

Mecanismos subyacentes a la linfopenia en la infección por SARS CoV-2, y su relación con la severidad de la enfermedad.

Mechanisms underlying lymphopenia in SARS CoV-2 infection, and their relationship with the severity of the disease.

Karol Cristina Calvo Arrieta¹, Ana Lucía Chinchilla Ureña², Antony Orozco Barquero³, Rosa Ibarra Ureña⁴, Alejandro Jose Navarro Solís⁵

¹ Licenciada en Microbiología y Química Clínica. Caja costarricense de seguro social, San José Costa Rica

^{2,3} y ⁴ Licenciadas en Microbiología y Química Clínica. Caja costarricense de seguro social, Puntarenas Costa Rica

⁵ MSc. en Administración de Centros y Servicios de Salud Caja costarricense de seguro social, San José Costa Rica

Contacto: karolcalvo1@gmail.com

RESUMEN

Introducción: actualmente el mundo se encuentra en una carrera logística respecto al COVID-19. Uno de los signos de laboratorio característicos encontrados con frecuencia en pacientes severos son las alteraciones en el recuento de linfocitos. El objetivo de este trabajo es valorar y relacionar la evidencia científica disponible sobre la relación existente entre la linfopenia y los casos severos de la enfermedad COVID-19.

Materiales y métodos: Para poder llevar a cabo la investigación, se ha realizado una revisión sistemática de artículos científicos consultando la base de datos PubMed, en los idiomas español e inglés.

Resultados: se encontraron estudios que sugieren vías por las cuales el virus SARS-CoV2 induce una linfopenia por lisis directa de los linfocitos, una disminución indirecta, mediante la afectación de órganos linfáticos o inducción de vías apoptóticas. Mientras que otras publicaciones describen un fenotipo exhausto de la población linfocitaria, presentando una habilidad reducida en cuadros severos de COVID-19. Finalmente, se describe también como causa potencial de la disminución de linfocitos T circulantes al secuestro o redistribución de dichos linfocitos T hacia sitios de inflamación.

Conclusiones: los estudios sobre COVID-19 han permitido determinar la linfopenia como un signo frecuente en cuadros severos de la enfermedad, convirtiendo así esta alteración en el hemograma en un factor pronóstico de la enfermedad, que puede ayudar a estimar el curso clínico del paciente y el riesgo de una reacción inflamatoria sistémica. Sin embargo, es evidente la necesidad de investigación adicional respecto a los muchos factores causantes de la linfopenia, ya que por el momento no es posible aclarar cuáles subpoblaciones de pacientes desarrollarán cuadros severos con los hallazgos y la bibliografía disponible a la fecha.

Palabras Clave: linfopenia, COVID-19, tormenta de citoquinas.

Cómo citar:

Calvo Arrieta, K., Chinchilla Ureña, A. L., Orozco Barquero, A., Ibarra Ureña, R., & Navarro Solís, A. J. Mecanismos subyacentes a la linfopenia en la infección por SARS CoV-2, y su relación con la severidad de la enfermedad. *Revista Ciencia Y Salud*, 5(3), Pág. 87-94. <https://doi.org/10.34192/cienciaysalud.v5i3.263>

Recibido: 12/feb/2021

Aceptado: 14/jun/2021

Publicado: 22/jun/2021



ABSTRACT

Introduction: we are currently in a logistical race regarding the COVID-19. One of the characteristic signs found frequently in severe patients is the alteration in the lymphocyte count. The objective of this work is to assess and relate the available scientific evidence on the relationship between lymphopenia and severe cases of COVID-19.

Materials and methods: to carry out the research, a systematic review of scientific articles has been carried out Pubmed database, in Spanish and English languages.

Results: there were found studies that suggest ways by which the SARS-CoV2 virus induces lymphopenia by direct lymphocyte lysis, an indirect decrease, through the involvement of lymphatic organs or induction of apoptotic pathways. While other publications describe an exhausted phenotype of the lymphoid population, presenting reduced activity in severe COVID-19. Finally, it is also described as a potential cause of the decrease in circulating T lymphocytes the redistribution of T lymphocytes towards sites of inflammation.

Conclusion: Studies on COVID-19 have made it possible to determine lymphopenia as a frequent sign in severe cases of the disease. Thus, this alteration in the blood count becomes a prognostic factor for the disease, which can help estimate the clinical course of the patient and the risk of a systemic inflammatory reaction. However, the need for additional research regarding the many causative factors of lymphopenia is evident, since at the moment it is not possible to clarify which subpopulations of patients will develop severe conditions with the findings and the literature available to date.

