



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**Influencia del estado de inmunocompetencia  
en la presentación y pronóstico en pacientes  
hospitalizados por neumonía adquirida  
en la comunidad**

Raúl Mendez Ocaña



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 4.0. Spain License.**



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**Programa de Doctorado en Medicina e Investigación Traslacional**

**TESIS DOCTORAL**

**INFLUENCIA DEL ESTADO DE INMUNOCOMPETENCIA EN  
LA PRESENTACIÓN Y PRONÓSTICO EN PACIENTES  
HOSPITALIZADOS POR NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA  
COMUNIDAD**

**Tesis Doctoral presentada por Raúl Méndez Ocaña para optar al  
Grado de Doctor en Medicina de la Universidad de Barcelona**

Directores:

**Dra. Rosario Menéndez Villanueva**

Hospital Universitari i Politècnic La Fe (Valencia)

**Prof. Dr. Antoni Torres Martí**

Hospital Clínic de Barcelona (Barcelona)

Barcelona 2021



## **AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL**

La Dra. Rosario Menéndez Villanueva, Jefa de Sección del Servicio de Neumología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia.

### **CERTIFICA:**

Que la Tesis Doctoral que lleva por título “Influencia del estado de inmunocompetencia en la presentación y pronóstico en pacientes hospitalizados por neumonía adquirida en la comunidad”, presentada por Raúl Méndez Ocaña para optar al grado de Doctor en Medicina, ha sido realizada bajo mi supervisión y cumple con los requisitos establecidos para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Para que quede constancia a los efectos oportunos, firmo la presente en Barcelona, Febrero de 2021.

Dra. Rosario Menéndez Villanueva



## **AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL**

El Prof. Antoni Torres Martí, Jefe de Sección y médico consultor senior de la Unidad de Vigilancia Intensiva Respiratoria del Hospital Clínic de Barcelona.

### **CERTIFICA:**

Que la Tesis Doctoral que lleva por título “Influencia del estado de inmunocompetencia en la presentación y pronóstico en pacientes hospitalizados por neumonía adquirida en la comunidad”, presentada por Raúl Méndez Ocaña para optar al grado de Doctor en Medicina, ha sido realizada bajo mi supervisión y cumple con los requisitos establecidos para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Para que quede constancia a los efectos oportunos, firmo la presente en Barcelona, Febrero de 2021.

Prof. Antoni Torres Martí



# ÍNDICE

- **Agradecimientos**
- **Presentación**
- **Introducción**
- **Hipótesis y objetivos**
  - **Hipótesis del estudio 1 y 2**
  - **Objetivos del estudio 1 y 2**
- **Resultados. Publicaciones originales**
  - **Artículo 1.** Lymphopenic Community Acquired Pneumonia (L-CAP), an Immunological Phenotype Associated with Higher Risk of Mortality
  - **Artículo 2.** Lymphopenic Community-Acquired Pneumonia Is Associated to Dysregulated Immune Response, Increased Severity, and Mortality
- **Discusión**
- **Conclusiones**
- **Publicaciones relacionadas**
- **Bibliografía**



## AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis Doctoral no habría podido realizarse sin el apoyo de grandes personas y profesionales. Es por este motivo que quiero transmitirles toda mi admiración y agradecimiento.

En primer lugar, a mis directores de tesis. En especial a la Dra. Rosario Menéndez Villanueva. A lo largo de estos años he tenido la suerte y el privilegio de aprender de ella todo lo que sé de investigación. Su confianza y apoyo incondicional me han ayudado siempre. Todo un ejemplo a seguir. Al Dr. Antoni Torres Martí. Es un honor contar con su confianza en esta tesis y aprender de sus sabios consejos.

En segundo lugar, todo mi agradecimiento a mis compañeras del grupo de investigación de Infecciones Respiratorias a lo largo de todos estos años: Luz, Ana, Alba, Álex e Isa que me han ayudado siempre en este camino. A todos mis compañeros del Servicio de Neumología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, en especial a Bea, Sole, Paula y Laura.

A mis padres y hermano. Por cuidarme, quererme tal y como soy y ser el mejor ejemplo posible. Por su bondad. Por enseñarme el valor del trabajo y el esfuerzo. Por su apoyo incondicional.

A mi mujer Sussy. Por estar siempre a mi lado y apoyarme en todo. Por su cariño y amor. Por la familia que estamos formando y la felicidad que me da día a día.

A mi hijo Nicolás. Por venir a iluminar mi vida.

Gracias.



## **PRESENTACIÓN**

La presente tesis doctoral, realizada por compendio de publicaciones, está estructurada de acuerdo a la normativa del programa de Doctorado de la Universidad de Barcelona y aprobada por la comisión de Doctorado de la Facultad de Medicina en Febrero de 2021.

Los estudios que forman parte de este trabajo son el resultado de una línea de investigación llevada a cabo durante los últimos años sobre neumonía adquirida en la comunidad (NAC). La línea de investigación se ha centrado principalmente en la inmunocaracterización de la NAC. Este es un aspecto clave para estadificar de acuerdo al pronóstico e identificar potenciales dianas terapéuticas en la NAC. El conocimiento sobre la participación del sistema inmune en la NAC es clave para fenotipar y realizar una aproximación terapéutica cada vez más personalizada en el futuro. Esta línea ha dado lugar principalmente a dos manuscritos originales, publicados en revistas de impacto internacional, y eje central de esta tesis, así como a otras publicaciones relacionadas. Estas revistas pertenecen al primer decil (artículo 1) y primer cuartil (artículo 2) respectivamente, y tienen un factor de impacto acumulado de 5.736 y 4.842 según el Journal Citation Report® (2019 JCR®. Clarivate Analytics 2020).



# INTRODUCCIÓN

## Epidemiología

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es todavía a día de hoy una patología muy frecuente. La NAC cuenta con una incidencia en torno a 3-11 casos por 1000 habitantes al año (1). Es más, las infecciones del tracto respiratorio inferior se mantienen como primera causa infecciosa de muerte en el mundo según datos del *Global Burden of Disease Study* (GBD) con 2.74 millones de muertes en 2015 (2). Esto es así tanto en países subdesarrollados como en los países desarrollados. La mortalidad por NAC hospitalizada en los países desarrollados se encuentra alrededor del 4-14% y asciende a más del 20% en la NAC grave (con ingreso en una Unidad de Cuidados Intensivos) (3). En España la neumonía fue la causa de defunción que más aumentó entre 2014 y 2015 con un incremento del 20.9% según datos del informe de 2017 de ‘Defunciones según la causa de muerte’ del Instituto Nacional de Estadística. Cabe destacar también, no solo los negativos datos de mortalidad sino también los costes económicos y la importante morbilidad generada. Las infecciones del tracto respiratorio generan 103 millones de años de vida perdidos ajustados por discapacidad a nivel mundial (2). Las complicaciones secundarias a la NAC que requiere ingreso hospitalario aparecen principalmente durante la fase aguda, es decir, durante la hospitalización. Entre ellas, algunas de las más frecuentes y graves son las cardiovasculares (4). Sin embargo, esta morbimortalidad que destaca principalmente en la fase aguda, persiste incluso años después de haber superado una NAC por lo que la magnitud del problema se perpetúa en el tiempo (5). Así pues, hablamos de una patología con un importante impacto a corto y largo plazo, y con unos costes económicos directos asociados por hospitalización elevados que ya en 2004 suponían

en torno a los 1553 €, todo ello sin tener en consideración los costes económicos indirectos secundarios (3).

