

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

Metoprolol en pacientes con COVID-19 en estado crítico



Agustín Clemente-Moragón, BSc, ^{a,*} Juan Martínez-Milla, MD, PhD,^{a,b,*} Eduardo Oliver, PhD,^{a,c} Arnoldo Santos, MD, PhD,^{d,e} Javier Flandes, MD, PhD,^f Iker Fernández, MD,^f Lorena Rodríguez-González, TECH,^{g,h} Cristina Serrano del Castillo, MD,ⁱ Ana-María Ioan, MD,^d María López-Álvarez, RN,^{b,c} Sandra Gómez-Talavera, MD,^{a,b,c} Carlos Galán-Arriola, DVM, PhD,^{a,c} Valentín Fuster, MD, PhD,^{a,j} César Pérez-Calvo, MD, PhD,^d Borja Ibáñez, MD, PhD^{a,b,c}

RESUMEN

ANTECEDENTES La enfermedad por coronavirus-2019 (COVID-19) grave puede progresar a un síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), que comporta una infiltración alveolar por neutrófilos activados. Se ha demostrado que el betabloqueante metoprolol produce una mejoría de la inflamación agudizada en situaciones de infarto de miocardio.

OBJETIVOS El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del metoprolol en la inflamación alveolar y en la función respiratoria en pacientes con un SDRA asociado a la COVID-19.

MÉTODOS Un total de 20 pacientes con COVID-19 que presentaban un SDRA y estaban siendo tratados con ventilación mecánica invasiva fueron asignados aleatoriamente al tratamiento con metoprolol (15 mg una vez al día durante 3 días) o a un grupo de control (sin este tratamiento). En todos los pacientes se realizó un lavado broncoalveolar (LBA) antes y después del período de tratamiento o control. Se evaluó la seguridad de la administración de metoprolol mediante monitorización hemodinámica invasiva y electrocardiográfica y con ecocardiografía.

RESULTADOS La administración de metoprolol no produjo efectos secundarios. En la situación inicial, el recuento de neutrófilos en el LBA no mostró diferencias entre los dos grupos. En cambio, en los pacientes asignados aleatoriamente al metoprolol hubo un número de neutrófilos en el LBA del día 4 significativamente inferior (mediana: 14,3 neutrófilos/ μ l [C1, C3: 4,63, 265 neutrófilos/ μ l] frente a mediana: 397 neutrófilos/ μ l [C1, C3: 222, 1346 neutrófilos/ μ l] en los grupos de metoprolol y de control, respectivamente; $p = 0,016$). El metoprolol redujo también el contenido de trampas extracelulares de neutrófilos y de otros marcadores de la inflamación pulmonar. La oxigenación ($\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$) mejoró significativamente después de 3 días de tratamiento con metoprolol (mediana: 130; C1, C3: 110, 162] frente a mediana: 267; C1, C3: 199, 298] en la situación inicial y en el día 4, respectivamente; $p = 0,003$), mientras que se mantuvo inalterada en los pacientes del grupo control. Los pacientes tratados con metoprolol pasaron menos días que los del grupo de control con ventilación mecánica invasiva ($15,5 \pm 7,6$ frente a $21,9 \pm 12,6$ días; $p = 0,17$).

CONCLUSIONES En este ensayo piloto, la administración intravenosa de metoprolol en pacientes con SDRA asociado a la COVID-19 resultó segura, redujo la inflamación pulmonar agudizada y mejoró la oxigenación. La utilización del metoprolol para un nuevo objetivo de tratamiento del SDRA asociado a la COVID-19 es una estrategia segura y poco costosa, que puede aliviar la carga de la pandemia de COVID-19. (J Am Coll Cardiol 2021;78:1001-1011)
© 2021 Los autores. Publicado por Elsevier en nombre de la American College of Cardiology Foundation. Este es un artículo de acceso abierto (open access) que se publica bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Para escuchar el audio del resumen en inglés de este artículo por el Editor Jefe del JACC, Dr. Valentin Fuster, consulte JACC.org

^a Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, España; ^b Departamento de Cardiología, IIS-Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España; ^c CIBER de Enfermedades Cardiovasculares, Madrid, España; ^d Unidad de Cuidados Intensivos, IIS- Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España; ^e CIBER de Enfermedades

**ABREVIATURAS
Y ACRÓNIMOS****COVID-19** = enfermedad por coronavirus-2019**LBA** = lavado broncoalveolar**NET** = trampa extracelular de neutrófilos**SDRA** = síndrome de dificultad respiratoria aguda**UCI** = unidad de cuidados intensivos**VMI** = ventilación mecánica invasiva

La enfermedad por coronavirus-2019 (COVID-19), causada por un síndrome respiratorio agudo grave por infección por el coronavirus-2 (SARS-CoV-2), constituye una pandemia en curso que afecta a más de 145 millones de personas en todo el mundo y ha producido la muerte de más de 3 millones de personas hasta la fecha. Se calcula que un 6%-18% de los casos de COVID-19 muestran una progresión a un síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) que requiere ingreso en una unidad de cuidados intensivos (UCI) y el uso de ventilación mecánica invasiva (VMI) (1). En la actualidad hay una falta de tratamientos específicos para el SDRA asociado a la COVID-19.

