



FACULTADE DE MEDICINA
E ODONTOLOXÍA

Traballo de
fin de grao

Xenética do hóspede en COVID-19 en poboación iberoamericana

Autoría: Adrián Castro Montenegro

Titor: Ángel Carracedo Álvarez

Cotitora: Raquel Cruz Guerrero

Departamento: Ciencias Forenses

Xuño 2022

Traballo de Fin de Grao presentado na Facultade de Medicina e Odontoloxía da Universidade de Santiago de Compostela para a obtención do Grao en Medicina

Índice de figuras	
Índice de táboas	
Índice de abreviaturas	
Resumos	
Introdución	1
COVID-19	1
Descubrimento da enfermidade COVID-19; identificación e perspectiva xeral da viroloxía do seu axente causal SARS- CoV-2	1
Vías de transmisión do SARS-CoV-2	3
Sintomatoloxía da COVID-19; evolución clínica característica e factores de risco de severidade	4
Estratexias no tratamento da COVID-19	5
Mecanismos de prevención da COVID-19; métodos de diagnóstico da infección	6
A COVID-19 en España	7
A COVID-19 en Iberoamérica	8
A xenética na COVID-19	9
Genome-Wide Association Study (GWAS)	13
Genetic risk score (GRS)	14
Material e métodos	16
Pacientes incluídos no estudo	16
Datos xenéticos e elaboración de GRS	18
Análises estatísticas	19
Resultados	20
Sexo	22
Idade	27
GRS	30
Discusión	35
Conclusións	40
Bibliografía	42
Webgrafía	45

Índice de figuras

1. Resultados da GWAS realizada en casos de hospitalización por COVID-19 (n=13.641 casos, n=2.070.079 controis). *Superior*. Casos reportados de infección por SARS-CoV-2 (n=49.562 casos, 1.770.206 controis). *Inferior*
2. Anotación topográfica dos principais xenes asociados coa COVID-19. * indica susceptibilidade á infección por SARS-CoV-2; + indica niveis máis altos de gravidade
3. Grao de afectación clínica en ambas cohortes. Esquerda: recontos; dereita: %. *Superior* (a,b): pacientes de ascendencia iberoamericana residentes en España. *Inferior* (c,d): pacientes de hospitais iberoamericanos.
4. Distribución por sexo en función do nivel de afectación sanitaria na cohorte 1
5. Distribución porcentual de cada un dos sexos en función da gravidade da súa enfermidade na cohorte 1
6. Distribución por sexo en función do nivel de afectación sanitaria na cohorte 2
7. Distribución porcentual de cada un dos sexos en función da gravidade da súa enfermidade na cohorte 2
8. Distribución de individuos dividida por sexo en función de novos niveis de severidade na cohorte 1
9. Distribución porcentual de cada sexo en función de novos niveis de gravidade dentro da cohorte 1
10. Distribución de individuos dividida por sexo en función de novos niveis de severidade na cohorte 2
11. Distribución porcentual de cada sexo en función de novos niveis de gravidade dentro da cohorte 2
12. Medida obtida da GRS na cohorte 1 en cada un dos grupos de afectación clínica
13. Medida obtida da GRS na cohorte 1 en cada un dos grupos de afectación clínica por sexo
14. Medida obtida da GRS na cohorte 2 en cada un dos grupos de afectación clínica
15. Medida obtida da GRS na cohorte 2 en cada un dos grupos de afectación clínica por sexo

Índice de táboas

1. Escala de cinco niveis utilizada para clasificar ós pacientes do estudo SCOURGE
2. Distribución de pacientes (%) en función da gravidade en cada cohorte
3. Distribución dos pacientes en función do sexo en cada cohorte
4. Distribución dos individuos en función da idade e niveis de gravidade na cohorte 1
5. Niveis de diferenciación estatística entre os niveis de severidade clínica en función da idade na cohorte 1
6. Distribución dos individuos en función da idade e niveis de gravidade na cohorte 2
7. Niveis de diferenciación estatística entre os niveis de severidade clínica en función da idade na cohorte 2
8. Distribución da variable GRS en función dos niveis de severidade na cohorte 1
9. Distribución da variable GRS en función dos niveis de severidade na cohorte 2

Índice de abreviaturas

- CI: intervalo de confianza
- COVID-19: coronavirus disease 2019
- CXCL-10: ligando 10 de quimiocina con motivo C-X-C
- ECAII: enzima convertidora da anxiotensina II
- EMA: axencia europea do medicamento
- EPOC: enfermidade pulmonar obstrutiva crónica
- ERTE: expediente de regulación temporal de emprego
- GRS: genetic risk score
- GWAS: genome-wide association study
- HGI: host genetic initiative
- ICTV: Comité Internacional de Taxonomía de Virus
- IFN β e γ :interferón β e γ
- MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos 1
- MIP-1 α : proteína inflamatoria de macrófagos-1 α
- mRNA:ARN mensaxeiro
- OMS: organización mundial da saúde
- ONG: organización non gobernamental
- PRS: polygenic risk score
- RNA: ácido ribonucleico
- RT-qPCR: PCR cuantitativa
- SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2

- SDRA: síndrome de distrés respiratorio do adulto
- SNP: single nucleotid polimorfism
- SRAA: sistema renina-anxiotensina-aldosterona
- TMPRSS2: proteasa sérica transmembrana
- TNF- α :factor de necrose tumoral α

Resumos

RESUMO

Na presente investigación elaborouse unha análise sobre a existencia de asociación xenética coa severidade da COVID-19, baseada en mostras de pacientes iberoamericanos xenotipadas no proxecto SCOURGE para os marcadores máis claramente asociados segundo a última meta-análise do consorcio COVID-19 *Host Genetics Initiative*.

Dentro do marco do consorcio SCOURGE estudouse a devandita asociación xenética coa severidade, validándose moitos sinais xa publicados en poboación europea, non agregando ós resultados as súas análises preliminares en poboación latina recrutada en hospitais españois. A falta de paralelismo coas conclusións obtidas en poboación europea deu lugar a que se considerase a hipótese da ausencia de aplicabilidade dos marcadores coñecidos en poboacións iberoamericanas.

Nesta investigación realizouse unha análise comparativa entre mostras iberoamericanas recollidas en España e en América do Sur, para dous coñecidos marcadores de risco en COVID-19: o sexo e a idade, para posteriormente realizar unha análise xenética. Por último, o estudo de asociación xenética foi avaliado tanto individualmente para os marcadores seleccionados, como en forma de GRS (*Genetic Risk Score*), combinando a influencia de ditos marcadores segundo os resultados da meta-análise.

Palabras Clave: COVID-19, severidade, xenética, Iberoamérica, GRS.

RESUMEN

En la presente investigación se ha elaborado un análisis sobre la existencia de asociación genética con la severidad de la COVID-19, basada en muestras de pacientes iberoamericanos genotipadas en el proyecto SCOURGE para los marcadores más claramente asociados según el último metaanálisis del consorcio COVID-19 *Host Genetics Initiative*.

Dentro del marco del consorcio SCOURGE se ha estudiado la mencionada asociación genética con la severidad, validándose muchas señales ya publicadas en población europea, no agregando a los resultados sus análisis preliminares en población latina reclutada en hospitales españoles. La falta de paralelismo con las conclusiones obtenidas en población europea dio lugar a que se considerase la hipótesis de la ausencia de aplicabilidad de los marcadores conocidos en poblaciones iberoamericanas.

En esta investigación se ha realizado un análisis comparativo en muestras iberoamericanas recogidas en España y Sudamérica, para dos conocidos marcadores de riesgo en COVID-19: el sexo y la edad, para posteriormente realizar un análisis genético. Por último, el estudio de asociación genético fue evaluado tanto individualmente para los marcadores seleccionados, como en forma de GRS (*Genetic Risk Score*), combinando la influencia de dichos marcadores según los resultados del metaanálisis.

Palabras Clave: COVID-19, severidad, genética, Iberoamérica, GRS.

ABSTRACT

In the present investigation, an analysis about the existence of genetic association with COVID-19 severity has been conducted, based on the Latin-American patients' genetic samples that had been genotyped by the SCOURGE project for the most clearly associated markers according to the last meta-analysis executed by the COVID-19 *Host Genetics Initiative*.

The SCOURGE consortium has studied the foregoing genetic association with severity, validating many of the signals already published for European population, failing to aggregate to the results their preliminary analysis in Latin population conducted in Spanish hospitals. The lack of parallelism with the conclusions drawn from European population led us to consider the hypothesis of the absence of applicability of the known markers in Latin-American populations.

In this investigation, it has been carried out a comparative analysis between Latin American samples collected in Spain and South America, for two well known risk factors in COVID-19: sex and age, to subsequently conduct a genetic analysis. Ultimately, the genetic association research was evaluated both individually for each selected marker and as a GRS (*Genetic Risk Score*), combining the influence of the mentioned markers as stated by the meta-analysis.

Key words: COVID-19, severity, genetics, Latin America, GRS.

1. Introducción

Co obxectivo da comprensión por parte do lector dos resultados desta investigación en todas as súas dimensións, procédese a establecer un marco teórico sobre a enfermidade que ocupa o estudo, e as técnicas e análises de carácter xenético propias da xenética de poboacións que resultaron centrais nas análises realizadas.

1.1 COVID-19

A COVID-19 é unha enfermidade infecciosa provocada polo coronavirus SARS-CoV-2 que causa caracteristicamente un síndrome respiratorio agudo grave, unha resposta inflamatoria sistémica exacerbada ante a infección, e se asocia a unha importante morbilidad e mortalidade (Parasher,2021).

1.1.1 Descubrimento da enfermidade COVID-19; identificación e perspectiva xeral da viroloxía do seu axente causal SARS- CoV-2

No mes de decembro de 2019 foron descritos diversos casos de pneumonía atípica grave de axente etiolóxico non filiado na cidade de Wuhan, provincia de Hubei, na República Popular China. O virus responsable da infección que se denominou COVID-19 (Corona-Virus-Disease-2019) foi illado e identificado por primeira vez nun clúster de pacientes que estiveran expostos nun mercado de comida de Wuhan (Shi Y, 2020).

O Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) e a Organización Mundial da Saúde (OMS) denominaron o axente viral coma SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2), seguindo a homoloxía xenómica que presentaba co SARS-CoV, responsable dunha pandemia durante os anos 2002 e 2003 (Tsang HF, 2021).

Neste momento determinouse que se trataba dun coronavirus nunca antes descrito, cuxa xenética era moi similar a coronavirus derivados de animais,

nomeadamente o morcego e o pangolín, establecendo a teoría dunha orixe zoonótica. Seguidamente da infección e transmisión entre animais, o SARS-CoV-2 tería mutado acadando a capacidade de transmisión entre humanos (Asselah T, 2021).

Os coronavirus pertencen á familia Coronaviridae, verificándose como virus con envoltura, cunha única cadea de RNA de sentido positivo (+ssRNA) (Asselah T, 2021). O xenoma do SARS-CoV-2 está composto por 29.891 nucleótidos que codifican para 9.860 aminoácidos. A secuenciación xenética da SARS-CoV-2 demostrou que é idéntico nun 80 % ó SARS-CoV, e nun 50% ó MERS-CoV. As proteínas estruturais do axente viral inclúen proteínas spike (S), envoltura (E), membrana (M) e nucleocápside (N). O receptor binding domain (RBD) , presente na subunidade S1 da proteína Spike, ten un rol capital na infección do hóspede (Tsang HF, 2021).

A enzima convertedora de anxiotensina II (ECA II) é unha proteína de membrana que ten un papel esencial no sistema renina-anxiotensina-aldosterona (SRAA). Presente en numerosos órganos e sistemas como o sistema cardiovascular, os riles, os pulmóns, o sistema nervioso central, os adipocitos ou o tracto gastrointestinal; a ECA II é o receptor molecular para a infección celular por SARS-CoV-2 (Tsang HF, 2021).