La NAC es la segunda causa de sepsis a nivel mundial y la de mayor mortalidad (6). Más de un tercio de los casos de NAC hospitalizada se presentan con sepsis al diagnóstico (7). La presencia de sepsis, que implica el fracaso de uno o más órganos (8), determina la aparición de un mayor número de complicaciones y un peor pronóstico. Tanto es así que a mayor número de órganos que fracasan en la NAC, existe un riesgo creciente de mortalidad (9). Este grupo de pacientes en ocasiones es difícilmente identificable de manera precoz. Es por ello que este hecho es reconocido como una prioridad para mejorar la atención en la NAC.

De hecho, la mortalidad por NAC y sepsis no ha descendido de forma significativa a pesar del arsenal terapéutico y del mejor manejo con normativas permanentemente actualizadas (10). La NAC con sepsis grave continúa siendo un reto para el clínico. Esto centra la atención en nuevas perspectivas en el manejo de la NAC. Una perspectiva a estudio es la adecuada respuesta del paciente frente a la infección. En la última década se ha abierto una línea de investigación enfocada a profundizar en esta respuesta como un factor clave en identificar de manera precoz aquellos episodios más graves para modificar el desenlace de la enfermedad. Sin embargo, actualmente no existen estudios suficientes que ayuden a evitar las importantes complicaciones, el mal pronóstico y la elevada mortalidad que la NAC asocia en muchos casos.

### **Respuesta del huésped**

La variabilidad individual y la inmunopatogénesis de la NAC ponen de manifiesto la gran complejidad de esta patología (11). La medicina de precisión y el tratamiento individualizado ha supuesto grandes avances en otros campos como es en

el caso del cáncer (12). En la NAC, el objetivo es avanzar en esta dirección. Para ello es de vital importancia ampliar y mejorar el conocimiento disponible y aclarar las lagunas existentes en la susceptibilidad del huésped, su respuesta y las consecuencias clínicas en el mismo (13). La respuesta del huésped es una de estas áreas de interés. Las actuales líneas de investigación se encaminan a esclarecer la posible disfunción inmunológica del huésped con el objetivo de mejorar la supervivencia del paciente en última instancia. Establecer fenotipos pronósticos según la respuesta inmune del huésped nos va a ayudar a mejorar la comprensión de su fisiopatología, así como identificar potenciales dianas terapéuticas sobre las que intervenir y, por tanto, optimizar su abordaje terapéutico.

Algunas de las estrategias que han pretendido mejorar el manejo de la NAC incluyen el uso de los biomarcadores. Es el caso de la proteína C-reactiva (PCR), la procalcitonina (PCT) o la interleukina 6 (IL-6), entre otros (14). Estos y otros biomarcadores permiten optimizar la evaluación pronóstica en la NAC. Otro enfoque ha sido el análisis de la respuesta inmune innata frente a la infección. De una manera simple, el huésped reconoce a los microorganismos mediante los Toll-like receptors (TLRs) y es capaz a través de células mieloides, fundamentalmente neutrófilos, células dendríticas y macrófagos, de iniciar una activación de otras células y de la producción de citocinas (Figura 1). De esta interacción pueden resultar escenarios muy distintos: el aclaramiento del microorganismo, la aparición de una infección e incluso una sepsis grave. Las bases fisiopatológicas que explican el desarrollo de sepsis no están plenamente establecidas. La hipótesis más extendida es que se genera una excesiva respuesta del huésped capaz de provocar una “tormenta de citocinas” con alteraciones del sistema inmune (15). Este escenario puede provocar daño endotelial, favoreciendo el fallo multiorgánico y un desenlace fatal (9, 16). Las líneas de investigación se han

dirigido a profundizar en la relación entre este patrón de citocinas, la respuesta inflamatoria del huésped y su impacto tanto en la presentación inicial como en el pronóstico. Así, estudios previos muestran que un aumento inicial de citocinas (IL-6, IL-8 e IL-10) y su persistencia a las 72 horas se asocia al fracaso terapéutico y la progresión de la NAC (17). Estos resultados son consistentes con los de Kellum y colaboradores que demostraban una mayor concentración de citocinas en la NAC con sepsis (18).

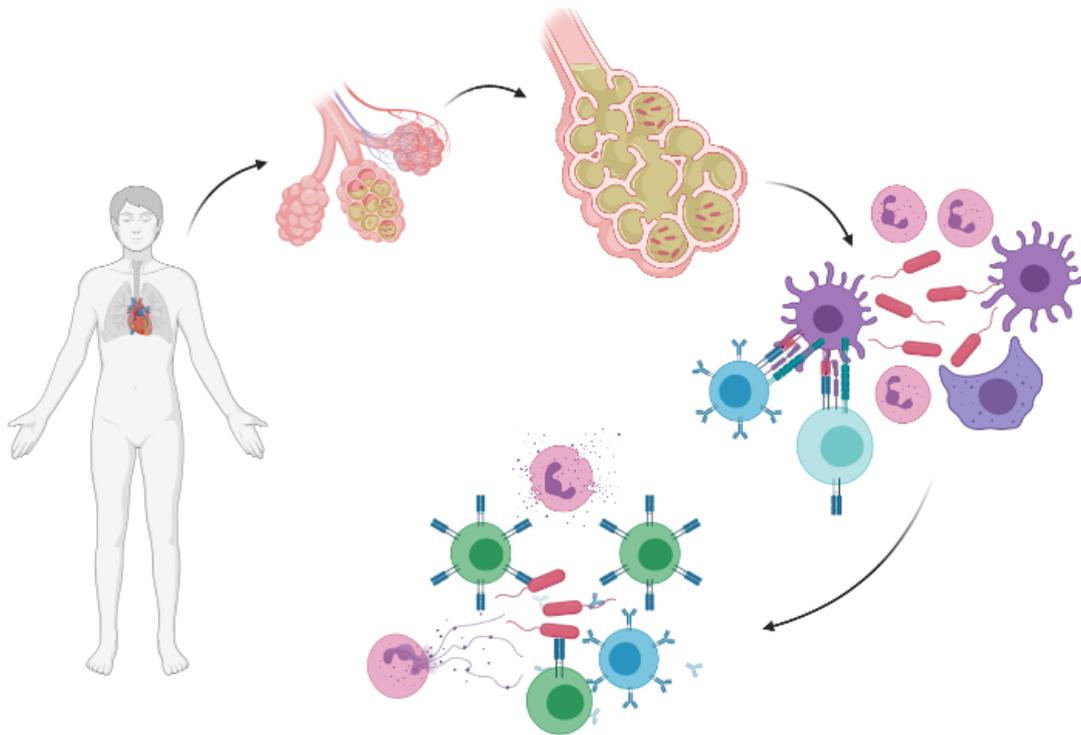


Figura 1. Activación de la respuesta inmune (creado con BioRender).

