, se puede encontrar esta celularidad de manera general.

Neutrófilos activados

Como consecuencia del proceso hiperinflamatorio localizado en el pulmón y al daño multiorgánico debido a la "tormenta de citoquinas", los neutrófilos que fueron reclutados a través de las IL-8, IL-1 y TNF- α comienzan su función.

Citomorfolología hemática

En la descripción de nuestro informe clínico podemos resaltar dos aspectos importantes en los resultados con respecto a la morfología celular y al recuento en número de células por mm^3 . La morfología observada corresponde principalmente a pacientes oncológicos con COVID-19.

Serie roja

- Los pacientes pueden cursar con anemia normocítica normocrómica (secundario al proceso inflamatorio agudo).
- Morfología asociada a anemia por aumento en la destrucción por agentes patógenos (en casos graves de septicemia).
- Esquizocitos.
- Poiquilocitos.

Signos de eritropoyesis aumentada:

- Reticulocitos aumentados.
- Reticulocitos de estrés (Imagen 7).
- Basofilia difusa.

Serie blanca

*Monocitos activados (vacuolización citoplásmica y fagocitosis), se encuentran elevados en pacientes con neumonía bacteriana secundaria al proceso inicial del virus.

*Neutrófilos activados (vacuolización citoplásmica).

- Granulación tóxica / granulación azurófila.
- Movilidad aleatoria / hipermotilidad citoplásmica (neutrófilos con morfología de aspecto ovoide).
- Cuerpos de Döhle (estructuras de tamaño pequeño y coloración ligeramente azulada) presentes en la periferia del citoplasma, y que corresponden a restos de retículo endoplásmico rugoso (RER) que no fue degradado a tiempo por la velocidad de producción celular a nivel de la médula ósea derivado de la gran demanda y su pronta salida a la circulación.
- Fases intermedias de maduración "desviación a la izquierda" (por el proceso infeccioso activo que incrementa la sobreproducción e impide que las células maduren de manera adecuada antes de salir a la circulación).
- Pseudo Pelger-Huët (núcleos bilobulados, en forma de gafas) secundario a la patología primaria.

**FASE III – FASE HIPERINFLAMATORIA
CELULARIDAD OBSERVADA DEBIDO AL PROCESO INFECCIOSO VIRAL**

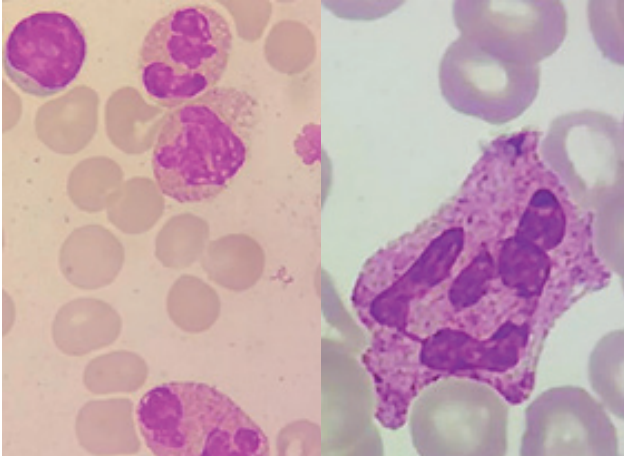


Imagen 8.
A) Neutrófilos activados, morfología de aspecto ovoide, movilidad aleatoria. B). Neutrófilo activado, movilidad aleatoria (hipermotilidad citoplásmica). Sangre periférica. Tinción de Wright.