Keywords: Meningitis, meningococcus, reduced susceptibility to third generation cephalosporins.

Materiales y métodos:

Se realizó una recopilación de bibliografía disponible a la fecha (12 de febrero de 2021) en la base de datos de acceso libre y especializada en las ciencias de la salud PubMed, la cual cuenta con más de 3000 revistas dentro de su catálogo, además ha creado un centro de información dirigido a SARS-CoV2 (disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>). Para la búsqueda de estudios relacionados con el tema de interés, se empleó la opción PubMed Advance Search Builder de la base de datos, con los términos SARS-CoV2 infection, lymphopenia in COVID-19, cytoquine storm, lymphocyte exhaustion. Se tomó en cuenta aquella bibliografía para la que hubiera acceso al texto completo y se delimitó el análisis a aquellos que se adaptaran a las características de este trabajo.

INTRODUCCIÓN:

En enero de 2020 fue recibida en la Organización Mundial de la Salud (OMS) información acerca de un brote de un nuevo coronavirus (nCoV), ocurrido en la provincia de Wuhan, China (1). Posterior a esto, se determinó que este virus pertenecía a la familia de los β -coronavirus y se le dio el nombre de SARS-CoV2 dado que su genoma tiene un 79% de identidad con el del SARS-CoV responsable del brote de 2003 (2). La enfermedad resultante fue denominada por la OMS como COVID-19.

Este virus, al igual que el SARS-CoV, utiliza la enzima convertidora de angiotensina (ECA2) como receptor en la célula hospedera. Las ECA2 están presentes en gran número de tejidos como la mucosa oral y nasal,

pulmón, estómago, intestino delgado, colon, piel, nódulos linfáticos, timo, médula ósea, bazo, hígado, riñones y cerebro (3). Sin embargo, se ha determinado que se encuentran en mayor cantidad en el intestino delgado, testículos, riñones, corazón, tiroides y tejido adiposo (4). Esto último se ha señalado podría influir en las manifestaciones propias de la enfermedad.

A pesar de que las personas en su mayoría cursan con cuadros asintomáticos o con síntomas leves (5), una fracción de los pacientes puede desarrollar un cuadro severo con un síndrome inflamatorio sistémico similar a otros virus de la misma familia como el SARS-CoV y el MERS-CoV (síndrome respiratorio de medio oriente), con elevación de distintas citoquinas e interleucinas (IL-6, TNF, IL-1, IL-2, IL-17, IFN- γ y G-CSF (6).

Dado el impacto en la salud, en la vida social y económica que ha generado este virus en el mundo, se ha desatado una carrera en búsqueda de información sobre el comportamiento del contagio, sobre posibles complicaciones, los potenciales tratamientos y la búsqueda de una vacuna. Uno de hallazgos que han surgido de esta incansable búsqueda de información ha sido que los signos en el paciente pueden indicar un curso más severo de la enfermedad; entre ellos se encuentran las características del hemograma. Los hemogramas de los pacientes con cuadros severos de COVID19 se han caracterizado por presentar neutrofilia, linfopenia y trombocitopenia (7-8,10-12). De estos, las alteraciones en el recuento de linfocitos han demostrado ser un indicador importante de riesgo de complicaciones, por lo tanto, se considera de vital importancia describir con el conocimiento actual sus posibles causas y relación con la patología misma de la enfermedad.

Linfopenia en el paciente con COVID-19.

Varios estudios encontraron que la anormalidad hematológica más comúnmente encontrada fue la linfopenia (7,11-13). Un estudio retrospectivo que involucró 140 personas de uno de los hospitales habilitados en Wuhan para la atención de pacientes con COVID-19 mostró que un 75.4% de estos mostraban linfopenia en el momento de admisión al hospital (14). En otro estudio realizado con 41 pacientes ingresados en el hospital de Jin Yin Tan se evidenció que hasta un 63% de los pacientes presentaba linfopenia (14). Finalmente, en otro estudio realizado con 1099 casos de COVID-19 alrededor de China encontró que un 82.1% presentó linfopenia (<1500/QL) (7).