A enfermidade expandiuse dende Wuhan a outras provincias do territorio continental chino dun xeito moi precoz, debido ó carácter da cidade de Wuhan de centro neurálxico do transporte en China, e exacerbándose a difusión polo elevado dos desprazamentos por mor do Festival de Primavera. Países veciños coma Xapón, Tailandia e Corea reportaron infeccións en poucas semanas dende os primeiros casos. Neste primeiro estadio da epidemia, Asia converteuse no continente onde o virus se demostraba en expansión e se verificaban a inmensa maioría de infeccións e falecementos por causa deste novo axente viral. No transcurso de semanas un número crecente de casos empezou a agromar noutros continentes, seguindo rutas de comercio internacional e transporte de viaxeiros, véndose principalmente afectadas Europa e Norte América. O 19 de marzo do

2020, Italia (3.407) superou a China (3.253) como país co maior número de falecidos, confirmándose o carácter global da xa recoñecida como pandemia. O 28 de marzo o número de casos da enfermidade identificados nos EUA (85.228) xa superaban os diagnosticados en China (82.213), converténdose o país norteamericano no país co maior número de casos (Tsang HF, 2021).

1.1.2 Vías de transmisión do SARS-CoV-2

A transmisión da infección por SARS-CoV-2 establécese entre humanos que se atopan na proximidade, potencialmente nunha distancia inferior a 1 metro dun individuo infectado. O enfermo pode contaxiar individuos susceptibles de xeito directo a través da emisión de gotas procedentes da súa mucosa bucal ou nasal, que penetrarán a través das vías aéreas nos pulmóns do receptor. O afectado tipicamente padecerá unha variedade de síntomas respiratorios, os cales potencian a probabilidade da ulterior transmisión, coma tose ou esbirros, que implican a emisión de máis gotas respiratorias e aerosois. O contaxio a través de gotas de secreción respiratoria dun diámetro inferior a 5 micras denomínase transmisión por aerosois (*airborne*), podendo permanecer o virus durante longos períodos de tempo na atmosfera e propagarse a través de distancias maiores a 1 metro. Máis alá do contaxio directo, está demostrado que tocar superficies contaminadas e o posterior contacto con nariz, boca, ou ollos, pode propiciar o contaxio (Khan M, 2020). As superficies de plástico e aceiro inoxidable son proclives á permanencia do axente viral viable durante días (Tsang HF, 2021).

A transmisión nosocomial é así mesmo un importante foco de contaxio, sendo a emisión de aerosois en procedementos médicos unha situación de risco para pacientes e persoal sanitario (Umakanthan S, 2020). A evidencia recente confirma a posibilidade de transmisión materno-fetal intraútero, mentres que a transmisión a través da lactación materna non está demostrada (Mazur-Bialy AI, 2020).

Estudios realizados demuestran a existencia nas vías respiratorias superiores dunha maior carga vírica no momento de inicio da sintomatoloxía da enfermidade ou nas horas previas ó mesmo, o que implica a posibilidade de que individuos asintomáticos poidan transmitir o axente viral (Zhang R, 2020). A carga viral está presente en produtos de refugallo, coma feces e ouriños. A carga viral é maior e está presente durante un período de tempo máis longo en individuos cun curso da enfermidade máis severo (Umakanthan S, 2020).

O número de reprodución r_0 do SARS-CoV-2 está estimado en 3,32 (95%CI: 2,81- 3,82) (Alimohamadi Y, 2020).

1.1.3 Sintomatoloxía da COVID-19; evolución clínica característica e factores de risco de severidade

A sintomatoloxía típica que experimentan os pacientes con COVID-19 inclúe febre (98%), tose (76%), dispnea (50%), mialxia e fatiga (44%), expectoración (28%), cefalea (8%), hemoptise (5%) e diarrea (3%) (Tsang HF, 2021).

A incubación media da enfermidade estímase en 5,1 días (95%CI: 4,5- 8,5) e o 97,5% dos individuos presentaron a sintomatoloxía antes de 11,5 días (95%CI: 8,2-12,6) (Tsang HF, 2021).

Posteriormente a un período asintomático, a replicación do virus nas vías aéreas superiores e a resposta inflamatoria provoca o conxunto de síntomas leves propios. Aproximadamente o 20% dos individuos afectados progresa ó seguinte nivel da infección, presentando unha afectación pulmonar franca. Os neumocitos infectados polo virus segregan unha variedade de citokinas e marcadores inflamatorios coma interleukinas, TNF- α , IFN β e γ , CXCL-10, MCP-1 e MIP-1 α . Esta ‘tormenta de citokinas’ atrae neutrófilos, linfocitos T CD4 helper e CD8 citotóxicos, responsables da defensa celular contra o virus, e colateralmente da inflamación e dano pulmonar que se produce no proceso. Debido á exacerbada resposta inflamatoria e á capacidade do virus para continuar replicándose e invadindo células pulmonares adxacentes, prodúcese

un dano alveolar difuso, que culmina nun Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) (Parasher, 2021).

As complicación tipicamente observadas na evolución dun paciente con COVID-19 crítico teñen lugar debido á ‘tormenta de citokinas’ que se produce, e engloban ás seguintes: trombose, complicacións cardiovasculares, insuficiencia renal aguda, síndrome post-COVID-19 (long-COVID), síndrome post-coidados intensivos, entre outras (BMJ Best Practice, 2022).

Os principais factores de risco para unha evolución tórpida da infección por SARS-CoV-2 son: idade avanzada, sexo masculino, etnia non branca, síntomas de febre, dispnea, e afectación gastrointestinal; hipertensión, diabetes, obesidade, EPOC, enfermidade pulmonar intersticial, neoplasias, inmunodeficiencias, embarazo, tromboembolismo, trastornos da coagulación, alteracións analíticas entre as que destacan a leucocitose e a linfopenia, número elevado de lóbulos pulmonares afectados, e o tabaquismo. Ter un ou máis dos mencionados demostrou ser un factor de preponderancia maior á hora de prever a evolución clínica dos pacientes na enfermidade por COVID-19 (Ya-dong Gao, 2021).

1.1.4 Estratexias no tratamento da COVID-19

A estratexia para o tratamento da COVID-19 evolucionou rapidamente ó longo dos meses posteriores ó estoupido de casos a nivel global. Dende a disparidade entre os diferentes servizos de hospitalización e coidados intensivos dun primeiro momento, converxeuse nun enfoque consensuado e con evidencia ó seu favor. Actualmente debe considerarse unha abordaxe baseada principalmente na gravidade da infección. Para casos asintomáticos ou con síntomas leves, os pacientes deben recibir só tratamento sintomático e monitorización clínica. Pacientes hospitalizados cunha sintomatoloxía florida e certa afectación clínica son candidatos para terapia antiviral. A administración de corticoesteroides está reservada para casos máis graves, particularmente cando se instaurou un SDRA. A osixenoterapia mantense como

un tratamento esencial en pacientes que mostran dispnea e hipoxemia. A anticoagulación resulta de gran utilidade pola frecuencia dos episodios trombóticos na enfermidade. Os anticorpos monoclonais e a terapia con plasma de pacientes convalecentes permanecen como opcións terapéuticas, aínda que a súa efectividade está baixo estudo (Patrucco F, 2021).

1.1.5 Mecanismos de prevención da COVID-19; métodos de diagnóstico da infección

O dramático impacto que supuxo para as sociedades a COVID-19 provocou para os lexisladores de todo o mundo a necesidade de impoñer medidas destinadas á prevención do contaxio. En primeiro lugar, o mantemento de distancia social interpersoal de 1 metro está asociado a unha redución importante dos contaxios, e unha distancia interpersoal de 2 metros resultaría incluso máis efectiva. As máscaras protectoras contan así mesmo con ampla evidencia ó favor da súa capacidade preventiva na transmisión da SARS-CoV-2, tanto en traballadores sanitarios como na poboación xeral (Chu, 2020).

A busca dunha vacina efectiva contra a COVID-19 foi prioritaria dende un primeiro momento, implicando un esforzo titánico por parte de investigadores a nivel global para o seu desenvolvemento. Na actualidade os soros dispoñibles son numerosos e de efectividade demostrada variable (Zinatizadeh, 2022). As vacinas actualmente aprobadas pola EMA son: BNT162b2 (vacina mRNA, BioNTech/Pfizer), mRNA 1273 (vacina mRNA, Moderna), Ad26.COV2.S (vacina baseada en adenovirus, Janssen), ChAdOx1 nCoV-19 (vacina baseada en adenovirus, Oxford/Astra Zeneca) (European Medicines Agency, 2022).

Para a contención da pandemia, a vixilancia epidemiolóxica e os métodos de diagnóstico efectivos demostráronse fundamentais. Actualmente temos dispoñible unha ampla gama de tests para a detección do SARS-CoV-2. As

probas baseadas na detección de ácidos nucleicos do virus e os tests de antíxeno-anticorpo son as probas de carácter diagnóstico esenciais. O gold-standard para o diagnóstico da infección é a RT-qPCR (PCR cuantitativa). Os test de antíxenos-anticorpos contan cunha inferior sensibilidade que require dunha posterior comprobación dos resultados negativos cunha proba de detección de ácidos nucleicos. As seroloxías poden ser de utilidade na investigación de exposición ó axente viral e para a serovixilancia da poboación (Rai P, 2021).

O obxectivo destas medidas preventivas é o de reducir os efectos da enfermidade nos individuos e nos sistemas de saúde, así como evitar a transformación do virus responsable. Como é propio dos axentes virais, a SARS-CoV-2 mutou profusamente ó longo dos dous anos que levamos enfrontándonos a esta pandemia. As cinco variantes de interese do SARS-CoV-2 definidas pola OMS son: Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Delta (B.1.617.2) e Ómicron (B.1.1.529) (Zinatizadeh, 2022).

1.1.6 A COVID-19 en España

A Organización Mundial da Saúde (OMS) categorizou a COVID-19 coma emerxencia para a saúde pública o 30 de xaneiro de 2020, e seguidamente declarou a enfermidade unha pandemia o 11 de marzo de 2020 (Parasher, 2021). O primeiro caso de COVID-19 foi reportado en España o 31 de xaneiro de 2020 na illa canaria de La Gomera, sendo o caso 0 un turista alemán. A incidencia crecente de casos en occidente levou ós gobernos de numerosos países a tomar medidas descoñecidas ata o momento para abordar a crise sanitaria que se aveciñaba. O goberno de España declarou o primeiro Estado de Alarma o día 14 de marzo. O mesmo prolongaríase ata o 22 de xuño, tendo sido reportadas ata xuño 45.000 mortes ligadas á infección (Muyor-Rodríguez, 2021).

Ó longo da segunda metade do ano 2020 e o ano 2021, a pandemia causada pola COVID-19 atravesou diversos períodos de especial virulencia que levaron ó goberno de España a declarar o segundo e terceiro estados de alarma

para amparar as medidas de prevención dos contaxios exercidas polo propio goberno central e os diferentes gobernos de comunidades autónomas españolas (Muyor-Rodríguez, 2021). A vacinación comezou no estado español a finais de decembro do ano 2020, téndose inmunizado a través dunha campaña intensa a data do 6 de abril do 2022 a máis de 40 millóns de persoas, o 92,5% da poboación española maior de 12 anos (Sanidad, 2022).

A pesar dos inxentes esforzos realizados pola poboación española e os operadores sanitarios por conter a propagación do SARS-CoV-2, a data do 8 de abril de 2022 o Ministerio de Sanidade do Goberno de España sitúa en 11,6 millóns o número de casos de infección, e estima que os falecidos ascenden a máis de 103.000 (Ministerio de Sanidad, 2022).

A emerxencia sanitaria derivou nunha profunda crise social que aínda continúa a desenvolverse en España. A pandemia tivo un impacto desigual entre a poboación, afectando a paralización da actividade económica de forma particularmente intensa a actividades e empregos asociados a rendas baixas. A pesar do despregue de medidas económicas (ERTE, creación dun Ingreso Mínimo Vital, axudas a autónomos por cese de actividade, etc.) que conseguiron paliar a caída de rendas que se auspiciaba, non se evitou o decrecemento nos ingresos de numerosos colectivos. O deterioro das rendas das familias dos estratos sociais máis baixos agudizou as situacións de pobreza e severa necesidade, incrementando a demanda de mecanismos de protección social e de ONGs (Carlos Ocaña, 2020).