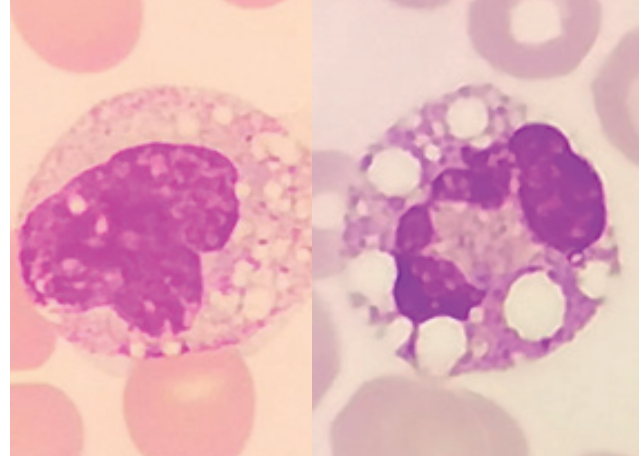


Imagen 9.
A) Monocito con presencia de vacuolización citoplásmica. Indicativo de procesos infecciosos. B) Neutrófilo con presencia de vacuolización citoplásmica. Indicativo de procesos infecciosos. Sangre periférica. Tinción de Wright.

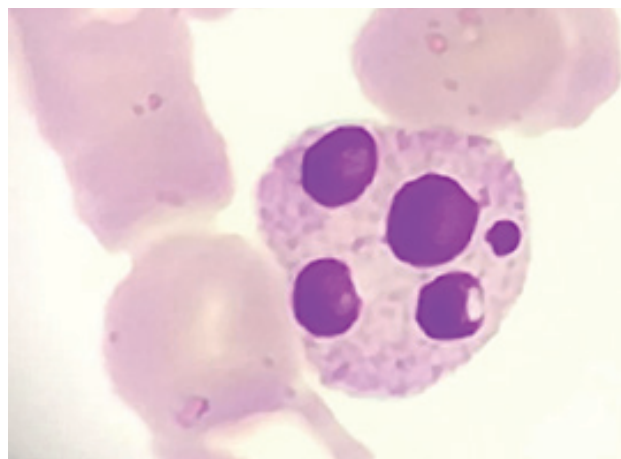


Imagen 10.
Célula con presencia de núcleos picnóticos, evidencia de apoptosis y cariorrexis debido al proceso infeccioso activo. Sangre periférica. Tinción de Wright.

Tabla 1
Resultados de laboratorio esperados en pacientes con COVID-19

Parámetros	Valores esperados
Albúmina	↓
Lactato deshidrogenasa (LDH)	↑
Transaminasas (AST Y ALT)	↑
Bilirrubina	↑
Creatina quinasa (CK)	↑
Troponina cardiaca	↑
Dímero-D	↑
Tiempo de protrombina (TP)	↑
Citocinas como la interleucina IL-6, IL-10	↑
Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)	↑
Hierro sérico	↓
Índice de saturación de la transferrina (IST)	↓
Reactantes de fase aguda (procalcitonina, proteína C reactiva y ferritina)	↑

↑: Aumentado ↓: Disminuido

*Linfocitos T activados (bordes irregulares, presencia de basofilia en la periferia del citoplasma al adosarse a los eritrocitos adyacentes).

*Linfocitos B (linfocitos de aspecto plasmocitoide).

*Linfocitos NK (linfocitos granulares), es frecuente encontrar esta celularidad ya que poseen una tarea importante de carácter antiviral en el proceso de citotoxicidad y producción de citoquinas.

Signos de muerte celular / apoptosis (Imagen 10):

- Cariorraxis (fragmentación nuclear / dispersión del material nuclear en el citoplasma).
- Picnocitosis (condensación o compactación de la cromatina que hace al núcleo más pequeño y que intensifica su coloración).
- Cariolisis (citoplasma sin material nuclear).

Plaquetas

- Activación plaquetaria (plaquetas con extensiones citoplasmáticas que se asemejan a una estrella).
- Agregación plaquetaria (debido al desgaste

y sobreactivación de la hemostasia primaria, daño endotelial de los vasos sanguíneos generado por la actividad enzimática y el rodamiento a través de los endotelios por parte de los neutrófilos).