Así pues, hasta el momento los estudios previos se han centrado principalmente en la respuesta inflamatoria y la inmunidad innata de la NAC. La respuesta inmune adquirida en la NAC no ha sido plenamente estudiada. Hasta el momento todos los

estudios de inmunidad adquirida se centran en la sepsis y el shock séptico de cualquier origen (19). Tan solo algunos estudios en neumonía habían aportado información sobre la respuesta humoral por inmunoglobulinas pero raramente sobre la mediada por células (20). Otros trabajos llevados a cabo recientemente han ahondado en la respuesta inmune del huésped. Davenport y colaboradores realizaron un estudio prospectivo con análisis transcriptómico en pacientes con sepsis debido a NAC en el que identificaron dos firmas genéticas denominadas SRS (sepsis response signature) (21). La primera de ellas (SRS1) está asociada a un fenotipo con características de inmunosupresión que incluye, entre otros rasgos, el agotamiento de las células T y una regulación negativa del antígeno de superficie HLA (Human Leukocyte Antigen) caracterizada por una mayor mortalidad a los 14 días. Por su parte, en un estudio en sepsis realizado por Scicluna y colaboradores, y también mediante el análisis de expresión génica los autores identificaron 4 endotipos denominados MARS (Molecular Diagnosis and Risk Stratification of Sepsis) con una respuesta característica del huésped en el que el endotipo MARS 1 presentaba peor pronóstico a 28 días (22). Existen otros trabajos que evalúan por ejemplo el papel de la fracción soluble de CD14 (presepsina) o la expresión en los monocitos de HLA-DR (human leukocyte antigen-DR) (23, 24).

Frente a estas aproximaciones tan complejas y costosas basadas en distintas técnicas *ómicas* hay que darle valor a otras técnicas mucho más sencillas y accesibles para los clínicos. El valor de un simple leucograma apenas ha sido explorado en la NAC. Los linfocitos son los principales actores de la respuesta inmune adquirida del huésped frente a una agresión como es el caso de la NAC. Las células linfocitarias se clasifican a su vez en linfocitos T (entre los que destacan las células CD4<sup>+</sup> y las células CD8<sup>+</sup>), linfocitos B (CD19<sup>+</sup>) y células Natural Killer (Figura 2). Estas células son

responsables de la respuesta inmune adquirida celular y a su vez de la respuesta humoral mediada en gran parte por inmunoglobulinas y citocinas.

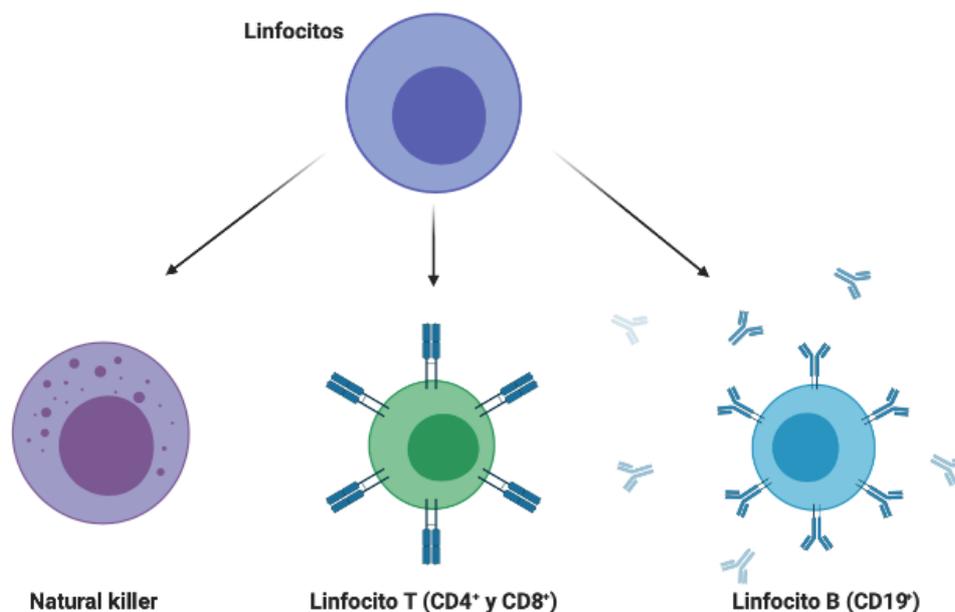


Figura 2. Células linfocitarias (creado con BioRender).

### Implicaciones en la NAC

La información disponible en la actualidad sobre NAC con sepsis evidencia un claro aumento de citocinas tanto a nivel sistémico como a nivel local en el pulmón, si bien se desconoce el curso o evolución de la respuesta celular adquirida. Los estudios en sepsis, en pacientes y en modelos animales, muestran que hay una importante alteración de esta respuesta con presencia de apoptosis de células T, lo cual influye negativamente en el pronóstico (25). No obstante, se desconoce el grado de participación de las distintas series celulares y la posibilidad de que un desequilibrio entre ellas contribuya a la resolución adecuada o no del episodio de infección. Es de prever que los cuadros más graves de NAC o que desarrollan una mala respuesta sea

debido a una respuesta inmune inadecuada por un desequilibrio entre los procesos inflamatorios y antiinflamatorios.

Teniendo en cuenta que los estudios actuales son escasos, mejorar el conocimiento del papel del estado de la respuesta adquirida o inmunocompetencia del paciente nos abre una ventana a identificar posibles dianas terapéuticas y merece nuestra atención. La integración y aplicación de la información obtenida en los estudios de inmunología en la NAC de mayor gravedad y con posible evolución al fracaso permitirá conocer de forma global los factores que participan en la fisiopatología de la NAC grave con objeto de mejorar el pronóstico de forma precoz y aplicar un tratamiento individualizado adaptado a la respuesta inmune del paciente y el momento evolutivo de la infección con mayor beneficio en aquellos de mayor gravedad.



## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **Hipótesis estudio 1**

La neumonía adquirida en la comunidad sigue presentando una importante morbimortalidad a nivel mundial. Tal y como sucede en otras patologías, es plausible que un tratamiento personalizado mejorará el pronóstico a corto y largo plazo de esta infección. Para ello es necesario caracterizar e identificar aquellos pacientes que se puedan beneficiar de un tratamiento específico. Hasta el momento se han utilizado técnicas basadas en el transcriptoma, o los biomarcadores. Sin embargo, la utilización de un simple leucograma como alternativa accesible y barata a las técnicas *ómicas*, puede ser de gran utilidad para caracterizar e identificar fenotipos en la neumonía adquirida en la comunidad en función de la respuesta inmune adquirida/adaptativa del huésped.