1.1.7 A Covid-19 en Iberoamérica

América do Sur foi unha das zonas do globo máis fortemente afectadas pola pandemia da COVID-19, nun contexto de precarios sistemas de saúde, profundas desigualdades económicas e inestabilidade financeira. Dos 10 países do mundo cunha taxa de mortalidade máis elevada, 8 atópanse neste continente. As intervencións de carácter epidemiolóxico non tiveron a capacidade de dobrear unha pandemia que se demostrou infatigable na zona, nun contexto de

exacerbada frustración e axitación da sociedade civil, que dificulta o cumprimento das medidas de prevención. As baixas taxas de vacinación dos países da zona, coa excepción de Chile, implica unha maior transmisión da enfermidade, e a aparición de variantes que se demostran máis contaxiosas e resistentes ás vacinas dispoñibles (The Lancet Editorial, 2021). A existencia dunha elevada prevalencia de comorbilidades como a hipertensión, a obesidade, a diabetes, ou a enfermidade coronaria, nas poboacións iberoamericanas, son outra causa para a ferocidade coa que a pandemia da COVID-19 afectou ó continente (García PJ, 2022).

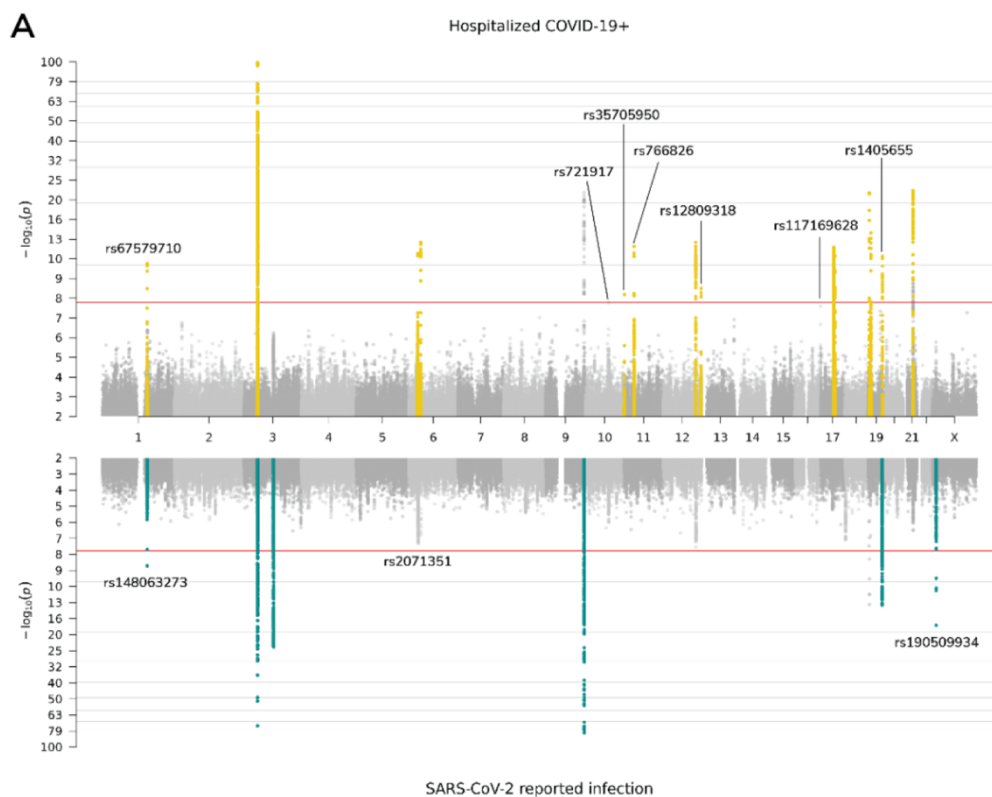
1.1.8 A xenética na COVID-19

A carga xenética dun individuo contribúe á susceptibilidade e á resposta a unha infección. A pesar de que os factores ambientais, clínicos e sociais teñen un rol importante na probabilidade de exposición e contracción do SARS-CoV-2 e na severidade da COVID-19, a xenética do hóspede podería presentar tamén relevancia. A identificación de factores xenéticos específicos para cada individuo ten o potencial de revelar mecanismos biolóxicos de relevancia terapéutica e sinalar relacións causais entre factores de risco ambientais e a infección e severidade desta enfermidade (HGI, 2021).

Varias sociedades científicas e grupos de investigación levaron a cabo investigacións na materia. A COVID-19 Host Genetics Initiative realizou unha meta-análise de GWAS que incluíu datos para 125.584 casos e máis de 2,5 millóns de controis agregando 60 estudos realizados en 25 países. Nun primeiro momento, no que non se contaba con esta elevada cantidade de datos, os estudos reportaron 13 loci relacionados coa predisposición á infección por SARS-CoV-2 e cunha maior severidade da COVID-19. A medida que se incrementou o número de casos dispoñibles para estudo, o consorcio científico incrementou os loci identificados en 10 máis, ata acadar un número total de 23. Moitos destes loci identificados xa se demostraran asociados a enfermidades pulmonares, como a fibrose pulmonar idiopática, e trastornos de carácter autoinmune. Varios codifican así mesmo para a produción de surfactante

pulmonar. Algún dos loci en cambio carece a simple vista dun xene inequivocamente responsable da relación. (HGI, 2021)

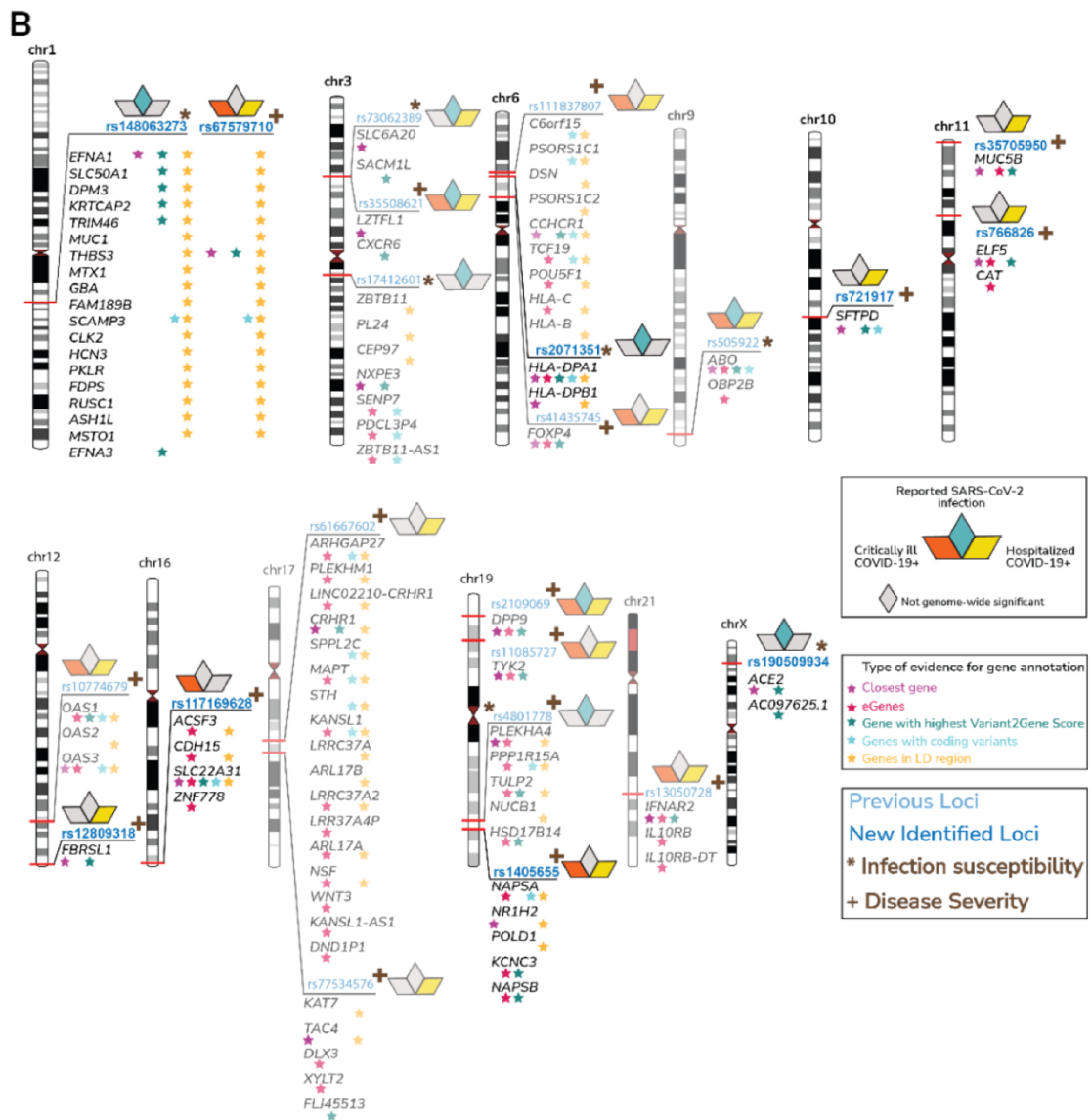
Figura 1: Superior Resultados da GWAS realizada en casos de hospitalización por COVID-19 (n=13.641 casos, n=2.070.079 controis). Inferior casos reportados de infección por SARS-CoV-2 (n=49.562 casos, 1.770.206 controis).



Fonte: COVID-19 Host Genetics Initiative

Os loci que aparecen ilustrados en amarelo no Manhattan Plot superior na figura 1, representan rexións asociadas cun maior nivel de severidade da COVID-19; ergo, maior probabilidade dun curso grave da enfermidade. Os loci subliñados en verde no Manhattan Plot inferior, son rexións asociadas a unha incrementada susceptibilidade á infección por SARS-CoV-2.

Figura 2: anotación topográfica dos principais xenes asociados coa COVID-19. * indica susceptibilidade á infección por SARS-CoV-2; + indica niveis máis altos de gravidade.



Fonte: COVID-19 Host Genetics Initiative

Nas investigacións da COVID-19 *Host Genetics Initiative* demóstranse por conseguinte un total de 23 loci asociados á COVID-19, aparecendo 16 dos mesmos relacionados cun incremento na probabilidade dunha maior severidade, e 7 asociados a susceptibilidade á infección. Dentro dos mesmos, dous destacan pola rotundidade coa que demostran a súa asociación cos factores estudados, como se demostra na figura 1. A simple vista é incuestionable que no Manhattan

Plot superior, que amosa asociacións en hospitalizados coa gravidade da enfermidade, o locus 3p21.31 situado no cromosoma 3 lidera a evidencia de asociación. Por outra banda, no Manhattan Plot inferior, que ilustra asociacións coa susceptibilidade á infección, o locus 9q34.2 do cromosoma 9 ten unha maior preponderancia. (HGI, 2021)

As conclusións sinaladas con respecto a estes dous loci situados nos cromosomas 3 e 9 son as que se repiten de maneira continua ó longo das investigacións realizadas na materia. Destaca un estudo realizado nos EUA con datos de 1.051.032 individuos que previamente cederan a súa información xenética , o cal comparte as principais conclusións da COVID-19 Host Genetics Initiative sobre estes dous loci:

O **locus 3p21.31** demóstrase como unha rexión codificante para un clúster de xenes, como son: SLC6A20, LZFTL1, CCR9, CXCR6, XCR1, FYCO1; os cales terían un rol potencial na fisiopatoloxía da COVID-19. Especialmente o xene SLC6A20 podería estar implicado na formación dun complexo con ECA2, o receptor da superficie celular responsable da penetración do SARS-CoV-2 (Shelton JF & 23andMe COVID-19 Team, 2021).

O **locus 9q34.2** atópase localizado na proximidade do xene AB0. O SNP en cuestión está usualmente asociado a un grupo sanguíneo tipo 0 cando o alelo está presente en homocigose. Ulteriores estudos demostraron unha relativa protección dos individuos do grupo sanguíneo tipo 0 á infección por SARS-CoV-2. A relación da mutación coa severidade da infección non se demostrou estatisticamente significativa. A posibilidade de que o locus AB0 levase a cabo unha modulación do locus susceptible do cromosoma 3 quedou tamén descartado (Shelton JF & 23andMe COVID-19 Team, 2021).