Debido al papel preponderante de las distintas poblaciones de linfocitos dentro de la respuesta inmune a las infecciones virales (15), y la respuesta inmune en general, esta depleción linfocitaria despertó el interés de distintos grupos de investigación. Distintas publicaciones han demostrado que la linfopenia en pacientes con COVID-19 es más que un hallazgo casual, ya que han asociado la presencia y el grado de linfopenia con el pronóstico e incluso el desenlace clínico de los pacientes. En una investigación realizada en el hospital Zhongnan de Wuhan se determinó que en los pacientes ingresados en UCI y los pacientes fallecidos por COVID-19, el recuento de linfocitos tendía a disminuir continua y severamente, inclusive entre los pacientes fallecidos el recuento era menor con respecto a aquellos que lograron superar la enfermedad (16). Otro estudio realizado en el hospital Tongji en Wuhan reveló que los casos más severos presentaron un recuento menor de linfocitos (800 versus 1000/QL; $P < 0.001$), un mayor recuento de neutrófilos (4300/QL versus 3200QL; $P < 0.001$) y una mayor relación neutrófilo-linfocito (5.5 versus 3.2; $P < 0.001$) (17). Finalmente, en un estudio realizado en un hospital en Singapur donde se analizaron distintos parámetros hematológicos de pacientes con COVID-19, se encontró que el recuento de linfocitos era más bajo en pacientes que requerían admisión en una UCI (400 versus 1200/QL; $P < 0.001$) (18).

Posteriormente, algunos estudios sugirieron el recuento de linfocitos y el grado de linfopenia presente en el paciente, como un predictor de riesgo de desarrollar un cuadro severo de COVID-19 (19-20). Otros estudios incluyen junto con el recuento bajo de linfocitos, una alta relación neutrófilo/linfocito (es decir, recuento alto de neutrófilos y recuento bajo de linfocitos) como un fuerte predictor de riesgo de desarrollar un cuadro severo en la COVID-19 (14, 21-22). Con respecto a esto, la relación neutrófilo/linfocito se ha demostrado es un marcador de la respuesta inflamatoria sistémica en pacientes críticamente enfermos (23), incluso en

enfermedades no infecciosas como infarto al miocardio, accidente cerebrovascular y cáncer (24). Por lo tanto, la observación de la elevada relación neutrófilo/linfocito podría convertirse en un recurso para determinar riesgo de desarrollar una reacción inflamatoria sistémica en COVID-19, especialmente en los centros de atención en donde la medición de marcadores de inflamación sistémica como ferritina, o medición de interleucina 6 (IL-6) no estén disponibles.

Por último, es importante señalar que la linfopenia observada en los pacientes con COVID-19 se caracteriza por afectar principalmente a los linfocitos T cooperadores o T CD4+, aunque también se ha visto un patrón similar en los linfocitos T citotóxicos o T CD8+(17,25), aunque distintos estudios han determinado que su disminución no es estadísticamente significativa (17,25).

Linfopenia: causas y su influencia en la COVID-19.

Dado lo expuesto anteriormente, ha surgido el cuestionamiento de si esta linfopenia es secundaria a la patogénesis del virus o, por el contrario, por sí sola tiene que ver con las manifestaciones clínicas de la COVID-19 y cuáles son los mecanismos que detonan el desarrollo de la linfopenia en estos pacientes.

Existen estudios que han sugerido que el SARS-CoV2 podría inducir la lisis directa de los linfocitos, dado que hay una subpoblación de estos que presenta el ECA2 (8). A pesar de esto, otros estudios señalan que la proporción de linfocitos que presentan el ECA2 es considerablemente baja y se limita a una subpoblación en mucosa oral, sistema digestivo y pulmones (26-27), por lo que esta aseveración requiere más evidencia in vitro e in vivo. Por otro lado, hay estudios que señalan que el SARS-CoV2 sí podría producir de manera directa la linfopenia, pero no por lisis directa del linfocito, sino por ataque a los órganos linfoides como el bazo y los nódulos linfáticos (28), o por la inducción de la apoptosis del linfocito mediada por activación de la vía de p53 o la vía de Fas (29).