- Plaquetas de tamaño grande / macroplaquetas (cuando la hemostasia primaria es activada constantemente las plaquetas son llamadas al endotelio por lo que disminuyen numéricamente en la circulación, esto genera que la plaqueta adopte un mayor tamaño celular para compensar esa necesidad).

Recuento celular

Como hemos mencionado con anterioridad, los resultados son dependientes de la gravedad del proceso infeccioso ya que activa la línea celular que se requiere en ese momento, sin embargo, es común encontrar los siguientes datos:

- Leucocitosis.
- Neutrofilia.
- Linfopenia (afectando a linfocitos T, linfocitos B y linfocitos NK, pero es especialmente grave con los linfocitos T citotóxicos (CD8+), debido a su reclutamiento en el tejido afectado).
- Trombocitopenia.

Otros estudios de laboratorio

Los resultados de laboratorio de los pacientes con este proceso viral presentan una disminución de los valores de albúmina y aumento en LDH, transaminasas, bilirrubina, creatina quinasa, troponina cardiaca, dímero-D, reactantes de fase aguda (procalcitonina y proteína C reactiva), así como también prolongación en el tiempo de protrombina (Tabla 1).

La inflamación afecta considerablemente al metabolismo del hierro ya que induce una deficiencia funcional del mismo, incrementa su concentración a nivel intracelular del sistema reticuloendotelial, provoca niveles séricos altos de ferritina, y la concentración plasmática de hierro se encuentra disminuida.

La menor disponibilidad de hierro compromete la eritropoyesis y es causa de anemia.

Anemia normocítica normocrómica

La anemia normocítica normocrómica se genera como consecuencia del estado inflamatorio, se produce por ferropenia como resultado del secuestro de hierro en el sistema retículo endotelial (monocitos y macrófagos), de la reducción de la eritropoyesis y de la absorción del hierro en el intestino, en este caso en particular es provocada por la alta producción de citoquinas proinflamatorias de la respuesta inmune provocada por el SARS-CoV-2.

DISCUSIÓN

La realización del extendido sanguíneo es una herramienta necesaria e irremplazable que no debe ser pasada por alto, ya que ofrece una cantidad de información muy valiosa acerca del estado de salud en general y del diagnóstico diferencial en curso.

Los principales puntos para considerar son el análisis observacional de la citomorfología y la asociación de las etapas del proceso infeccioso ya que puede favorecer para realizar el tratamiento más adecuado o detener su avance.

Las células adoptan cierta morfología o expresan estructuras internas de acuerdo con su capacidad de respuesta frente a los agentes extraños; identificar en una citometría hemática el aumento de las distintas estirpes

celulares y el análisis morfológico al microscopio puede favorecer el que se pueda llegar a un diagnóstico en una fase temprana de la infección.

Otro factor es el análisis de los principales marcadores bioquímicos que se elevan o disminuyen según la gravedad de la patología y que pueden dar un valor pronóstico del curso de la enfermedad.

CONCLUSIÓN

La infección por SARS-CoV-2 se ha convertido en una de las pandemias más significativas que se ha extendido por todos los continentes aceleradamente debido a su alto índice de infectividad, mostrando una elevada tasa de mortalidad.

La enfermedad COVID-19 se caracteriza por afectar de forma progresiva las vías respiratorias inferiores y dependiendo de la condición fisiológica del paciente puede manifestarse con sintomatología leve, moderada o grave, siendo esta última motivo de hospitalización para proveer al paciente de atención médica especializada.

Como consecuencia del proceso fisiopatológico de la enfermedad, se puede comprometer la vida del paciente, debido a que la reacción inmunológica de su organismo no responde de manera favorable, ocasionando una serie de procesos que tienen como característica un aumento de citoquinas inflamatorias cuya afección principal es a nivel pulmonar, aunque se puede acompañar de otras complicaciones multiorgánicas, en las que hay una descompensación celular y metabólica, además el desenlace puede ser la muerte inminente del paciente.