1.2 Genetic-Wide Association Study (GWAS)

Na clasificación etiolóxica clásica da enfermidade humana estaban descritas por unha banda as enfermidades xenéticas, nas cales os pacientes presentaban a mutación dun xene que provocaba graves efectos sobre o funcionamento normal do organismo; e por outra as enfermidades adquiridas, debidas a condicionantes ambientais. Abandonado este esquema, na actualidade sabemos que unha grande parte das enfermidades máis prevalentes son causadas por unha asociación entre os axentes ambientais e os predispoñentes xenéticos. Enfermidades coma a hipertensión arterial, a diabetes, a osteoporose ou a artrose aparecen máis prevalentemente nalgunhas familias, o que permite dilucidar a existencia dun compoñente xenético. A diferenza dos trastornos xenéticos clásicos, estas enfermidades non estaban causadas por un xene mutado individual, o que deu en denominalas enfermidades polixénicas. A secuenciación do xenoma humano levou a descubrir a enorme variabilidade interindividual do ADN, que contrariamente ás mutacións causantes das enfermidades xenéticas clásicas, demostran ter unha repercusión funcional leve ou nula, o cal deu en denominalos polimorfismos. Os SNPs (*single-nucleotide-polymorfisms*) consisten nun cambio único dunha base por outra nun locus determinado, sendo extremadamente abundantes, existindo 15 millóns no xenoma humano. O desenvolvemento dos *microarrays* fixo posteriormente posible unha análise eficiente de millóns de SNPs, sen a necesidade dunha análise individualizada dos mesmos.

Consecuencia da revolución científica e tecnolóxica no campo da xenética acontecida a principios de século, abriuse un novo campo de investigación: a exploración da integridade do xenoma sen hipóteses preconcebidas sobre a posible localización das mutacións. Os primeiros GWAS (*genomic-wide association study*), que foi coma se denominaron estes estudos de asociación xenómica, foron realizados no ano 2005 (Riancho, 2012).

O GWAS demostrouse como un potente deseño para a identificación de variantes xenéticas dun trazo fenotípico, e atopar asociacións entre SNPs comúns con enfermidades humanas. Primeiramente utilizado na investigación

en campos coma os do cancro e a patoloxía psiquiátrica, na actualidade verificase coma unha ferramenta esencial en todos os eidos da investigación médica, tamén no das enfermidades infecciosas (Marees AT, 2018).

1.3 *Genetic risk score (GRS)*

Os estudos realizados co deseño GWAS resolveron enigmas relacionados coa etioloxía de moitos trastornos complexos, que se demostraron de herdanza polixénica, e permitiron ós investigadores individualizar variantes xenéticas relacionadas cos trastornos. Estas variantes poden ser combinadas para establecer parte da susceptibilidade global dun individuo para o padecemento dun trastorno concreto. Esta combinación de mutacións xenéticas denomínase GRS (*genetic risk score*) ou PRS (*polygenic risk score*). Amplas investigacións avalan a asociación entre a GRS e a presenza da enfermidade para a que se estuda a predisposición xenética (Lewis, 2020).

A GRS está constituída por un conxunto de variantes xenéticas de risco asociadas cun trastorno, baseándose a constitución do mesmo na evidencia científica dispoñible obtida a través dos estudos de deseño GWAS. Para cada individuo, o número de alelos de risco en cada locus (0, 1 ou 2) é sumado, ponderando previamente cada un en función do seu efecto individual. O resultado obtido é unha puntuación que corresponde á carga de risco xenético que o individuo ten para un trastorno ou trazo concreto. Este sumatorio de variantes xenéticas ó longo do xenoma implica a inexistencia de interacción entre os diferentes SNPs, continxencia da que non existe evidencia na actualidade. Tampouco se inclúe no modelo a interacción xene-ambiente.

A simplicidade do cómputo da GRS é tanxible, se ben é certo que é o modelo con máis evidencia a favor que existe na actualidade. As súas limitación para totalizar o risco xenético para un trastorno reside tamén na incompleta lista de determinantes xenéticos responsables dunha enfermidade, así como na imprecisión do factor de ponderación. É importante destacar a súa maior evidencia está presente en poboacións de ascendencia europea, sendo o seu uso

en poboacións de ascendencia non europea máis inexacto polo menor do número de estudos realizados incluíndo este tipo de grupos de individuos (Lewis, 2020).

A GRS é un instrumento cun grande potencial e en expansión a pesar dos defectos no seu modelo. Trastornos entre os que se atopan a diabetes, o cancro de mama e próstata, a enfermidade de Alzheimer, as coronariopatías, ou a enfermidade inflamatoria intestinal, foron suxeitos de amplos estudos utilizando esta ferramenta. A GRS resulta eminentemente útil no campo da prevención, e fai factible a composición de traxectorias de risco vital que supoñan un elemento máis para a toma de medidas na prevención primaria, como modificacións no estilo de vida e test de screening individualizados. A utilidade clínica da GRS para a elección de intervencións, aínda que actualmente limitada, resulta tamén prometedora (Lambert SA, 2019).

2. Material e métodos

Establecido un marco teórico, continuamos para detallar o material e os métodos ós que recorreremos para a composición deste traballo de investigación. Farémolo detallando o establecemento dos dous grupos que comparamos, as técnicas de análise xenética que foron utilizadas, e os recursos de carácter estatístico que serviron para chegar ás conclusións.

2.1 Pacientes incluídos no estudo

Na elaboración da presente investigación foron recompilados datos de pacientes contaxiados polo virus SARS-COV-2 e que desenvolveron a enfermidade COVID-19. Os individuos partícipes na investigación forman parte de dous grupos marcadamente diferenciadas:

- A primeira cohorte está constituída por individuos iberoamericanos, que no momento de contraer a enfermidade e ser feitos partícipes do estudo, residían en España.
- A segunda cohorte está formada por individuos iberoamericanos que foron contaxiados nos seus países de orixe, onde foron recollidos os seus datos para o estudo.

A recollida dos datos clínicos dos pacientes incluídos na investigación, así como da súa información xenética, características fenotípicas e demais factores de interese analizados, tivo no lugar no período temporal comprendido entre os meses de marzo e decembro de 2020.

A información dos individuos incluídos na presente investigación foi recompilada en España e diversos países do continente suramericano. Os datos clínicos dos pacientes da primeira cohorte foron recollidos en hospitais españois. Respecto á segunda cohorte, os pacientes entraron a formar parte do estudo en centros sanitarios dos países de Colombia, Brasil, Paraguai e Venezuela.

No seo deste estudo incluíronse os datos de 2993 pacientes de COVID-19. Entraron a formar parte da primeira cohorte do estudo, que estuda a individuos iberoamericanos residentes en España durante a súa infección, 1011 pacientes. A segunda cohorte da investigación foi elaborada a partir da información recadada en Iberoamérica sobre 1982 pacientes.

Para a confección desta análise, foi recollida para cada participante información referente á idade, ó sexo, á gravidade da evolución da COVID-19, ás complicacións no seo da infección, á existencia de diferentes comorbilidades e á GRS.

Todos os pacientes participantes no estudo foron clasificados nunha escala de cinco niveis de severidade: 0, asintomáticos; 1, enfermidade leve; 2, enfermidade moderada; 3, enfermidade grave; 4, enfermidade crítica. Os parámetros escollidos para a inclusión de individuos en cada nivel de gravidade están recollidos na táboa 1.

Táboa 1. Escala de cinco niveis utilizada para clasificar ós pacientes do estudo SCOURGE.

Nivel	Clínica presente
Severidade 0 (asintomático)	Asintomático
Severidade 1 (leve)	Sintomáticos, pero en ausencia de infiltrados pulmonares nin necesidade de oxigenoterapia
Severidade 2 (moderado)	Con infiltrados pulmonares ocupando <50% do parénquima pulmonar ou necesidade de oxigenoterapia suplementaria
Severidade 3 (grave)	Hospitalizados cun dos seguintes criterios como mínimo: <ul style="list-style-type: none"> ● PaO₂ < 65 mmHg ou SaO₂ < 90% ● PaO₂/FiO₂ <300 ● SaO₂/FiO₂ <440 ● Disnea ● Frecuencia respiratoria ≥ 22 rpm ● Infiltrados afectando >50% do parénquima pulmonar
Severidade 4 (crítico)	Admitidos en UCI ou necesidade de ventilación mecánica (invasiva ou non invasiva)

PaO₂: Presión parcial de osíxeno en sangue arterial; SaO₂: Saturación de osíxeno en sangue arterial; FiO₂:Fracción inspirada de osíxeno.

Fonte: Consorcio SCOURGE

2.2 Datos xenéticos e elaboración de GRS

Todas as mostras foron xenotipadas co Axiom Spain Biobank array (*Thermo Fisher scientific*) no nodo de Santiago do Centro Nacional de Xenotipado, CEGEN. (CeGen-ISCH3; <http://www.usc.es/cegen>). Este array inclúe 757.836 marcadores e está enriquecido en variación rara presente en poboación española. Os datos xenéticos foron sometidos a un exhaustivo control de calidade: os marcadores cunha taxa de xenotipado inferior ó 98 %, cunha diferenza en taxa de xenotipado entre casos e controis $>0,02$ ou aqueles que se desviaban do equilibrio Hardy-Weinberg foron excluídos da análise. Do mesmo modo, aquelas mostras con baixa taxa de xenotipado ($<98\%$), excesivamente alta ou baixa heterocigosidade (desviadas máis de 5 desviacións da heterocigosidade promedio) e as mostras emparentadas foron eliminadas. As mostras foron ademais sometidas a análises de ancestralidade eco software Admixture, usando como poboacións de referencia as súper-poboacións da base de datos 1000 xenomas. Entre os casos recrutados en España, definíronse como latinas aquelas mostras con $>80\%$ de ancestralidade americana ou aquelas definidas como “*mixed*” (ningunha ancestralidade supera ese 80%) pero cuxo país de orixe era iberoamericano. No caso das mostras procedentes de hospitais de América do Sur realizouse a mesma análise e as mostras definidas como europeas ou africanas ($>80\%$ de ancestralidade) foron excluídas da análise.

Tras o control de calidade dos datos xenéticos obtívose como resultado unha GRS. A puntuación de risco xenético (GRS) foi elaborada para as cohortes de individuos do estudo SCOURGE utilizando a lista de 13 SNPs asociados con hospitalización, severidade ou risco na primeira meta-análise levada a cabo polo COVID-19 HGI. Utilizamos os efectos declarados como ponderación e priorizamos a ponderación da hospitalización para as variantes que resultaron significativamente asociadas nas tres análises. Para avaliar a existencia de diferenzas de risco xenético nos diferentes estadios clínicos, realizamos un ANOVA utilizando a escala de severidade de cinco niveis como variable independente. Un test Duncan *post hoc* foi realizado para avaliar estatisticamente a diferenciación pareada entre os distintos niveis.

2.3 Análises estatísticas

A asociación entre variables categóricas, como as diferencias en gravidade ou hospitalización entre sexos, realizouse mediante o test de χ^2 . A análise de diferencias entre grupos en variables cuantitativas, coma a GRS, foi realizada mediante análise de varianza (ANOVA) con post-hoc Duncan para avaliar as diferencias pareadas.

3. Resultados

Iniciamos a análise da investigación que nos ocupa detallando os datos obtidos con respecto ó estadio clínico e gravidade da COVID-19 en cada un dos grupos a estudo e trazando así mesmo os seus paralelismos e diverxencias. Dentro da cohorte 1, foron estudados 1011 pacientes. Con respecto á cohorte 2, foron estudados 1982 pacientes, cuxo estadio clínico quedou recollido en 1898 dos individuos, quedando deserta esta información para 84 individuos participantes . Os estadios clínicos dos pacientes de cada unha das cohortes está representado na táboa 2.