### **Hipótesis estudio 2**

La linfopenia ha sido identificada como un factor de riesgo independiente para mortalidad a los 30 días en la neumonía adquirida en la comunidad tal y como se demuestra en el estudio 1. Sin embargo, se desconoce la influencia de las distintas poblaciones linfocitarias en el pronóstico de la neumonía. Tampoco se ha estudiado si el recuento de linfocitos totales y/o el recuento de las distintas series linfocitarias afectan a la respuesta humoral mediada por inmunoglobulinas y a la respuesta inflamatoria mediada por citocinas. Es factible que la linfopenia, marcador de respuesta inmune alterada y de peor pronóstico, se relacione también con una mayor respuesta inflamatoria sistémica y una respuesta humoral mediada por inmunoglobulinas deficiente.

## **Objetivos estudio 1**

- Inmunocaracterizar la neumonía adquirida en la comunidad e identificar inmunofenotipos con peor pronóstico susceptibles de recibir tratamiento personalizado en el futuro.
- Evaluar el papel potencial del recuento de linfocitos y de neutrófilos en sangre como biomarcadores de mortalidad al diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad en pacientes inmunocompetentes que requieren ingreso hospitalario.

## **Objetivos estudio 2**

- Caracterizar los inmunofenotipos de neumonía adquirida en la comunidad linfopénica (L-CAP) y no linfopénica.
- Evaluar el papel de cada una de las poblaciones linfocitarias en la gravedad inicial y el pronóstico de la neumonía adquirida en la comunidad.
- Analizar el patrón inflamatorio asociado a la L-CAP mediante el análisis de citocinas sistémicas.
- Analizar la respuesta humoral mediada por inmunoglobulinas asociado a la L-CAP.



## **RESULTADOS. PUBLICACIONES ORIGINALES**



## DISCUSIÓN

Los principales resultados de la presente Tesis Doctoral se centran en la utilidad pronóstica del hemograma inicial, en particular de los linfocitos, en la neumonía adquirida en la comunidad (NAC, o CAP por sus siglas en inglés) y la caracterización de un inmunofenotipo en la NAC con mayor gravedad inicial, distinta respuesta inflamatoria y peor pronóstico.

Los hallazgos más importantes del primer estudio son: i) más del 50% de los pacientes hospitalizados por NAC no inmunodeprimidos presentan linfopenia ( $< 1000$  linfocitos/ $\text{mm}^3$ ) al ingreso; ii) el recuento bajo de linfocitos al ingreso se asocia con un mayor riesgo de muerte a los 30 días; iii) en particular, cifras inferiores a 724 linfocitos/ $\text{mm}^3$  (en adelante Lymphopenic-CAP o L-CAP) confieren un riesgo de morir a los 30 días de casi el doble (odds ratio de 1.93 y 1.86 en las cohortes de derivación y validación, respectivamente) respecto a aquellos pacientes con cifras superiores a 724 linfocitos/ $\text{mm}^3$ ; iv) por último, añadir la linfopenia a la escala CURB-65 mejora la capacidad pronóstica de su versión original.

Por su parte, los hallazgos más importantes del segundo estudio son: i) la linfopenia en la L-CAP está acompañada por un descenso de todas las subpoblaciones linfocitarias, con una caída más marcada de los linfocitos  $\text{CD4}^+$ ; ii) la L-CAP se asocia con una presentación inicial más grave y una respuesta inmune alterada (mayor respuesta inflamatoria sistémica y niveles más bajos de inmunoglobulinas); iii) por último, un descenso en el recuento de los linfocitos  $\text{CD4}^+$  es factor de riesgo independiente de muerte a los 30 días en la NAC en comparación con el resto de series linfocitarias.

Tanto en el primer estudio (en la cohorte de derivación multicéntrica y en la cohorte de validación unicéntrica) como en el segundo, más de un 50% de los pacientes

presentaron linfopenia ( $< 1000$  linfocitos/mm<sup>3</sup>) al ingreso y más de un 30% mostraron incluso un recuento inferior a 724 linfocitos/mm<sup>3</sup>. Estas cifras tan elevadas, aunque llamativas, son consistentes con la literatura previa. En un estudio previo con más de 3000 pacientes, los autores hallaron casi un 50% de pacientes con linfopenia (26). En otro estudio con 2155 pacientes con NAC, un 25% de los pacientes presentaban un recuento inferior a 700 linfocitos/mm<sup>3</sup> (27). Sin embargo, a pesar de constatar cifras similares en estudios previos, hasta el momento no se había evaluado correctamente la frecuencia y el papel pronóstico de la linfopenia en la NAC en pacientes no inmunodeprimidos. Recientemente, tras la aparición del nuevo coronavirus SARS-CoV-2 y la enfermedad que causa (COVID-19), ha quedado patente la importancia de la linfopenia en determinar su gravedad y pronóstico (28–30). Si bien es cierto que se trata de una enfermedad con características propias, la COVID-19 representa una variante de neumonía adquirida en la comunidad causada por un nuevo virus. En el caso de la COVID-19 múltiples trabajos han demostrado el importante papel pronóstico de la linfopenia tal y como demostramos en la NAC (31).

En ambos estudios de la presente Tesis Doctoral se encuentra una mayor frecuencia de linfopenia en aquellos pacientes con mayor gravedad inicial, aquellos que desarrollan más complicaciones, fracaso terapéutico o muerte. Los orígenes de esta linfopenia no están totalmente aclarados y se desconoce si son causa o consecuencia de la neumonía. Entre las hipótesis posibles más importantes se encuentran: 1) una producción deficiente de los mismos, 2) un aumento de la apoptosis, 3) la adhesión al endotelio vascular y 4) la migración o el secuestro con compartimentalización de los linfocitos en el órgano diana (32–34).

La serie celular de CD4<sup>+</sup> es la más afectada en este inmunofenotipo L-CAP. Los linfocitos CD4<sup>+</sup> son probablemente la célula más importante de la respuesta inmune

adquirida y se encargan de la correcta maduración y transformación de los CD8<sup>+</sup> en células de memoria junto con las células B (35, 36). Un descenso en su número puede conducir a una respuesta inmune adquirida alterada. Nuestros hallazgos muestran que más del 40% de los pacientes al diagnóstico y más del 75% de los que fallecieron tenían un recuento celular de CD4<sup>+</sup> inferior a 350 células/mm<sup>3</sup>. Esta cifra se corresponde al criterio inmunológico de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en aquellos pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (37). A pesar de que ambas infecciones no son homologables, se desconoce que grado de inmunosupresión confiere un recuento tan bajo en la neumonía en pacientes, *a priori*, inmunocompetentes. Además, en un estudio en infecciones nosocomiales de distinto origen, se objetivó un mayor descenso de las células CD4<sup>+</sup> en neumonías asociadas al ventilador comparado con otras infecciones hospitalarias (38). Esto muestra la especificidad de órgano de la respuesta inmune, en particular en las infecciones respiratorias.