En las fases iniciales de la infección por el SARS-CoV-2, el sistema inmunitario del huésped se activa para detener la progresión de la enfermedad. Sin embargo, en algunos casos la replicación rápida del SARS-CoV-2 en las vías respiratorias desencadena una respuesta inflamatoria agudizada y una tormenta de citocinas (2). Esta situación conduce a una progresión a un SDRA junto con otras complicaciones clínicas, como *shock séptico*, microtrombos, coagulopatía y disfunción de múltiples órganos (3).

El SDRA de diferentes etiologías (4), incluida la infección por el SARS-CoV-2 (5,6), depende en gran medida de la acción de los neutrófilos. Los neutrófilos activados contribuyen a producir la lesión alveolar al liberar mediadores inflamatorios previamente almacenados (especies moleculares de oxígeno reactivas y mieloperoxidasa [MPO]) e interactúan con otras células, como las plaquetas, para inducir la formación de microtrombos. Además, la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) e histonas sumamente nocivas activa el inflammasoma y desencadena la liberación de citocinas proinflamatorias (7). Las NET liberadas por los neutrófilos activados que infiltran los alveolos aumentan la inflamación pulmonar y las concentraciones de citocinas proinflamatorias en suero, dando lugar a una extensa lesión pulmonar y a eventos de microtrombosis en los pacientes con COVID-19 (2,3,8,9).

A pesar de la masiva repercusión mundial de la COVID-19, hay una escasez de tratamientos eficaces para

prevenir la transición de la enfermedad moderada a la grave y para mejorar el pronóstico. Dada la intensa presión a que la COVID-19 está sometiendo a las UCI en todo el mundo, existe una urgente necesidad de identificar tratamientos destinados a reducir el número de días de permanencia en la UCI. Las intervenciones más buscadas son las que permitan mitigar la disregulación inmunitaria asociada a la COVID-19 (10). Un posible enfoque que resulta atractivo es el empleo de tratamientos dirigidos al propio huésped, que en los últimos años han surgido como estrategia adyuvante para limitar el daño que se produce durante la inflamación agudizada tanto infecciosa como estéril.

Los antagonistas de receptores betaadrenérgicos (betabloqueantes) se han venido utilizando durante décadas para tratar trastornos cardiovasculares como la hipertensión, las arritmias y el infarto de miocardio (11). En estudios observacionales retrospectivos se ha establecido la existencia de una relación entre el tratamiento con betabloqueantes y un aumento de la supervivencia en pacientes en un estado crítico causado por diferentes trastornos, como la sepsis (12-14), la insuficiencia respiratoria aguda (15), la lesión cerebral traumática grave (16,17) y otros (18,19). Algunos resultados recientes indican que el betabloqueante selectivo β_1 metoprolol tiene un efecto directo sobre los neutrófilos y reduce sus efectos nocivos durante la inflamación agudizada (20). En el contexto de la isquemia/reperfusión (infarto agudo de miocardio), se ha demostrado que el empleo de metoprolol dirigido a los neutrófilos tiene un potente efecto cardioprotector, tanto en modelos animales como en los pacientes (20-23). Más recientemente, nuestro grupo ha demostrado que el metoprolol (pero no así otros betabloqueantes intravenosos disponibles en el ámbito clínico) anula la inflamación agudizada impulsada por los neutrófilos, la interacción entre neutrófilos y plaquetas y la formación de NET en un modelo de la lesión pulmonar aguda inducida por LPS en el ratón (24). Estos datos experimentales nos llevaron a investigar si el tratamiento con metoprolol intravenoso (i.v.) podía producir una mejoría en la inflamación pulmonar (y en última instancia un mejor pronóstico) en pacientes con SDRA asociado a la COVID-19.

Respiratorias, Madrid, España; ^f Departamento de Neumología, IIS- Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España; ^g Departamento de Anatomía Patológica, IIS- Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España; ^h Biobank Patform-PT20/00141, IIS- Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España; ⁱ Laboratorio de Citometría de Flujo, IIS-Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España; y ^j Cardiovascular Institute, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Nueva York, Nueva York, Estados Unidos. *Los Drs Clemente-Moragón y Martínez-Milla contribuyeron por igual en este trabajo.

Christie Ballantyne, MD, fue Editor Jefe Invitado para este artículo.

Los autores atestiguan que cumplen los reglamentos de los comités de estudios en el ser humano y de bienestar animal de sus respectivos centros y las directrices de la *Food and Drug Administration*, incluida la obtención del consentimiento del paciente cuando procede. Puede consultarse una información más detallada en el *Author Center*.

Original recibido el 28 de abril de 2021; original revisado recibido el 17 de junio de 2021, aceptado el 1 de julio de 2021.