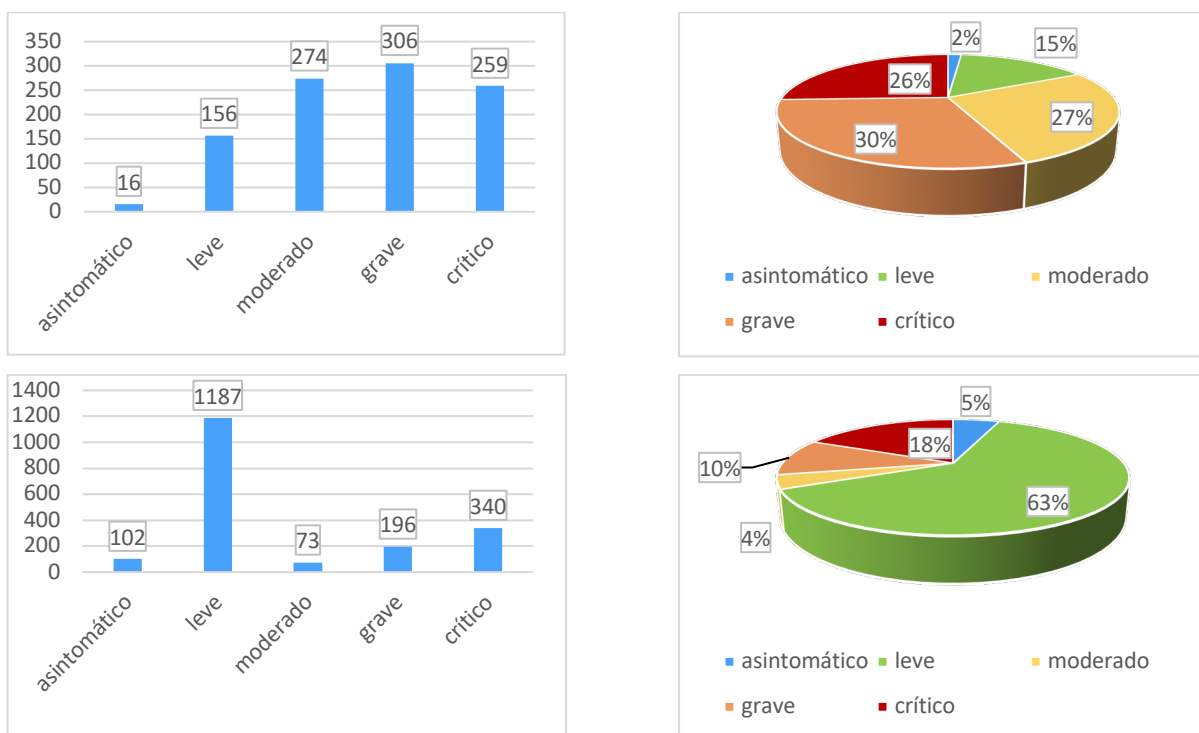
Táboa 2: Distribución de pacientes (%) en función da gravidade en cada cohorte

	asintomático	leve	moderado	grave	crítico	n
Cohorte 1	16(1.58)	156(15.43)	274 (27.1)	306(30.27)	259 (25.6)	1011
Cohorte 2	102(5.37)	1187(62.54)	73 (3.84)	196(10.33)	340(17.91)	1898

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia.

Na figura 1 aparecen a continuación ilustrados o número de pacientes afectados en cada estadio clínico de gravidade. A súa respectiva distribución porcentual en función do grado de afectación clínica preséntase tamén recollida.

Figura 1: grao de afectación clínica en ambas cohortes. Esquerda: recontos; dereita: %. Arriba (a,b): pacientes de ascendencia iberoamericana residentes en España. Abaixo (c,d): pacientes de hospitais iberoamericanos.



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia.

Como podemos observar, resulta salientable a diverxente distribución en función da gravidade en cada unha das cohortes. Mentres na cohorte de pacientes recollida en España a maioría son pacientes incluídos nos estadios de enfermidade moderada e severa; no caso da cohorte de pacientes recollida en América do Sur, os pacientes son na súa inmensa maioría individuos cunha enfermidade leve.

Unha vez delineado de maneira breve un esbozo de cada un dos dous grupos de pacientes, pasaremos a continuación a realizar una análise de diversas características individuais e clínicas, que funcionan como factores prognósticos para a evolución clínica do paciente a estudo.

3.1 Sexo

O número de individuos segundo o seu sexo en cada unha das cohortes a estudo, así como as distribucións porcentuais en cada cohorte quedan recollidos a continuación:

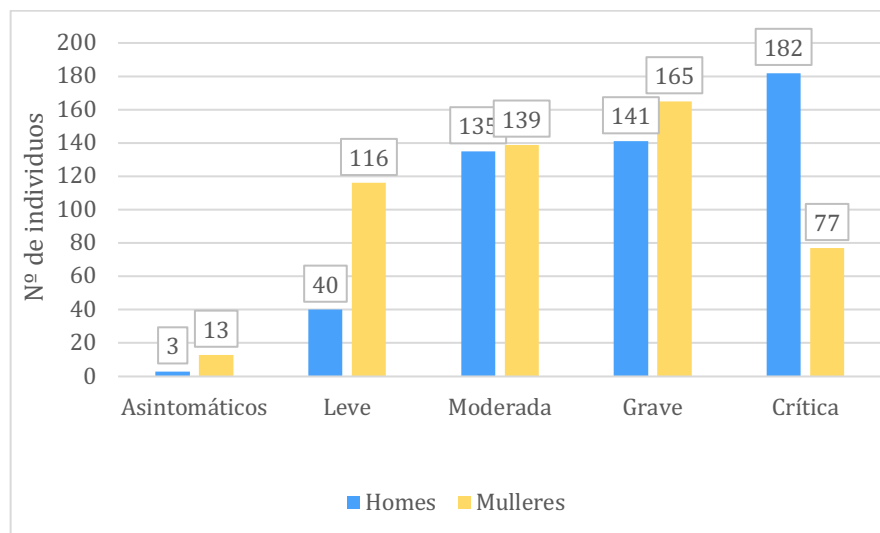
Táboa 3: Distribución dos pacientes en función do sexo en cada cohorte

	Homes	Mulleres	n
Cohorte 1	501 (49.5%)	510 (50.5%)	1011
Cohorte 2	808 (40.7%)	1174 (59.3%)	1982

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia.

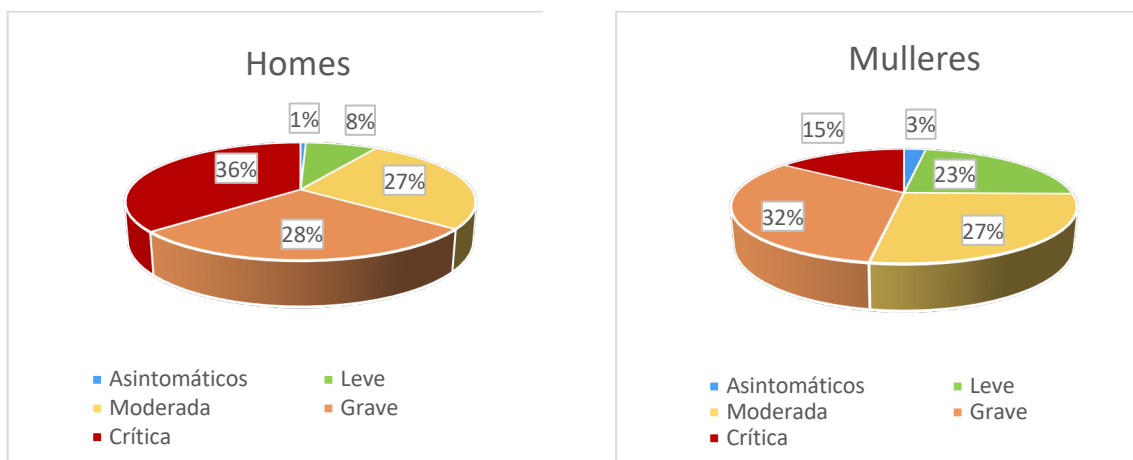
Segundo esta liña de investigación, cómpre facer unha análise da gravidade da afectación dos pacientes tendo en conta a variable do sexo. Con respecto á cohorte de pacientes latinos en España, a distribución por sexo en función do nivel de afectación sanitaria queda reflectida na figura 2. En segundo lugar, a distribución porcentual de cada un dos sexos en función da gravidade da súa enfermidade amósase na figura 3:

Figura 2: Distribución por sexo en función do nivel de afectación sanitaria na cohorte 1



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

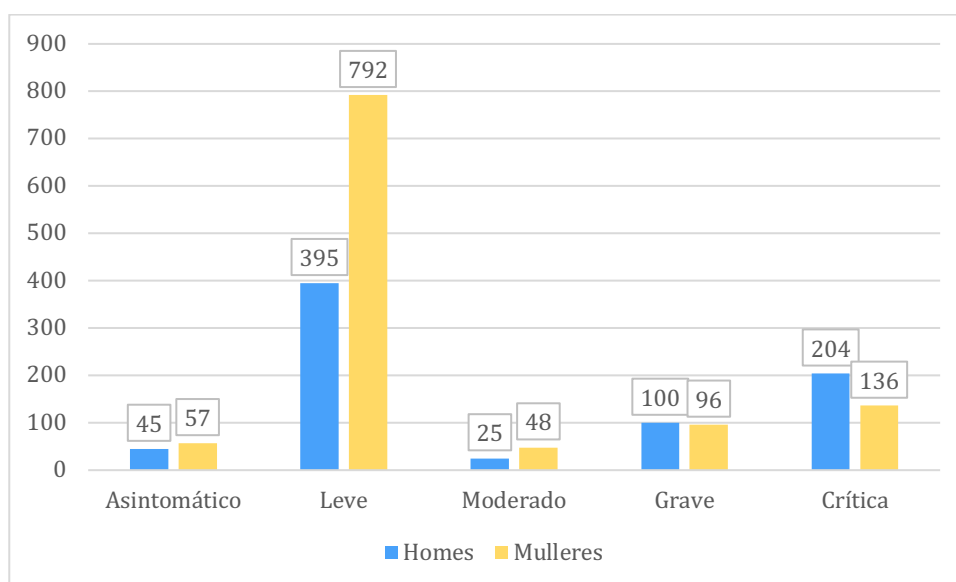
Figura 3: Distribución porcentual de cada un dos sexos en función da gravidade da súa enfermidade na cohorte 1



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

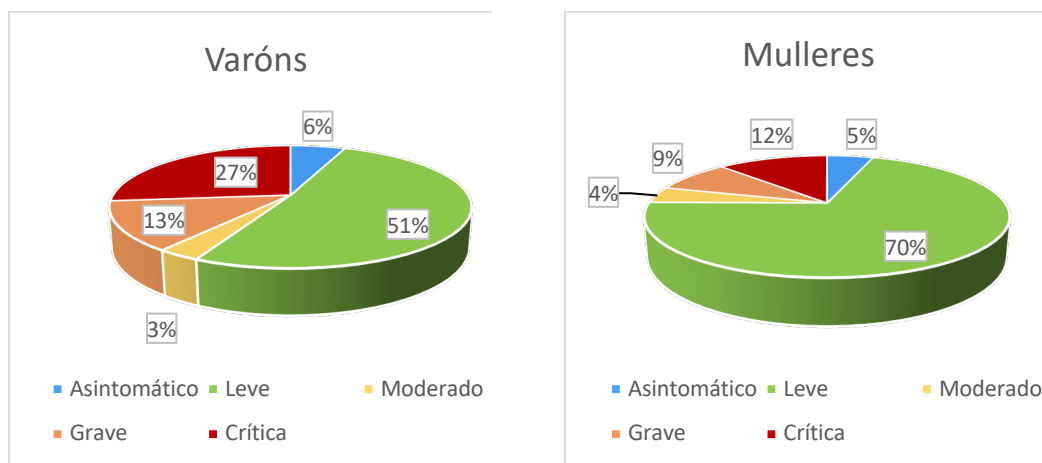
A mesma distribución en función da afectación clínica foi realizada na cohorte 2, presentando a continuación número de individuos que presentaron cada nivel de severidade, e a respectiva distribución porcentual de cada un dos sexos do grupo a estudo:

Figura 4: distribución por sexo en función do nivel de afectación sanitaria na cohorte 2



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Figura 5: Distribución porcentual de cada un dos sexos en función da gravidade da súa enfermidade na cohorte 2

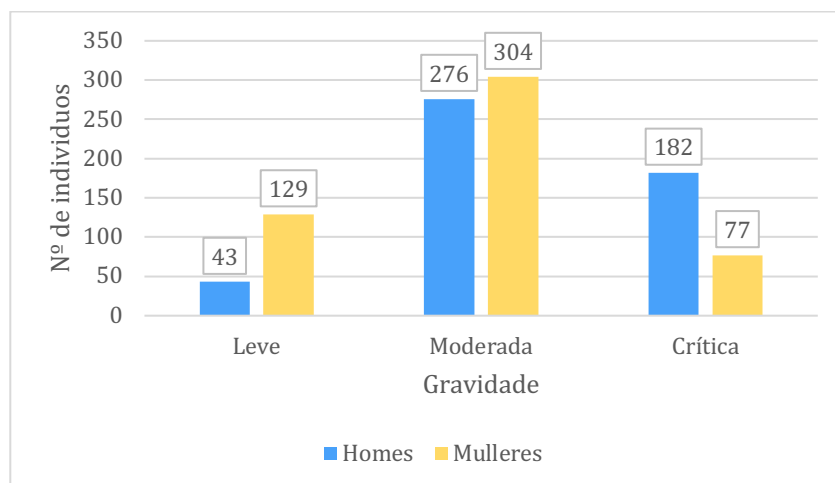


Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

A raíz da obtención e estudo destes datos sobre a afectación clínica dos pacientes das cohortes a estudo, realizouse unha reformulación na categorización dos niveis clínicos nos que se distribuíu ós individuos. Dende un modelo con 5 clases de gravidade, propúxose unha reagrupación en 3 niveis, pasando os niveis cualificados coma asintomático e leve a ser un único grupo denominado leve, unha clase intermedia ou moderada que agrupa a severidade moderada e a severa e permanecendo a severidade crítica coma unha entidade diferenciada. Esta reclasificación formulouse en función dos resultados da aplicabilidade da GRS na poboación europea, tal e como se fixo no artigo que mostra os resultados do proxecto SCOURGE en europeos.