Por su parte, los pacientes con NAC que fallecieron también presentaron un descenso más marcado de CD8<sup>+</sup> al diagnóstico. Este hecho se ha relacionado previamente con una mayor susceptibilidad a infecciones secundarias y su estimulación en modelos animales de sepsis ha demostrado un aumento de la supervivencia (39, 40). En cuanto a los linfocitos B, no hubo diferencias entre los supervivientes y los fallecidos. En estudios previos en sepsis se han encontrado hallazgos similares. Cuando se analizaban las subpoblaciones de linfocitos B (CD23<sup>+</sup>, CD80<sup>+</sup> o CD95<sup>+</sup>) los resultados mostraban diferencias entre ellas (41). Por último, una caída en el número de las células Natural Killer se ha asociado a una respuesta inmune deficiente en pacientes con inmunodeficiencia común variable y en modelos murinos de neumonía (42, 43).

En el segundo estudio publicado se encuentra una mayor hipercitoquinemia de marcadores pro- (IL-8, G-CSF o MCP-1) y anti-inflamatorios (IL-10) en aquellos pacientes con linfopenia. Estudios previos en sepsis han relacionado la hipercitoquinemia con un peor pronóstico (44). De esta forma se comprueba que un recuento bajo de linfocitos se correlaciona con una respuesta inflamatoria alterada determinando un escenario clínico para el paciente mas desfavorable. Además, los pacientes con L-CAP presentaron niveles bajos de inmunoglobulinas, principalmente de IgG y en particular de IgG2 que es la inmunoglobulina responsable de detectar los antígenos capsulares de polisacáridos bacterianos (45). Niveles de IgG2 inferiores a 301 mg/dL se han relacionado con un peor pronóstico en la NAC (46). En nuestro estudio, más de la mitad de los pacientes con L-CAP testados para inmunoglobulinas presentaron niveles de IgG2 por debajo de dicho umbral.

Las infecciones víricas son capaces de inducir linfopenia en muchos casos a través de una respuesta mediada por los interferones tipo I (47, 48). Si bien en el segundo artículo, donde se caracteriza el perfil de los pacientes con linfopenia, el porcentaje de pacientes con linfopenia entre las neumonías víricas fue un poco más alto (15.2% de los pacientes), no se alcanzaron diferencias significativas. Una de las posibles explicaciones es que el diagnóstico microbiológico se ajustó a las guías clínicas, que no recomiendan un cribado sistemático para virus fuera de la época epidemiológica de la gripe. Sin embargo, es muy probable que exista un infradiagnóstico de las infecciones víricas ya que pueden representar hasta un 27% en la NAC cuando se implementan estudios microbiológicos específicos para su determinación (49).

## Consecuencias e implicaciones clínicas

El leucograma es un biomarcador sencillo, rápido y asequible en cualquier ámbito asistencial hospitalario a diferencia de lo que ocurre con otros biomarcadores. Existen biomarcadores que han demostrado utilidad pronóstica en la NAC pero debido a factores como la complejidad en el análisis o interpretación de los resultados, su precio o su fiabilidad, han socavado su implantación en la práctica clínica diaria (50–55).

La inmunocaracterización de la neumonía tiene importantes implicaciones clínicas. La L-CAP, un inmunofenotipo con peor pronóstico, podría beneficiarse de una estrategia terapéutica personalizada. En los últimos años, la aparición de nuevos antibióticos no ha demostrado superioridad (tan solo no inferioridad) respecto a la práctica clínica habitual con la excepción de la ceftarolina (56, 57). Junto al tratamiento antibiótico, otras estrategias encaminadas a modular la respuesta inmune han sido exploradas como los corticoides o las estatinas con resultados diversos. Es probable que estos tratamientos no antibióticos no se adapten a la aproximación *one-size-fits-all*. La identificación de una población diana más vulnerable como los pacientes L-CAP, permitiría diseñar ensayos clínicos con tratamientos encaminados a modular la respuesta inmune en pacientes más susceptibles a estos tratamientos. Tal y como ha sucedido en las últimas décadas en el tratamiento del cáncer (58), la inmunoterapia probablemente permitirá en el futuro establecer tratamientos adyuvantes y alcanzar un abordaje terapéutico personalizado en la sepsis en general y en la NAC en particular (59). De hecho, ya existen tratamientos experimentales dirigidos a expandir el recuento de linfocitos o modular su función (60). Entre algunos de los inmunoadyuvantes más prometedores se encuentran la IL-7 y el anti-PD-1 (anti-programmed cell death 1 antibody) que son capaces de incrementar la producción de linfocitos y mejorar su

función en pacientes sépticos (61, 62). Recientemente, en un ensayo clínico fase 2 en 27 pacientes (entre ellos 9 pacientes con neumonía) con shock séptico se utilizó la linfopenia para identificar y seleccionar aquellos pacientes con una respuesta inmune alterada y el endpoint primario fue precisamente revertir la linfopenia. En este ensayo clínico, el tratamiento con IL-7 humana recombinante demostró ser seguro y efectivo en restituir la pérdida de linfocitos, principalmente de células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, aumentar la activación de las células T y, por último, favorecer la migración de las células CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> al lugar de la infección (63). Evidentemente estas nuevas herramientas terapéuticas no serán beneficiosas para todos los pacientes, es por ello que cobra una gran importancia la correcta inmunocaracterización de los pacientes en fases iniciales.

## **Limitaciones**

La principal limitación del primer estudio es su carácter retrospectivo. De hecho, esto impide que los hallazgos se hayan podido ajustar por variables confusoras como el estado nutricional o el índice de masa corporal entre otras. Desconocemos si estas características podrían haber influido en los hallazgos del trabajo. Otra limitación es la ausencia de datos sobre las principales subpoblaciones linfocitarias (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup> y Natural Killer). Sin embargo, este hecho queda resuelto con los hallazgos del segundo estudio donde se evalúa específicamente el papel de las distintas subpoblaciones linfocitarias en la L-CAP. Por último, el porcentaje de neumonías víricas es relativamente bajo (no tanto en el segundo estudio) debido a las razones previamente comentadas. La realización de pruebas microbiológicas se ajustó a las normativas vigentes, que tan solo recomendaban la detección de virus respiratorios en periodos epidémicos (1). Son necesarios estudios prospectivos con un diseño que incluyan una búsqueda sistemática microbiológica completa, así como la realización de

pruebas de alta sensibilidad para poder conocer el impacto real de la etiología microbiológica en la linfopenia.

En relación al segundo artículo, como principal limitación cabe destacar que se trata de un estudio unicéntrico. Futuros estudios en otros centros deben confirmar estos hallazgos. El análisis detallado de otras subpoblaciones linfocitarias como las T<sub>reg</sub> o subtipos de células B (CD23<sup>+</sup>, CD80<sup>+</sup> o CD95<sup>+</sup>) entre otras, no ha sido abordado en los presentes trabajos por lo que sus implicaciones en la NAC están por dilucidar. Además, la posterior monitorización de la evolución de las subpoblaciones linfocitarias –a los 4 días– se realizó en un menor porcentaje de pacientes. Un análisis más profundo en este sentido es necesario para una adecuada comprensión de la cinética celular en el tiempo y su relación con el pronóstico. Por último, la determinación de los niveles de inmunoglobulinas se realizó en un subgrupo de pacientes y no se pudo evaluar su papel pronóstico.