Identificar mediante un extendido sanguíneo la morfología comúnmente observada en pacientes que cursan con infección por COVID-19, permitirá al área médica, junto con pruebas complementarias, establecer un diagnóstico oportuno de la fase en la que estos se encuentran. Siendo de esta manera una herramienta más en el diagnóstico para evitar que se llegue a una fase que comprometa la vida del paciente (fase III).

Desde nuestro sitio de trabajo tenemos una función importante la cual es no pasar por alto ningún estudio complementario puesto que en nuestras manos está la vida de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. González Cruz EJ. Manual de Tinciones Citoquímicas especiales en Hematología. 2019 (Citado el 19 de octubre del 2021). Disponible en: <https://www.ifcc.org/media/478752/manual-de-tinciones-citoquimicas-especiales.pdf>.
2. Bonilla-Aldana DK, Villamil-Gómez WE, Rabaan AA, Rodríguez-Morales AJ. Una nueva zoonosis viral de preocupación global. *Iatreia*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 33(2): 107-10. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/iatreia/article/view/341260/20804011>.
3. Vera Carrasco O. Reseña histórica y panorama actual de la infección por coronavirus. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 61(1): 4-8. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/chc/v61n1/v61n1_a01.pdf.
4. Guanache Garcell H. COVID-19. Un reto para los profesionales de la salud. *Rev haban cienc méd [Internet]*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 19(2): e3284. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3284/2484>.
5. Gonzáles Hernández, N. (2020). Virología del coronavirus. *Acta pediátr. hondu*, 1148-1150. Disponible en: <http://www.bvs.hn/APH/pdf/APHVol11/pdf/APHVol11-1-2020-10.pdf>.
6. Carod J. Agente causal: SARS-CoV-2. Manual COVID-19 para el neurólogo general. Capítulo 2. 2020. (Citado el 19 de octubre del 2021) Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Angel-Aledo-Serrano/publication/340778619_Handbook_of_COVID-19_for_neurologists_-_Manual_COVID-19_para_el_neurologo_general/links/5e9d6b1392851c2f52b29b14/Handbook-of-COVID-19-for-neurologists-Manual-COVID-19-para-el-neurologo-general.pdf#page=12.
7. Marín JEO. SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. *Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 3(2). Disponible en: <https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>.
8. Accinelli RA, Zhang Xu CM, Ju Wang JD, Yachachin-Chávez JM, Cáceres-Pizarro JA, Tafur-Bances KB, et al. COVID-19: La pandemia por el nuevo virus SARS-CoV-2. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 37, 302-11. Disponible en: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.372.5411>.
9. Peña BO, Rincón-Orozco B. Generalidades de la Pandemia por COVID-19 y su asociación genética con el virus del SARS. *Revista Salud UIS*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 52(2): 83-6. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/suis/v52n2/2145-8464-suis-52-02-83.pdf>.
10. Marín JEO. SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. *Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 3(2). Disponible en: <https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>.
11. Xiaolong Tian, Cheng Li, Ailing Huang, Shuai Xia, Sicong Lu, Zhengli Shi, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody, *Emerging Microbes & Infections*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 9:1, 382-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729069>.
12. Bordallo B, Bellas M, Cortez AF, Vieira M, Pinheiro M. COVID-19 severo: ¿qué hemos aprendido con la inmunopatogénesis?. *Advances in Rheumatology (Londres, Inglaterra)*. (Citado el 19 de octubre del 2021); 60 (1): 50. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s42358-020-00151-7>.
13. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Investigación médica militar*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021);, 7 (1): 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.
14. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 54 (2). 159-63. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>
15. 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*. 2020 (Citado el 19 de octubre del 2021); 181 (2): 271–280.e8
16. Bergmann CC, Silverman RH. COVID-19: Coronavirus replication, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Cleve Clin J Med*. 2021 (Citado el 19 de octubre del 2021); 87(6), 321. Disponible en: <https://www.ccmj.org/content/ccjom/early/2020/05/12/ccjm.87a.20047.full.pdf>.