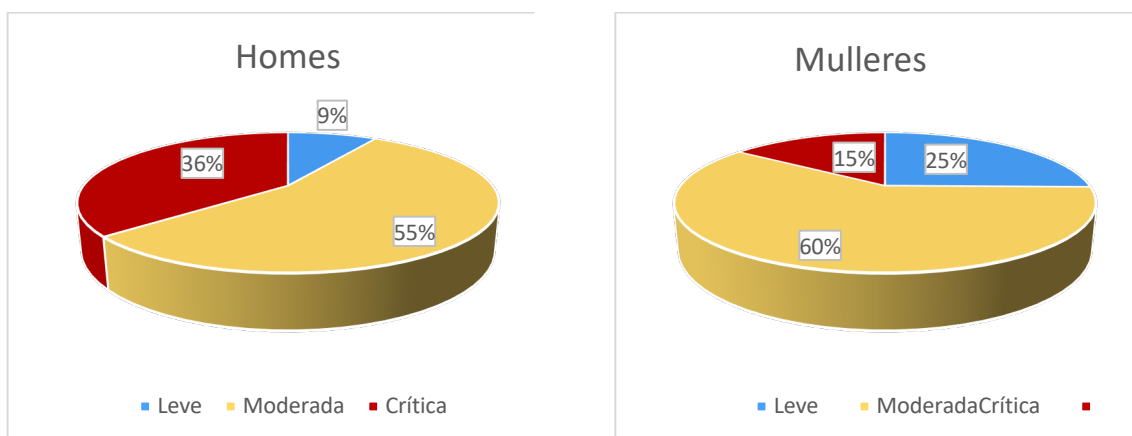
A nova distribución de individuos está representada a continuación para a cohorte dos pacientes latinos en España, aparecendo posteriormente as distribucións porcentuais por sexo nos gráficos correspondentes.

Figura 6: Distribución de individuos dividida por sexo en función de novos niveis de severidade na cohorte 1



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

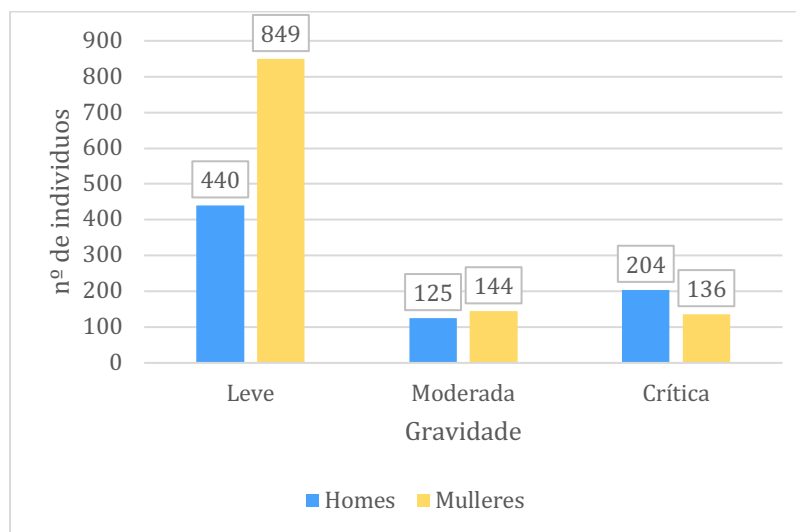
Figura 7: distribución porcentual de cada sexo en función de novos niveis de gravidade dentro da cohorte 1



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

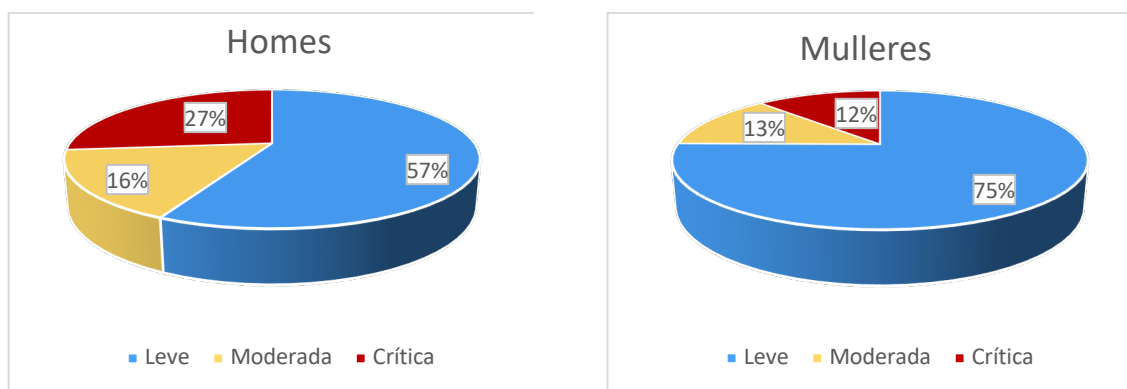
Á súa vez, a cohorte dos pacientes iberoamericanos aparece segregada seguindo a nova distribución en 3 niveis e a coa respectiva distribución porcentuais en función do sexo nos gráficos seguintes:

Figura 8: Distribución de individuos dividida por sexo en función de novos niveis de severidade na cohorte 2



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Figura 9: Distribución porcentual de cada sexo en función de novos niveis de gravidade dentro da cohorte 2



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

A través dos datos presentados, referentes ós diferentes estadios clínicos en homes e mulleres nas dúas cohortes, podemos verificar unha clara tendencia dos pacientes de sexo masculino cara niveis máis graves da enfermidade. Con independencia do número de niveis nos que se agrupe ós individuos do estudo, sempre hai unha porcentual significativamente máis alta de homes nos grupos de enfermidade grave e crítica. Á súa vez, a distribución para as mulleres é máis heteroxénea, tendendo a niveis de enfermidade leve e moderada.

En todos os casos a relación entre sexo e severidade é estatisticamente significativa (chi2 test, $p < 10^{-16}$).

3.2 Idade

A idade como variable de prognóstico demostrouse dende o comezo da pandemia da COVID-19 como un dos maiores factores de risco para unha evolución da enfermidade cara a estadios de maior gravidade clínica. A continuación presentamos a información recollida en ambas cohortes, poñendo en relación a idade do grupo de pacientes co nivel de afectación clínica presentado.

En primeiro lugar, na cohorte de pacientes latinos residentes en España, a evolución clínica en función da idade foi a seguinte:

Táboa 4: Distribución dos individuos en función da idade e niveis de gravidade na cohorte 1

	Idade	std	n	Mín.	Máx.
Asintomático	38.38	10.7	15	20	55
Leve	42.84	12.99	155	4	81
Moderado	47.96	11.56	274	21	86
Grave	51.92	13.42	306	18	93
Crítica	53.54	11.56	256	22	86

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Na cohorte estudada, verificase un precepto amplamente aceptado no estudo da enfermidade COVID-19: unha maior idade demóstrase como un factor de risco para acadar niveis de afectación clínica de maior gravidade.

Nesta liña de investigación realizouse unha análise para valorar o nivel de diferenciación estatística entre os niveis de severidade clínica en función da idade. O ANOVA mostrou que a diferenza de idade entre os grupos de severidade foi altamente significativa ($F = 94,55$ $p < 10^{-16}$). Seguidamente, para poder interpretar correctamente estas diferenzas e analizar se todos os grupos son significativamente diferentes entre si realizouse o test Duncan (táboa 5).

Taboa 5: Niveis de diferenciación estatística entre os niveis de severidade clínica en función da idade na cohorte 1 (pacientes latinos en España)

Gravidade	Idade media	Grupo
4	53.54	a
3	51.92	ab
2	47.96	b
1	42.84	c
0	38.38	d

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Dentro dos cinco niveis de afectación clínica, demostrouse a diferenciación estatística en 4 grupos, sendo grupo de gravidade 3 (grave) solapable ás cohortes adxacentes (grupo 2-moderado, grupo 4-severo).

En segundo lugar, os datos da cohorte de pacientes iberoamericanos estudando a relación entre a idade dos individuos e a severidade clínica da COVID-19 foron os representados a continuación:

Táboa 6: Distribución dos individuos en función da idade e niveis de gravidade na cohorte 2

	Idade	Std	n	Mín.	Máx.
Asintomático	44.01	14.28	100	21	81
Leve	38.97	11.94	1182	0	96
Moderado	41.53	13.25	73	22	78
Grave	47.9	17	194	20	88
Crítica	63.3	15.4	339	20	95

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Como se pode apreciar na táboa 6, no caso da cohorte de pacientes iberoamericanos, non se verifica perfectamente a relación directamente proporcional entre a media de idade dos individuos e os respectivos niveis de gravidade. O grupo no que se inclúen os individuos que permaneceron asintomáticos presenta unha media de idade (44.01) superior a aqueles grupos

de pacientes afectados por unha enfermidade cualificada coma leve (38.97) e incluso moderada (41.53).

Táboa 7: Niveis de diferenciación estatística entre os niveis de severidade clínica en función da idade na cohorte 2

Gravidade	Idade media	Grupo
4	63.3	a
3	47.9	b
0	44.01	c
2	41.53	cd
1	38.97	d

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

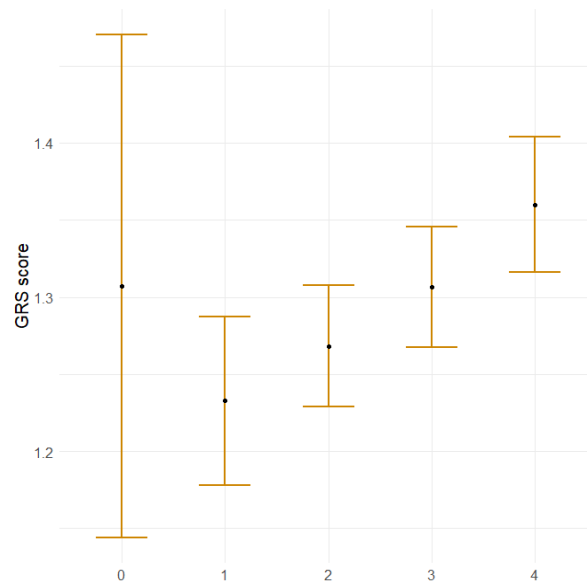
Con respecto á división en grupos en función da existencia de diferenciación estatística, a análise sería nesta cohorte máis complexa. Temos, do mesmo xeito que na cohorte anterior, catro grupos significativamente diferentes: o grupo de pacientes con enfermidade crítica (4) e enfermidade severa(3) móstranse significativamente diferentes entre si (o grupo de severidade crítica mostra unha idade significativamente máis elevada que o grupos de severidade grave) e dos grupos de enfermidade máis leve. Pola súa contra, o grupo caracterizado por unha evolución clínica definida como moderada (2) non demostra unha diferenciación estatística con respecto ó grupo de asintomáticos e o grupo leve. Cómpre tamén destacar que nesta cohorte o grupo de severidade leve (1) é o grupo coa idade media máis baixa, pero temos que ter en conta que este nivel de gravidade clínica está claramente sobrerrepresentado na cohorte 2.

3.3 GRS

A GRS (*genetic risk score*) que presenta cada un dos individuos e a súa asociación coa afectación clínica dos mesmos pola infección por SARS COV-2 foi a análise central do noso estudo de investigación.