## CONCLUSIONES

Las conclusiones de esta Tesis Doctoral responden a los objetivos que motivaron la investigación original:

### Estudio 1

1. El recuento de linfocitos al ingreso es un biomarcador pronóstico de mortalidad en la NAC en pacientes no inmunodeprimidos. Su adición al CURB-65 (CURB-65L) mejora el valor pronóstico de esta escala. Este biomarcador es barato y fácilmente accesible para los clínicos, siendo una herramienta útil tanto para una evaluación inicial, como para la monitorización de este tipo de pacientes.
2. El recuento de linfocitos permite inmunocaracterizar la neumonía adquirida en la comunidad. La neumonía linfopénica (L-CAP) es un inmunofenotipo con peor pronóstico, susceptible de una aproximación terapéutica individualizada en el futuro.

### Estudio 2

1. La L-CAP se asocia a una mayor gravedad inicial con rasgos de una respuesta inmune alterada caracterizada por mayor inflamación sistémica y niveles bajos de inmunoglobulinas.
2. Los pacientes con L-CAP presentan un bajo recuento de todas las poblaciones linfocitarias, siendo más marcado en los CD4<sup>+</sup>.
3. Un bajo recuento de las células CD4<sup>+</sup> se asocia a un peor pronóstico de la neumonía ajustado por edad, género y CURB-65.

En resumen, los resultados de esta Tesis Doctoral suponen un avance en la inmunocaracterización de la neumonía adquirida en la comunidad. Aportan nuevas herramientas pronósticas rápidamente disponibles para los clínicos. Además, los hallazgos permiten identificar una población susceptible de un manejo clínico personalizado. Por último, los resultados apoyan el desarrollo futuro de ensayos clínicos encaminados a regular la respuesta inmune.



## **PUBLICACIONES RELACIONADAS**

- **Effect of Corticosteroids on C-Reactive Protein in Patients with Severe Community-Acquired Pneumonia and High Inflammatory Response: The Effect of Lymphopenia.**

Torres A, Ceccato A, Ferrer M, Gabarrus A, Sibila O, Cilloniz C, Méndez R, Menéndez R, Bermejo-Martin J, Niederman MS.

J Clin Med. 2019 Sep 13;8(9). pii: E1461. doi: 10.3390/jcm8091461.

- **Lymphopenic Community-Acquired Pneumonia as Signature of Severe COVID-19 Infection.**

Bermejo-Martin JF, Almansa R, Menéndez R, Méndez R, Kelvin DJ, Torres A.

J Infect. 2020 May;80(5):e23-e24. doi: 10.1016/j.jinf.2020.02.029. Epub 2020 Mar 5.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Menéndez R, Torres A, Aspa J, Capelastegui A, Prat C, Rodríguez de Castro F, Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. [Community acquired pneumonia. New guidelines of the Spanish Society of Chest Diseases and Thoracic Surgery (SEPAR)]. *Arch Bronconeumol* 2010;46:543–58.
2. Troeger C, Forouzanfar M, Rao PC, Khalil I, Brown A, Swartz S, Fullman N, Mosser J, Thompson RL, Reiner RC, Abajobir A, Alam N, Alemayohu MA, Amare AT, Antonio CA, Asayesh H, Avokpaho E, Barac A, Beshir MA, Boneya DJ, Brauer M, Dandona L, Dandona R, Fitchett JRA, Gebrehiwot TT, Hailu GB, Hotez PJ, Kasaeian A, Khoja T, *et al.* Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis* 2017;17:1133–1161.
3. Welte T, Torres A, Nathwani D. Clinical and economic burden of community-acquired pneumonia among adults in Europe. *Thorax* 2012;67:71–79.
4. Singanayagam A, Singanayagam A, Chalmers JD. Is community-acquired pneumonia an independent risk factor for cardiovascular disease? 2012;39:187–196.
5. Mortensen EM, Kapoor WN, Chang C-CH, Fine MJ. Assessment of Mortality after Long-Term Follow-Up of Patients with Community-Acquired Pneumonia. *Clin Infect Dis* 2003;37:1617–1624.
6. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara D V., Ikuta KS, Kissoon N, Finfer S, Fleischmann-Struzek C, Machado FR, Reinhart KK, Rowan K, Seymour CW, Watson RS, West TE, Marinho F, Hay SI, Lozano R, Lopez AD, Angus DC, Murray CJL, Naghavi

- M. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2020;doi:10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
7. Montull B, Menéndez R, Torres A, Reyes S, Méndez R, Zalacain R, Capelastegui A, Rajas O, Borderías L, Martín-Villasclaras J, Bello S, Alfageme I, Rodríguez de Castro F, Rello J, Molinos L, Ruiz-Manzano J, NAC Calidad Group. Predictors of Severe Sepsis among Patients Hospitalized for Community-Acquired Pneumonia. *PLoS One* 2016;11:e0145929.
  8. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Hotchkiss RS11, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL AD. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801–810.
  9. Menéndez R, Montull B, Reyes S, Amara-Elori I, Zalacain R, Capelastegui A, Aspa J, Borderías L, Martín-Villasclaras JJ, Bello S, Alfageme I, Rodríguez de Castro F, Rello J, Molinos L, Ruiz-Manzano J, Torres A. Pneumonia presenting with organ dysfunctions: Causative microorganisms, host factors and outcome. *J Infect* 2016;73:419–426.
  10. Cillóniz C, Liapikou A, Martín-Loeches I, García-Vidal C, Gabarrús A, Ceccato A, Magdaleno D, Mensa J, Marco F, Torres A. Twenty-year trend in mortality among hospitalized patients with pneumococcal community-acquired pneumonia. *PLoS One* 2018;13:e0200504.
  11. Mizgerd JP. Pathogenesis of severe pneumonia: advances and knowledge gaps. *Curr Opin Pulm Med* 2017;23:193–197.
  12. Gazdar AF, Minna JD. Precision Medicine for Cancer Patients: Lessons