Por otra parte, una de las complicaciones más conocidas en la COVID-19 es el desarrollo de un estado hiperinflamatorio secundario a una tormenta de citoquinas o síndrome de liberación de citoquinas, que puede llevar al daño de múltiples órganos, incluido un síndrome agudo de distrés respiratorio (30-31). En esta tormenta de citoquinas, se libera una gran variedad de citoquinas como interferones (INF), interleucinas (IL), quimioquinas, factores estimulantes de colonias (CSF) y factor de necrosis tumoral (TNF) (30). Se ha propuesto que una de las posibles causas de la linfopenia en estos pacientes sea precisamente esta tormenta de citoquinas. Se ha determinado que varias de las citoquinas mencionadas anteriormente pueden inducir la depleción de los linfocitos T, un estudio realizado con ratones infectados con SARS-CoV detectó que el TNF tiene un rol importante en la apoptosis de los linfocitos T (32), además, se ha observado que la IL-6 promueve directamente la necrosis de los linfocitos (28). Esto coincide con las observaciones realizadas sobre el curso clínico de los pacientes, en las cuales aquellos que presentan un nivel alto de IL-6 también presentan un recuento menor de linfocitos y un cuadro de COVID-19 más severo (28, 30), por tanto, el recuento inicial bajo de linfocitos se podría convertir en un marcador de riesgo de desarrollo de un cuadro inflamatorio severo.

Asimismo, se ha descrito que una señalización anormal retardada de INF-I lleva a la activación y acumulación de monocitos/macrófagos inflamatorios que puede resultar en una respuesta inflamatoria desregulada con una prolongación de la respuesta inmune innata, que lleva a que se sigan liberando citoquinas proinflamatorias y se lleve finalmente a una apoptosis de las células T (32). El mecanismo que define cuáles pacientes van a desarrollar una señalización anormal retardada de INF-I no se conoce y sigue bajo investigación.

Por otro lado, se ha descrito que los linfocitos T de los pacientes con cuadros severos de COVID-19 presentan un fenotipo "exhausto", el cual consiste en la presencia de linfocitos T que expresan el marcador de muerte celular programada-1 (PD-1) y la inmunoglobulina de célula T y dominio de mucina 3 (Tim-3) (33, 34). Estos linfocitos de fenotipo exhausto han sido descritos en la respuesta a infecciones virales crónicas como la del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la hepatitis B y C (35). La infección persistente resulta en una exposición crónica al antígeno y en lugar de continuar en la máxima inducción de las respuestas de

las células T, por el contrario, lleva a la generación de células T exhaustas que tienen una habilidad reducida para eliminar agentes extraños y producir citoquinas en respuesta a una infección (35). Este mecanismo ha evolucionado para disminuir el daño a los tejidos en infecciones crónicas. Algunos estudios han demostrado que la disminución de la polifuncionalidad (secreción de múltiples citoquinas) y la citotoxicidad de las células T se correlacionan con la progresión de la enfermedad (6). Por lo tanto, este fenotipo exhausto de los linfocitos T podría ser una de las causas de inhabilidad del sistema inmune de controlar la infección por SARS-CoV2 en el subgrupo de pacientes que presentan complicaciones severas de la enfermedad.

Por último, una disminución en los linfocitos T en sangre periférica como resultado de la redistribución de estos hacia los sitios de inflamación ya había sido reportado en los casos de SARS-CoV (36-37), por lo tanto, se ha hipotetizado que esto también se podría presentar en las infecciones de SARS-CoV2. De hecho, la disminución de los linfocitos T circulantes se ha asociado con el hallazgo de neumonitis intersticial, la cual es causada por un infiltrado mononuclear en los casos severos de COVID-19 (38). Se ha propuesto que una evidencia de esto es que cuando los pacientes se recuperan, el recuento de linfocitos sube rápidamente y esto es poco probable que se deba a linfocitos recién producidos por el timo, sino a la recirculación de estos a partir de los órganos donde se encontraban secuestrados (38-39).

Posiblemente, como en otros procesos patológicos en el cuerpo humano, la caída de los linfocitos en sangre periférica de pacientes con SARS-CoV2 se deba a una conjunción de los factores anteriormente mencionados, sin embargo, en todos los escenarios mencionados anteriormente es evidente que el recuento bajo de linfocitos es un factor indicativo de severidad de la infección por SARS-CoV2.

CONCLUSIONES

Se ha hecho evidente que la linfopenia es uno de los hallazgos frecuentes encontrados una subpoblación de pacientes con COVID-19, además, más que un hallazgo casual se relaciona con severidad y curso clínico desfavorable del paciente. Uno de los hallazgos más importantes en esta revisión es que la linfopenia, junto con un recuento alto de neutrófilos (alta relación neutrófilo/linfocito) se asocia con un riesgo mayor de desarrollo de un síndrome de inflamación sistémica, con sus complicaciones asociadas. Por lo tanto, en los centros médicos en los cuales por su complejidad no está disponible la determinación de marcadores de inflamación sistémica como la IL-6 o la IL-1, un hemograma es una prueba comúnmente realizada y de bajo costo, que se convierte en un recurso accesible para la estimación del médico sobre la severidad del cuadro del paciente y puede ayudar a tomar decisiones sobre su seguimiento y tratamiento.