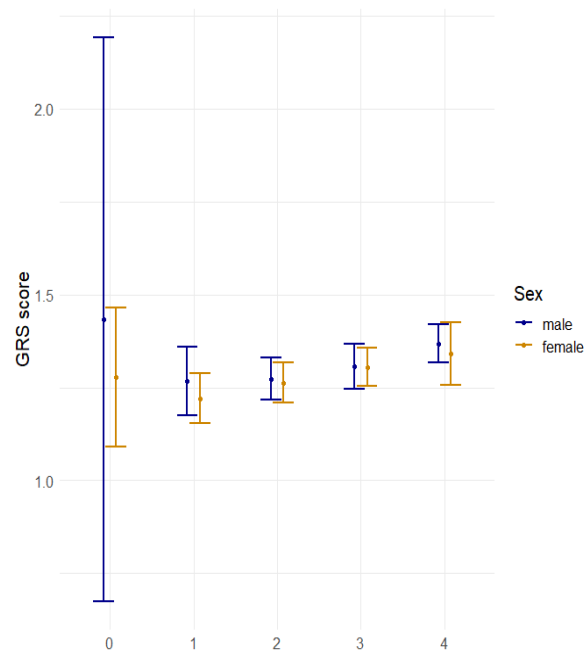
No seo da cohorte 1, aparecen a continuación os valores medios e intervalos de confianza da GRS en cada un dos estadios de afectación clínica. Na figura 10 realízase unha análise sen segregar os datos por sexo, e na figura 11 aparecen os mesmos datos unha vez realizada a devandita segregación.

Figura 10: Medida obtida da GRS na cohorte 1 en cada un dos grupos de afectación clínica



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Figura 11: Medida obtida da GRS na cohorte 1 en cada un dos grupos de afectación clínica por sexo



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Na análise da GRS en función da severidade da enfermidade observamos un incremento da variable da GRS a medida que se eleva o grao de afectación clínica dos individuos. Non obstante, evidénciase a simple vista un dato discordante con respecto ó resto do estudo: a GRS do grupo de asintomáticos (0) é parello a aquel do grupo de individuos que sufriron unha afectación cualificada como grave (3), e incluso superior ós grupos de enfermidade leve (1) e moderada (2).

A falta de diferencias que se aprecian na figura 10 (solapamento de todos os intervalos de confianza) pódese confirmar coa análise de varianza e o test Duncan, no que os niveis de severidade se clasifican dentro do mesmo grupo:

Táboa 8: Distribución da variable GRS en función dos niveis de severidade na cohorte 1

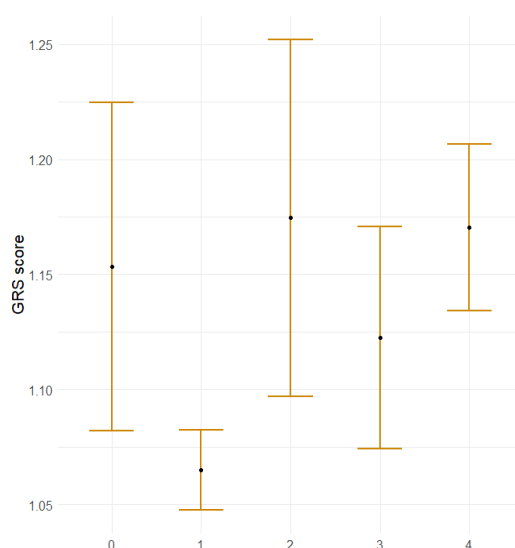
gravidade	GRS	grupo
4	1.36	a
0	1.31	a
3	1.31	a
2	1.27	a
1	1.23	a

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Non é polo tanto posible demostrar unha diferenza estatisticamente significativa entre os niveis da variable agregada GRS dos distintos niveis de afectación clínica.

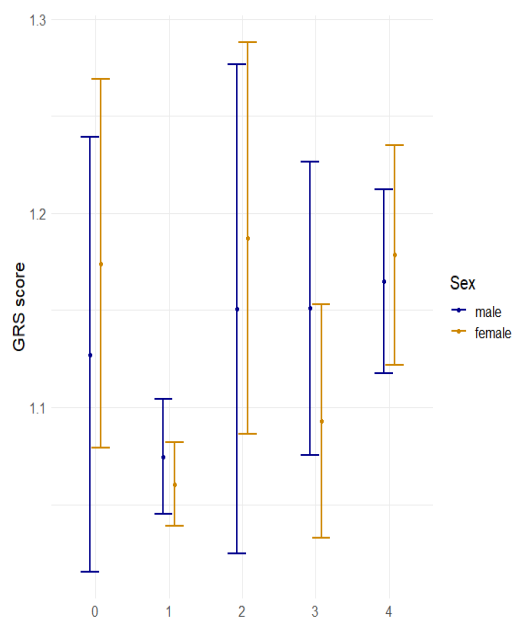
No estudo da cohorte 2, foi realizado a mesma análise relacionando os niveis de afectación clínica e o valor medio das estimación do valor de GRS. Unha vez máis, presentamos os datos primeiramente agregados e posteriormente segregados por sexo:

Figura 12: Medida obtida da GRS na cohorte 2 en cada un dos grupos de afectación clínica



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Figura 13: Medida obtida da GRS na cohorte 2 en cada un dos grupos de afectación clínica por sexo



Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

No caso desta cohorte, a posibilidade da existencia de relación entre o diferentes grupos de severidade e a variable do PRS escurécese. Non é posible trazar unha clara liña relacional, tendo en conta o anárquico dos resultados obtidos.

Coma no caso da cohorte anterior, realizamos á súa vez unha análise estatística para valorar a existencia de diferencias estatisticamente significativas entre os grupos:

Táboa 9: Distribución da variable GRS en función dos niveis de severidade na cohorte 2

Gravidade	GRS	Grupo
2	1.17	a
4	1.17	a
0	1.15	a
3	1.12	ab
1	1.06	b

Fonte: consorcio SCOURGE. Elaboración propia

Tanto a figura 12 coma o test de Duncan realizado posteriormente mostran como único resultado salientable que o grupo de severidade 1 mostra o risco máis baixo, que unicamente non pode demostrarse significativamente inferior respecto do grupo de severidade 3, como se aprecia na táboa 9. Debemos recordar que este grupo de severidade leve (1) resulta o máis numeroso nesta cohorte, o cal está directamente relacionado co seu intervalo de confianza máis estreito.

Esta análise non aporta ningunha información máis alá da xa comentada: a GRS parece carecer nesta cohorte de pacientes dunha relación coa gravidade do estadio clínico dos individuos da mesma.

4. Discusión

Na presente investigación utilizamos os datos recollidos e as mostras xenotipadas no marco do proxecto SCOURGE en dúas poboacións ben diferenciadas. Por unha parte, estudamos un grupo de pacientes de COVID-19 de ascendencia suramericana, cunha carga xenética que demostra ancestralidade latina, que no momento da infección se atopaban en España. A outra poboación a estudo foi de pacientes iberoamericanos que se contaxiaron en América do Sur.

A primeira diferenza que debe ser analizada é a distribución da gravidade dos pacientes do estudo en cada unha das dúas cohortes. No caso da cohorte 1, estudada en España, a severidade da afectación clínica dos pacientes foi moito maior que na súa homóloga suramericana. En España, o 30% dos individuos sufriron unha enfermidade grave, e un 25 % crítica; mentres que só un 15 % foron pacientes leves. No caso de Iberoamérica, a severidade da COVID-19 dos individuos a estudo foi menor: o 62% foron pacientes leves, e menos dun 30 % se circunscibiron ós niveis grave ou crítico.

Resulta innegable a gran disparidade entre ambas poboación na dimensión da gravidade dos pacientes. Para explicar as diferenzas, debemos reflexionar sobre as circunstancias nas que se tomaron as mostras, que puideron constituír un esgo de selección. Por unha banda, os datos foron tomados en España entre os meses de marzo de maio de 2020, no momento de maior colapso e urxencia sanitaria que se viviu ó longo desta pandemia. A recollida das mostras en América do Sur foi posterior, nos últimos meses do ano 2020. Sería sensato por tanto pensar que nestas dúas épocas tan diferentes no que respecta á COVID-19, existiron dous perfís de paciente distintos.

Nesta liña, cómpre valorar as condicións socioeconómicas diversas entre os pacientes de España e aqueles que viven en Iberoamérica. Os primeiros son individuos potencialmente inmigrantes, dunha clase social baixa, e posiblemente nun certo grao de exclusión social e con dificultades para acceder ó sistema sanitario. En contraposición, os pacientes en países suramericanos eran individuos da xeneralidade social. Non podemos por tanto supoñer un nivel

socioeconómico baixo para o país de residencia, pobreza relativa, ou a incapacidade de acudir a un centro sanitario cando o precisaron. En contra desta tese, é de sinalar que varios dos países nos que foron recrutados estes individuos carecen das infraestruturas sanitarias coas que conta España, o cal tería afectado na calidade dos seus coidados.

O sexo dos pacientes afectados pola COVID-19 e como se relacionaba o mesmo co curso clínico da infección foi outra das liñas de investigación que se seguiron. No caso da poboación de individuos residentes en España os resultados foron esclarecedores: mentres que o 36 % dos homes tiveran unha enfermidade crítica, só o 15% das súas homologas femininas alcanzaran ese estadio. Do mesmo xeito, o 25% das mulleres tiveron unha enfermidade sen sintomatoloxía ou coa mesma de carácter leve, mentres que só un 15% dos homes residentes en España tiveron un curso tan favorable.

Pese ás notables diferencias analizadas previamente nos estadios de gravidade na poboación residente en América do Sur, o carácter protector do sexo feminino tamén se verifica. Un 27% dos homes iberoamericanos tiveron unha infección crítica, para un 12% das mulleres que sufriron a mencionada doenza. Como no caso anterior, tamén máis mulleres que homes tiveron unha COVID-19 de carácter asintomático ou leve: un 57% de pacientes de sexo feminino por un 75% de varóns.

O resultado desta análise non resultou sorprendente. Dende o comezo da pandemia da COVID-19, múltiples fontes sinalaron unha porcentaxe máis elevada de varóns que sufrían comorbilidades, hospitalización e mortalidade, indicando que os homes potencialmente eran máis gravemente afectados pola infección. Unha das teorías que emerxeron para explicalo foi o potencial rol das hormonas sexuais no proceso de infección viral. As proteínas spike do SARS-CoV-2 utilizan a Proteasa Serina Transmembrana (TMPRSS2) para a invasión das células do hóspede. Os receptores de andróxenos son promotores da transcrición da TMPRSS2 e poden polo tanto facilitar a entrada do virus a nivel celular. Variantes no xene que codifica o receptor de andróxenos están

asociadas a unha maior sensibilidade androxénica, a cal provoca doenzas coma a alopecia e o cancro de próstata, resultando as mesmas asociadas a un curso clínico máis severo de COVID-19. Esta tese explicaría así mesmo a baixa afectación dos nenos impúberes (Mohamed MS, 2021).

Escépticos coa teoría previamente desenvolvida, outros autores defenden o rol das hormonas sexuais na regulación inmune como a explicación máis plausible á tendencia. A diferenza entre os sexos na resposta inflamatoria a unha infección viral, así coma diferentes estados de inmunidade e inflamación asociados a factores de risco cardiovascular podería resultar clave (Bienvenu, 2020). A presente teoría sería consistente coa menor carga viral reportada en mulleres, o seu inferior grao de inflamación, e ulteriormente co curso máis benigno que presentan (Raza, 2021).

Nunha enfermidade infecciosa de marcado carácter heteroxéneo coma a COVID-19, un dos primeiros factores de risco en resultar evidente foi o de presentar unha idade avanzada (Ya-dong Gao, 2021). Coma avanzabamos no apartado referente ós resultados da presente investigación, os datos obtidos dos individuos do grupo de pacientes de España ilustra univocamente a tendencia. De maneira estatisticamente significativa, cada estrato de severidade clínica presenta unha idade media de presentación directamente proporcional á súa gravidade. A nivel global, a extremada virulencia da enfermidade nas últimas décadas da vida é innegable, servindo como corolario a elevada morbilidade e mortalidade reportada en centros socio-sanitarios da terceira idade. Esta desproporcionada afectación é atribuída ó fenómeno de inmunosenescencia, o remodelado inmune asociado á idade. Consiste nunha disfunción na capacidade do sistema inmune de xerar unha resposta inmune competente á infección por SARS-CoV-2. Está considerada a principal causa da maior susceptibilidade á infección dos anciáns, principalmente ás infeccións respiratorias, coma a gripe ou a COVID-19 (Chen Y, 2021).