- Learned and the Path Forward. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2013;105:1262–1263.
13. Dela Cruz CS, Wunderink RG, Christiani DC, Cormier SA, Crothers K, Doerschuk CM, Evans SE, Goldstein DR, Khatri P, Kobzik L, Kolls JK, Levy BD, Metersky ML, Niederman MS, Nusrat R, Orihuela CJ, Peyrani P, Prince AS, Ramírez JA, Ridge KM, Sethi S, Suratt BT, Sznajder JI, Tsalik EL, Walkey AJ, Yende S, Aggarwal NR, Caler E V, Mizgerd JP. Future Research Directions in Pneumonia. NHLBI Working Group Report. *Am J Respir Crit Care Med* 2018;198:256–263.
  14. Menéndez R, Martínez R, Reyes S, Mensa J, Filella X, Marcos M a, Martínez A, Esquinas C, Ramirez P, Torres A. Biomarkers improve mortality prediction by prognostic scales in community-acquired pneumonia. *Thorax* 2009;64:587–591.
  15. Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol* 2017;39:517–528.
  16. Johansen M, Johansson P, Ostrowski S, Bestle M, Hein L, Jensen A, Søe-Jensen P, Andersen M, Steensen M, Mohr T, Thormar K, Lundgren B, Cozzi-Lepri A, Lundgren J, Jensen J-U. Profound Endothelial Damage Predicts Impending Organ Failure and Death in Sepsis. *Semin Thromb Hemost* 2015;41:016–025.
  17. Menéndez R, Cavalcanti M, Reyes S, Mensa J, Martinez R, Marcos MA, Filella X, Niederman M, Torres A. Markers of treatment failure in hospitalised community acquired pneumonia. *Thorax* 2008;63:447–452.
  18. Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, Fine J, Krichevsky A, Delude RL, Angus DC, GenIMS Investigators. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the

- Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med* 2007;167:1655–63.
19. Chung K-P, Chang H-T, Lo S-C, Chang L-Y, Lin S-Y, Cheng A, Huang Y-T, Chen C-C, Lee M-R, Chen Y-J, Hou H-H, Hsu C-L, Jerng J-S, Ho C-C, Huang M-T, Yu C-J, Yang P-C. Severe Lymphopenia Is Associated with Elevated Plasma Interleukin-15 Levels and Increased Mortality During Severe Sepsis. *Shock* 2015;43:569–575.
  20. de la Torre MC, Torán P, Serra-Prat M, Palomera E, Güell E, Vendrell E, Yébenes JC, Torres A, Almirall J. Serum levels of immunoglobulins and severity of community-acquired pneumonia. *BMJ Open Respir Res* 2016;3:e000152.
  21. Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, Humburg P, Hutton P, Mills TC, Rautanen A, Gordon AC, Garrard C, Hill AVS, Hinds CJ, Knight JC. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med* 2016;4:259–71.
  22. Scicluna BP, van Vught LA, Zwinderman AH, Wiewel MA, Davenport EE, Burnham KL, Nürnberg P, Schultz MJ, Horn J, Cremer OL, Bonten MJ, Hinds CJ, Wong HR, Knight JC, van der Poll T, de Beer FM, Bos LDJ, Frencken JF, Koster-Brouwer ME, van de Groep K, Verboom DM, Glas GJ, van Hooijdonk RTM, Hoogendijk AJ, Huson MA, Klouwenberg PMK, Ong DSY, Schouten LRA, Straat M, *et al*. Classification of patients with sepsis according to blood genomic endotype: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med* 2017;5:816–826.
  23. Klouche K, Cristol JP, Devin J, Gilles V, Kuster N, Larcher R, Amigues L, Corne P, Jonquet O, Dupuy AM. Diagnostic and prognostic value of soluble

- CD14 subtype (Presepsin) for sepsis and community-acquired pneumonia in ICU patients. *Ann Intensive Care* 2016;6:59.
24. Zhuang Y, Li W, Wang H, Peng H, Chen Y, Zhang X, Chen Y, Gao C. Predicting the Outcomes of Subjects With Severe Community-Acquired Pneumonia Using Monocyte Human Leukocyte Antigen-DR. *Respir Care* 2015;60:1635–42.
25. Girardot T, Rimmelé T, Venet F, Monneret G. Apoptosis-induced lymphopenia in sepsis and other severe injuries. *Apoptosis* 2017;doi:10.1007/s10495-016-1325-3.
26. Marrie TJ, Wu LL. Factors influencing in-hospital mortality in community-acquired pneumonia: A prospective study of patients not initially admitted to the ICU. *Chest* 2005;doi:10.1378/chest.127.4.1260.
27. Muller MP, Tomlinson G, Marrie TJ, Tang P, McGeer A, Low DE, Detsky AS, Gold WL. Can routine laboratory tests discriminate between severe acute respiratory syndrome and other causes of community-acquired pneumonia? *Clin Infect Dis* 2005;doi:10.1086/428577.
28. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382:727–733.
29. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, 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 (London, England)* 2020;395:497–506.

30. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, 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;doi:10.1001/jama.2020.1585.
31. Bermejo-Martin JF, Almansa R, Menéndez R, Mendez R, Kelvin DJ, Torres A. Lymphopenic community acquired pneumonia as signature of severe COVID-19 infection. *J Infect* 2020;80:e23–e24.
32. Marshall JC, Charbonney E, Gonzalez PD. The Immune System in Critical Illness. *Clin Chest Med* 2008;doi:10.1016/j.ccm.2008.08.001.
33. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999;doi:10.1097/00003246-199907000-00002.
34. Wang WC, Goldman LM, Schleider DM, Appenheimer MM, Subject JR, Repasky EA, Evans SS. Fever-range hyperthermia enhances L-selectin-dependent adhesion of lymphocytes to vascular endothelium. *J Immunol* 1998;
35. Cabrera-Perez J, Condotta SA, Badovinac VP, Griffith TS. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity. *J Leukoc Biol* 2014;96:767–777.
36. Janssen EM, Droin NM, Lemmens EE, Pinkoski MJ, Bensinger SJ, Ehst BD, Griffith TS, Green DR, Schoenberger SP. CD4<sup>+</sup> T-cell help controls CD8<sup>+</sup> T-cell memory via TRAIL-mediated activation-induced cell death. *Nature* 2005;434:88–93.
37. World Health Organization. WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children HIV/AIDS programme WHO library

- cataloguing-in-publication data who case definitions of HIV for surveil. at  
<<http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf>>.
38. Pelekanou A, Tsangaris I, Kotsaki A, Karagianni V, Giamarellou H, Armaganidis A, Giamarellos-Bourboulis EJ. Decrease of CD4-lymphocytes and apoptosis of CD14-monocytes are characteristic alterations in sepsis caused by ventilator-associated pneumonia: results from an observational study. *Crit Care* 2009;doi:10.1186/cc8148.
  39. Duong S, Condotta SA, Rai D, Martin MD, Griffith TS, Badovinac VP. Polymicrobial sepsis alters antigen-dependent and -independent memory CD8 T cell functions. *J Immunol*, 2014/03/19. 2014;192:3618–3625.
  40. Serbanescu MA, Ramonell KM, Hadley A, Margoles LM, Mittal R, Lyons JD, Liang Z, Coopersmith CM, Ford ML, McConnell KW. Attrition of memory CD8 T cells during sepsis requires LFA-1. *J Leukoc Biol* 2016;100:1167–1180.
  41. Monserrat J, De Pablo R, Diaz-Martín D, Rodríguez-Zapata M, De La Hera A, Prieto A, Alvarez-Mon M. Early alterations of B cells in patients with septic shock. *Crit Care* 2013;17:R105.
  42. Ebbo M, Gérard L, Carpentier S, Vély F, Cypowyj S, Farnarier C, Vince N, Malphettes M, Fieschi C, Oksenhendler E, Schleinitz N, Vivier E, DEFI Study Group. Low Circulating Natural Killer Cell Counts are Associated With Severe Disease in Patients With Common Variable Immunodeficiency. *EBioMedicine* 2016;6:222–230.
  43. Xu X, Weiss ID, Zhang H, Singh SP, Wynn TA, Wilson MS, Farber JM. Conventional NK Cells Can Produce IL-22 and Promote Host Defense in *Klebsiella pneumoniae* Pneumonia. *J Immunol* 2014;192:1778–1786.
  44. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus Anti-