Por otro lado, se han encontrado 4 principales mecanismos que explican la depleción linfocitaria en los sujetos con cuadros severos de COVID-19: linfopenia basada en el efecto directo del virus sobre los órganos linfoides, el mecanismo de linfopenia secundaria a la fuerte reacción inflamatoria que desata esta infección en algunos pacientes, una linfopenia periférica por redistribución de los linfocitos a los sitios de inflamación o infección y un fenotipo exhausto de los linfocitos T. Este último mecanismo ha hecho hipotetizar que una falla en la función de los linfocitos en estos individuos también tiene que ver con la inhabilidad del sistema inmune de controlar la infección por SARS-CoV2. Y este proceso lleva a una especie de ciclo en el que la inhabilidad del sistema inmune de controlar la infección lleva a la proliferación viral, que por un lado agrava la reacción hiperinflamatoria y por otro, conduce a una exposición crónica del sistema inmune al antígeno, lo cual alimenta la producción de más linfocitos con fenotipo exhausto y agrava el cuadro; además hace que no se pueda controlar la infección. De esta manera, uno de los mecanismos que causan la depleción linfocitaria se asocia directamente con la inducción de un cuadro severo en el paciente agudamente enfermo con la COVID-19. No obstante, los factores que influyen en qué pacientes desarrollarán o no este fenotipo linfocitario exhausto requieren de mayor investigación, pero es claro, que su determinación podría convertirse en un potencial factor pronóstico y eventual blanco terapéutico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. World Health Organization (WHO). Novel coronavirus China. Disease outbreak news. Geneva: WHO; 2020. [Accessed: 4 Feb 2020]. Available from: <https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>
2. Cao, W., Li, T. COVID-19: towards understanding of pathogenesis. *Cell Res* 30, 367–369 (2020).
3. Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M., Lely, A., Navis, G. and van Goor, H., Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J. Pathol.*, , 2004;203: 631-637.
4. Li, MY., Li, L., Zhang, Y. et al. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty*, 2020;9, 45.
5. Rahi MS, Jindal V, Reyes SP, Gunasekaran K, Gupta R, Jaiyesimi I. Hematologic disorders associated with COVID-19: a review. *Ann Hematol.* 2021;100(2):309–20.
6. Peng, X., Ouyang, J., Isnard, S., Lin, J., Fombuena, B., Zhu, B., & Routy, J. P. Sharing CD4+ T Cell Loss: When COVID-19 and HIV Collide on Immune System. *Frontiers in Immunology*, 2020;11(December), 1–11.
7. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708–20.
8. Terpos, E., Ntanasis-Stathopoulos, I., Elalamy, I., Kastritis, E., Sergentanis, T. N., Politou, M., Psaltopoulou, T., Gerotziakas, G., & Dimopoulos, M. A. Hematological findings and complications of COVID-19. *American Journal of Hematology*, 2020;95(7), 834–847.
9. Yang, L., Liu, S., Liu, J., Zhang, Z., Wan, X., Huang, B., Chen, Y., & Zhang, Y. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020; 5(1), 1–8.
10. Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D. S. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, 2020; 71(15), 762–768.
11. 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. *Lancet*, 2020;395:507–13.
12. Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, Lim GH, Lim KGE, Tan GB, et al. Hematologic parameters in

patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol* 2020; ajh.25774.

13. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yuan YD, Yang YB, Yan YQ et al, Clinical characteristics of 140 patients infected with SARSCoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*, 2020; 00:1-12.

14. Huang CL, Wang YM, Li XW, Ren LL, Zhao JP, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020; 395(10223):497-506

15. Zhu Y, Cao X, Tao G, Xie W, Hu Z, Xu D. The lymph index: A potential hematological parameter for viral infection. *Int J Infect Dis*. 2013;17(7):490-3

16. Wang DW, Hu B, Hu C, Zhu FF, Liu X, Zhang J, Wang B, Xiang H, Cheng Z, Xiong Y, Zhao Y, Li Y, Wang X, Peng Z. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 2020; 323(11):1061-1069.

17. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China 2020. *Clin Infect Dis*. 2020; 28;71(15):762-768.

18. Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, Lim GH, Lim KGE, Tan GB, et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol* 2020: ajh.25774.

19. Huang, I., & Pranata, R. Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): Systematic review and meta-analysis. *Journal of Intensive Care*, 2020; 8(1), 1-10.

20. Zhao, Q., Meng, M., Kumar, R., Wu, Y., Huang, J., Deng, Y., Weng, Z., & Yang, L. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A systemic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, 2020; 96, 131-135.

21. Liu, J., Liu, Y., Xiang, P., Pu, L., Xiong, H., Li, C., Zhang, M., Tan, J., Xu, Y., Song, R., Song, M., Wang, L., Zhang, W., Han, B., Yang, L., Wang, X., Zhou, G., Zhang, T., Li, B., ... Wang, X. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *Journal of Translational Medicine*, 2020; 18(1), 1-12.

22. Zhang, B., Zhou, X., Zhu, C., Song, Y., Feng, F., Qiu, Y., Feng, J., Jia, Q., Song, Q., Zhu, B., & Wang, J. Immune Phenotyping Based on the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and IgG Level Predicts Disease Severity and Outcome for Patients With COVID-19. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2020;7, 1-7.

23. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic

inflammation and stress in critically ill. Bratisl Lek Listy. 2001; 102(1): 5- 14.

24. Ayça B, Akin F, Celik O, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio is related to stent thrombosis and high mortality in patients with acute myocardial infarction. *Angiology*. 2015; 66(6): 545- 552.

25. Li TS, Qiu ZF, Han Y, Wang Z, Fan HW, Lv Wet al. Rapid loss of both CD4 (+) and CD8 (+) T lymphocyte subsets during the acute phase of severe acute respiratory syndrome. *Chin Med J*, 2003; 116(7):985-987

26. Xu H, Zhong L, Deng J, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci*. 2020; 12(1):8

27. Zhang, H., Kang, Z., Gong, H., Xu, D., Wang, J., Li, Z., Cui, X., Xiao, J., Meng, T., Zhou, W., Liu, J., & Xu, H. (2020). The digestive system is a potential route of 2019-nCov infection: A bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. *Gut*, 2020; 69(9): 1010-1018.

28. Feng, Z., Diao, B., Wang, R., Wang, G., Wang, C., Tan, Y., Liu, L., Wang, C., Liu, Y., Liu, Y., Yuan, Z., Ren, L., Wu, Y., & Chen, Y. (2020). The novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) directly decimates human spleens and lymph nodes. *MedRxiv*, 2020; 2, 1-18.

29. Xiong Y, Liu Y, Cao L, et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9:761-770.

30. Tisoncik, J. R., Korth, M. J., Simmons, C. P., Farrar, J., Martin, T. R., & Katze, M. G. (2012). Into the Eye of the Cytokine Storm. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(1), 16-32. <https://doi.org/10.1128/mubr.05015-11>

31. Behrens, E. M., & Koretzky, G. A. Review: Cytokine Storm Syndrome: Looking Toward the Precision Medicine Era. *Arthritis and Rheumatology*, 2017; 69(6), 1135-1143.

32. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocytemacrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe*. 2016;19:181193.

33. Chiappelli, F., Khakshooy, A., & Greenberg, G. (2020). Editorial CoViD-19 Immunopathology & Immunotherapy Declaration on official E-mail. *Medical Bioinformatics*, 2020;16(3), 219-222.

34. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, Qi Y, et al. Aberrant pathogenic GM-CSF+ T cells and inflammatory CD14+, CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. *bioRxiv*. 2020; 1;2020.02.12.945576.

35. Carty, S., Riese, M., & Koretzky, G. A. Chapter 21. Immunologic basis of hematology. In R. Hoffman (Ed.), *Hematology: basic principles and practice*. 2019; (7th ed., pp. 221-239). Elsevier.
36. Xie J, Fan HW, Li TS, Qiu ZF, Han Y. Dynamic changes of T lymphocyte subsets in the long-term follow-up of severe acute respiratory syndrome patients. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 2006;28:253-255.
37. Li T, Qiu Z, Zhang L, et al. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis*. 2004;189:648-651.
38. Wang, J., Jiang, M., Chen, X., & Montaner, L. J. (2020). Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *Journal of Leukocyte Biology*, 108(1), 17-41.
39. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9:727-732.