Pola contra, os datos obtidos do estudo de individuos de América do Sur non seguen de maneira ortodoxa este precepto con abundante evidencia

científica ó seu favor. Na cohorte 2, mentres que os casos graves e críticos si se verifican en grupos de idade media superior, o seguinte grupo en orde descendente de idade media de presentación é o dos asintomáticos, sendo os individuos máis novos os que tiveron un curso moderado ou leve. Como explicación a este fenómeno, poderíamos referirnos á clara sobrerepresentación do grupo de individuos cunha sintomatoloxía leve. Este grupo correspóndese co 63% de todas as mostras tomadas na cohorte iberoamericana, non podendo cualificar a selección de casos como adecuada e verificándose con moita probabilidade un nesgo de selección, por recorrer de maneira esaxerada a individuos novos con escasa sintomatoloxía. Esta escolla nesgada pode ser a causa da distorsión na directa proporcionalidade que habitualmente demostran a idade e a gravidade da COVID-19.

Por último, é obrigada unha análise do estudo realizado na presente investigación sobre a GRS (*genetic risk score*) e a súa relación coa gravidade do curso clínico da COVID-19. Como describíamos no apartado adicado ós resultados do estudo, no grupo de individuos residentes en España, observamos un aumento da puntuación da GRS a medida que se incrementa o nivel de afectación clínica dos individuos. Porén, existe un dato discordante con respecto ó resto do estudo: a GRS do grupo de asintomáticos (0) é parello a aquel do grupo de individuos que sufriron unha afectación cualificada como grave (3), e incluso superior ós grupos de enfermidade leve (1) e moderada (2). Os test estatísticos realizados demostraron que non é posible demostrar unha diferenza estatisticamente significativa entre os niveis da variable agregada GRS dos distintos niveis de afectación clínica. No caso do grupo de individuos residentes en América Latina, nin sequera é posible trazar unha liña de proporcionalidade directa entre a puntuación da variable agregada GRS e a gravidade da COVID-19. Os resultados resultaron anárquicos, lonxe das expectativas previas á análise.

A inexistencia de significación estatística e incluso a aparente falta de relación entre a GRS e a severidade da afectación dos pacientes pola infección

por COVID-19 non resultou, non obstante, inesperada. Como detallabamos no apartado referente ós materiais e métodos utilizados, a puntuación de risco xenético (GRS) foi elaborada para as cohortes de individuos do estudo SCOURGE utilizando a lista de SNPs asociados con hospitalización, severidade ou risco na meta-análise levada a cabo polo COVID-19 HGI. A meta-análise realizada polo mencionado consorcio incluía estudos de numerosos países de poboación cuxa ancestralidade era maioritariamente europea. Non só neste caso, senón a maioría de investigacións no campo da xenética son realizadas utilizando datos de poboacións de ancestralidade europea. Á vista da diferente arquitectura xenética existente entre poboacións, os nescos de representación poden exacerbar disparidades clínicas xa existentes. Variantes de gran preponderancia poden permanecer descoñecidas se son de baixa frecuencia ou están ausentes en poboacións europeas, máis aínda cando na actualidade o campo de estudo se centra en variantes raras, que con maior probabilidade resultan ser específicas para cada poboación. Nesta liña, a magnitude da importancia das mutacións e o GRS que se deriva do conxunto das mesmas non son extrapolables a outras poboacións distintas á aquela para a que foi elaborado (Wojcik GL, 2019).

Non é por tanto de estrañar que unha análise baseada nunha GRS elaborada a partir de milleiros de casos de individuos europeos, e aplicada sobre pacientes de ancestralidade latina, careza de significación estatística. Este resultado pode orientarnos cara a ausencia de aplicabilidade dos SNPs definidos como de risco para a susceptibilidade á infección por SARS-CoV-2 e para a maior gravidade do curso da COVID-19 en poboacións de ancestralidade diferente á europea.

A falta de representación de poboacións de orixes diversos na investigación xenética conducirá a un acceso inadecuado dos pacientes de ancestralidade diferente á europea á medicina de precisión. O obxectivo da redución das desigualdades sanitarias e da democratización da saúde pasa pola realización de investigacións sobre o xenoma de gran calado que inclúan poboacións diversas para maximizar os descubrimentos xenéticos, e que os mesmos sirvan a un maior número de persoas a nivel global (Wojcik GL, 2019).

5. Conclusións

Nunha revisión final, expoñemos as conclusións acadadas cos datos obtidos das dúas poboacións a estudo:

- O sexo feminino actúa coma un factor protector para a evolución da COVID-19 cara estadios de maior gravidade. Esta circunstancia verificase tanto na poboación de pacientes residentes en España coma na dos estudados en América Latina. As hormonas femininas e o seu efecto na regulación inmunolóxica e o seu rol na invasión viral a nivel celular son as teorías con máis evidencia para explicar o carácter protector de ser muller.
- A idade avanzada actúa coma un factor de risco para un curso máis tórpido da infección por SARS-CoV-2. Os datos acadados en pacientes en España verifican este precepto amplamente aceptado, sendo a teoría da inmunosenescencia e a consecuente incompetencia inmune a explicación que conta cun maior fundamento. Os datos de pacientes recollidos en Iberoamérica non seguen esta tendencia, e antes os mesmos debemos sospeitar a posibilidade da existencia dun nesgo de inclusión no estudo.
- A GRS derivada das investigacións en poboacións europeas non se verifica coma un factor prognóstico adecuado en poboacións de ancestralidade latina coma as que ocupan a presente investigación. Na cohorte de pacientes recollida en España si se percibe unha tendencia cara á proporcionalidade directa entre a GRS e o nivel de gravidade da afectación por COVID-19, os resultados non resultan en ningún caso estatisticamente significativos. Pola outra banda, con respecto á cohorte de individuos residentes en América Latina, non se puido establecer ningún tipo de relación entre os valores de GRS e un

incremento proporcional da afectación clínica dos pacientes pola infección. Os resultados obtidos van na liña das investigacións que defenden a imposibilidade de extrapolar as GRS obtidas en estudos realizados sobre poboacións de ancestralidade europea a poboacións de ancestralidade non europea. Investigacións xenéticas amplas e que inclúan poboacións de diversa ancestralidade son sumamente necesarias para unha democratización da saúde das poboacións, e o acceso universal á medicina de precisión.

Bibliografía

ALIMOHAMADI, Yousef; TAGHDIR, Maryam (2020, may). Estimate of the Basic Reproduction Number for COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, pp. 151-157.

ASSELAH, Tarik; DURANTEL, David (2021, january). COVID-19: Discovery, diagnostics and drug development. *Journal of Hepatology*, pp. 168-184.

BIENVENU, Laura; NOONAN, Jonathan (2020, december). Higher mortality of COVID-19 in males: sex differences in immune response and cardiovascular comorbidities. *Cardiovascular Research*, pp. 2197-2206.

OCAÑA, Carlos; BANDRÉS, Eduardo (2020). *Impacto social de la pandemia en España. Una evaluación preliminar*. Madrid: Funcas.

CHEN, Yiyin; KLEIN, Sabra (2021, january). Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Research Reviews*.

CHU, Derek; AKL, Elie; DUDA, Stephanie (2020, june). Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, pp. 1973–1987.

GARCÍA, Patricia; CABRERA, Diego (2022, february). HIV and COVID-19 in Latin America and the Caribbean. *Curr HIV/AIDS Rep*, pp. 37-45.

NEALE, Benjamin; GÓMEZ-CABRERO, David (2021, december). Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*, pp. 472-477.

KHAN, Mujeeb; ADIL, Syed (2020, december). COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far. *Molecules*.

LAMBERT, Samuel A; GAD, Abraham (2019, november). Towards clinical utility of polygenic risk scores. *Human Molecular Genetics*, pp. 133-142.

LEWIS, Cathryn M. (2020, may). Polygenic risk scores: from research tools to clinical instruments. *Genome medicine*, p. 44.

MAREES, Andries; DE KLUIVER, Hilde (2018, june). A tutorial on conducting genome-wide association studies: Quality control and statistical analysis. *International Journal of Methods Psychiatric Research*.

MAZUR-BIALY, Agnieszka Irena; KOŁOMAŃSKA-BOGUĆKA, Daria (2020, november). Pregnancy and Childbirth in the COVID-19 Era-The Course of Disease and Maternal-Fetal Transmission. *Journal of Clinical Medicine*.

MOHAMED, Mohamed S; MOULIN, Thiago (2021, january). Sex differences in COVID-19: the role of androgens in disease severity and progression. *Endocrine*, pp. 3-8.

MUYOR-RODRÍGUEZ, Jesús; CARAVACA-SÁNCHEZ, Francisco (2021, august). COVID-19 Fear, Resilience, Social Support, Anxiety, and Suicide among College Students in Spain. *International journal of environmental research and public health*.

PARASHER, Anant (2021, may). COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal*, pp. 312-320.

PATRUCCO, Filippo; GAVELLI, Francesco (2021, september 30). Current treatment challenges in the COVID-19 pandemic. *Polish Archives of Internal Medicine*, pp. 854-861.

RAI, Praveen; KRISNA, Ballamoole (2021, january). Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. *Applied Microbiology and Biotechnology*, pp. 441-455.

RAZA, Hussain Ahmed (2021, august). Sex hormones, autoimmunity and gender disparity in COVID-19. *Rheumatology International*, pp. 1375-1386.

RIANCHO, José Antonio (2012, april). Genome-wide association studies (GWAS) in complex diseases: advantages and limitations. *Reumatología Clínica*.

SHARMA, Anshika; FAROUK, Isra Ahmad (2021, january 29). A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses*.

SHELTON, Janie F; SHASTRI, Anjali J; YE, Chelsea (2021, june). Trans-ancestry analysis reveals genetic and nongenetic associations with COVID-19 susceptibility and severity. *Nature Genetics*, pp. 801-808.

SHI, Yu; WANG, Gang (2020, May 21). An overview of COVID-19. *Journal Zhejiang University*, pp. 343-360.

THE LANCET EDITORIAL (2021, july). COVID-19 in Latin America-emergency and opportunity. *The Lancet*.

TSANG, Hin Fung; CHI CHAN, Lawrence Wing (2021, july 19). An update on COVID-19 pandemic: the epidemiology, pathogenesis, prevention and treatment strategies. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, pp. 877-888.

UMAKANTHAN, Srikanth; SAHU, Pradeep (2020, december). Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate Medical Journal*, pp. 753-758.

WOJCIK, Geneviene L; GRAFF, Mariaelisa (2019, june). Genetic analyses of diverse populations improves discovery for complex traits. *Nature*, pp. 514-518.

GAO, Ya-Dong; DING, Mei (2021, february). Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy. European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, pp. 428-455.

ZHANG, Renyi; Li, Yixin (2020, june 30). Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, pp. 14857-14863.

ZINATIZADEH, Mohammad Reza (2022, february). Efficacy of mRNA, adenoviral vector, and perfusion protein COVID-19 vaccines. *Biomedicine & pharmacotherapy*.

Webgrafia

BMJ Best Practice (2022, april). Obtido o 27 de abril de 2022 de: https://bestpractice.bmj.com/topics/en-us/3000168/complications?_gl=1*1eyjmx*_ga*NDE0NTY2MjI2LjE2MzY1NjM2ODg.*_ga_EXTSVLH45V*MTY0OTA2NjEyOS43LjEuMTY0OTA2NzEwNi42MA..*_fplc*S1glMkIlMkZBMXoxN0h2NDBHZlYxVXNzc29ZV1VZQ1cxMTZzcE1JTnVyVktVJTJGVEQyWCUyRm03RFRLSm

European Medicines Agency (2022, april) Obtido o 27 de abril de 2022 de: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-authorised#authorised-covid-19-vaccines-section>

Ministerio de Sanidad (2022, abril). Obtido o 28 de abril de: <https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/situacionActual.htm>

Ministerio de Sanidad (2022, abril). Obtido o 29 de abril de: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Informe_GIV_comunicacion_20220408.pdf