- inflammatory Cytokine Profile in Patients with Severe Sepsis: A Marker for Prognosis and Future Therapeutic Options. *J Infect Dis* 2000;181:176–180.
45. Siber GR, Schur PH, Aisenberg AC, Weitzman SA, Schiffman G. Correlation between serum IgG-2 concentrations and the antibody response to bacterial polysaccharide antigens. *N Engl J Med* 1980;303:178–82.
  46. de la Torre MC, Palomera E, Serra-Prat M, Güell E, Yébenes JC, Bermejo-Martín JF, Almirall J. IgG2 as an independent risk factor for mortality in patients with community-acquired pneumonia. *J Crit Care* 2016;35:115–119.
  47. Gresser I, Guy-Grand D, Maury C, Maunoury MT. Interferon induces peripheral lymphadenopathy in mice. *J Immunol* 1981;
  48. Schattner A, Meshorer A, Wallach D. Involvement of interferon in virus-induced lymphopenia. *Cell Immunol* 1983;doi:10.1016/0008-8749(83)90046-1.
  49. Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, Balk R, Bramley AM, Reed C, Grijalva CG, Anderson EJ, Courtney DM, Chappell JD, Qi C, Hart EM, Carroll F, Trabue C, Donnelly HK, Williams DJ, Zhu Y, Arnold SR, Ampofo K, Waterer GW, Levine M, Lindstrom S, Winchell JM, Katz JM, Erdman D, Schneider E, Hicks LA, McCullers JA, *et al.* Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. adults. *N Engl J Med* 2015;doi:10.1056/NEJMoa1500245.
  50. Ebrahimi F, Giaglis S, Hahn S, Blum CA, Baumgartner C, Kutz A, van Breda SV, Mueller B, Schuetz P, Christ-Crain M, Hasler P. Markers of neutrophil extracellular traps predict adverse outcome in community-acquired pneumonia: secondary analysis of a randomised controlled trial. *Eur Respir J* 2018;51:1701389.
  51. Ebrahimi F, Wolffenbuttel C, Blum CA, Baumgartner C, Mueller B, Schuetz P,

- Meier C, Kraenzlin M, Christ-Crain M, Betz MJ. Fibroblast growth factor 21 predicts outcome in community-acquired pneumonia: secondary analysis of two randomised controlled trials. *Eur Respir J* 2019;53:1800973.
52. Kolditz M, Halank M, Schulte-Hubbert B, Bergmann S, Albrecht S, Höffken G. Copeptin predicts clinical deterioration and persistent instability in community-acquired pneumonia. *Respir Med* 2012;106:1320–1328.
53. Krüger S, Ewig S, Giersdorf S, Hartmann O, Suttorp N, Welte T, Becker M, Kuhnke A, Lode H, Schmidt-Ioanas M, Bauer T, Schlosser B, Pletz M, Dalhoff K, Pischke S, Schübel N, Huntemann I, Lorenz J, Klante T, Schaberg T, Voigt K, Schumann C, Jany B, Ziegler U, Illmann T, Wallner M, Weber M, Von Baum H, Barten G, *et al.* Cardiovascular and inflammatory biomarkers to predict short- and long-term survival in community-acquired pneumonia: Results from the German Competence Network, CAPNETZ. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:1426–1434.
54. Bello S, Lasierra AB, Mincholé E, Fandos S, Ruiz MA, Vera E, de Pablo F, Ferrer M, Menendez R, Torres A. Prognostic power of proadrenomedullin in community-acquired pneumonia is independent of aetiology. *Eur Respir J* 2012;39:1144–1155.
55. Schuetz P, Christ-Crain M, Zimmerli W, Mueller B. Repeated measurements of endothelin-1 precursor peptides predict the outcome in community-acquired pneumonia. *Intensive Care Med* 2011;37:970–980.
56. Zhong NS, Sun T, Zhuo C, D’Souza G, Lee SH, Lan NH, Chiang CH, Wilson D, Sun F, Iaconis J, Melnick D. Ceftaroline fosamil versus ceftriaxone for the treatment of Asian patients with community-acquired pneumonia: A randomised, controlled, double-blind, phase 3, non-inferiority with nested

- superiority trial. *Lancet Infect Dis* 2015;doi:10.1016/S1473-3099(14)71018-7.
57. Taboada M, Melnick D, Iaconis JP, Sun F, Zhong NS, File TM, Llorens L, Friedland HD, Wilson D. Ceftaroline fosamil versus ceftriaxone for the treatment of community-acquired pneumonia: Individual patient data meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother* 2016;doi:10.1093/jac/dkv415.
58. Kelly PN. The cancer immunotherapy: revolution. *Science (80- )* 2018;doi:10.1126/science.359.6382.1344.
59. van Ton AMP, Kox M, Abdo WF, Pickkers P. Precision immunotherapy for sepsis. *Front Immunol* 2018;doi:10.3389/fimmu.2018.01926.
60. Han D, Shang W, Wang G, Sun L, Zhang Y, Wen H, Xu L. Ulinastatin- and thymosin  $\alpha$ 1-based immunomodulatory strategy for sepsis: A meta-analysis. *Int Immunopharmacol* 2015;doi:10.1016/j.intimp.2015.10.026.
61. Shindo Y, Unsinger J, Burnham C-A, Green JM, Hotchkiss RS. Interleukin-7 and anti-programmed cell death 1 antibody have differing effects to reverse sepsis-induced immunosuppression. *Shock* 2015;43:334–43.
62. Venet F, Foray A-P, Villars-Méchin A, Malcus C, Poitevin-Later F, Lepape A, Monneret G. IL-7 Restores Lymphocyte Functions in Septic Patients. *J Immunol* 2012;doi:10.4049/jimmunol.1202062.
63. Francois B, Jeannet R, Daix T, Walton AH, Shotwell MS, Unsinger J, Monneret G, Rimmelé T, Blood T, Morre M, Gregoire A, Mayo GA, Blood J, Durum SK, Sherwood ER, Hotchkiss RS. Interleukin-7 restores lymphocytes in septic shock: the IRIS-7 randomized clinical trial. *JCI insight* 2018;doi:10.1172/jci.insight.98960.