MÉTODOS

DISEÑO Y POBLACIÓN DEL ESTUDIO. El ensayo piloto MADRID-COVID (*Intravenous Metoprolol in Respiratory Distress Due to COVID-19*) fue aprobado por el comité de ética de investigación del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz (número de registro de Eudract 2020-002310-41). Todos los pacientes (o un familiar cercano) dieron su consentimiento por escrito para participar en el ensayo. Los criterios de inclusión fueron: edad de 18-80 años, infección por el SARS-CoV-2 confirmada mediante rt-PCR (en muestras de hisopo nasal o de lavado broncoalveolar), ventilación mecánica invasiva de ≤ 72 horas, frecuencia cardíaca ≥ 60 latidos/min y presión arterial sistólica determinada de forma invasiva ≥ 120 mm Hg. Los criterios de exclusión fueron: ingreso hospitalario prolongado (> 5 días) antes de la inclusión, insuficiencia cardíaca aguda concomitante, fracción de eyección ventricular izquierda $< 50\%$, disfunción ventricular derecha, embolia pulmonar concomitante, arteriopatía periférica moderada o grave, valvulopatía moderada o grave, EPOC moderada o grave, o tratamiento activo con betabloqueantes antes de la inclusión. Se incluyó a un total de 20 pacientes con un SDRA secundario a una infección por el SARS-CoV-2, que estaban en tratamiento con VMI y se les asignó aleatoriamente al grupo de tartrato de metoprolol i.v. (Recordati) (3 \times emboladas de 5 mg, con 2 minutos de separación entre ellas, cada día durante 3 días; $n = 12$) o al grupo control (sin este tratamiento; $n = 8$). Dos minutos después de cada embolada, se determinó la presión arterial y la frecuencia cardíaca, y si estaban por encima de los límites establecidos, se inyectaba la siguiente embolada.

La asignación aleatoria se estratificó según la edad (≤ 59 años frente a > 59 años), los antecedentes de hipertensión (sí frente a no) y el recuento de neutrófilos en sangre circulante (< 6000 frente a ≥ 6000). Se obtuvieron muestras de líquido de lavado broncoalveolar (LBA) y de sangre de los pacientes en el momento de la aleatorización (situación inicial) y 24 horas después de la tercera dosis de metoprolol/control (día 4). El objetivo principal del estudio fue evaluar el efecto del metoprolol en los marcadores inflamatorios (principalmente la infiltración de neutrófilos y las NET). Los objetivos secundarios principales fueron evaluar el efecto del metoprolol en el número de días de ventilación mecánica invasiva y el número de días de estancia en la UCI después de la aleatorización, así como la función pulmonar. El criterio de valoración principal de la seguridad fueron las complicaciones hemodinámicas (*shock* cardiogénico, hipotensión grave o bradicardia intensa/bloqueo auriculoventricular).

Al tratarse de un ensayo piloto, el tamaño de la muestra se calculó en función de la capacidad de detectar cam-

bios en la inflamación pulmonar (infiltración de neutrófilos). Teniendo en cuenta lo indicado por estudios experimentales previos, planteamos la posibilidad de que 20 pacientes fueran suficientes para detectar un efecto biológico significativo del metoprolol en este contexto.

CITOMETRÍA DE FLUJO DE LAS MUESTRAS DE LBA.

Para los estudios de citometría de flujo (FCM), las muestras de LBA (8 ml) se inactivaron previamente con 2 ml de un reactivo de estabilización de antígenos celulares que contenía formaldehído (TransFix, Cytomark Ltd). A continuación se centrifugaron las muestras (5 minutos a 540 g), se descartó el sobrenadante, y se resuspendió el sedimento en 200 μ de solución salina tamponada con fosfato. Tras ello, 100 μ l de suspensión celular se tiñeron durante 15 minutos a temperatura ambiente con la siguiente combinación de colores: CD15-isotiocianato de fluorescencia antihumano, CD33-ficoeritrina y CD3-V-450 y CD45-V-500 (Becton Dickinson Biosciences). Después de la tinción se añadieron 2 ml de solución de lisis de FACS (Becton/Dickinson Biosciences), y tras 5 minutos de incubación, la muestra se centrifugó y se resuspendió en 100 μ l de solución salina tamponada con fosfato. Antes de la adquisición, se añadió el colorante fluorescente DRAQ5 (Biostatus Limited) (25,26) y se agregaron microesferas Perfect-COUNT (Cytognos SL) (27) para la selección de las células positivas para ADN y para el recuento celular, respectivamente. Las muestras se analizaron con un citómetro de flujo FACSCanto II (Becton Dickinson Biosciences) equipado con el programa informático FACSDiva (Becton Dickinson Biosciences), y se adquirió la información sobre todos los eventos correspondientes a células nucleadas presentes en la muestra alícuota teñida.

Los datos se analizaron con el programa informático INFINICYT (Cytognos SL). El análisis de FCM incluyó un primer paso de identificación de las células nucleadas mediante tinción de DRAQ5. Se identificaron las poblaciones de leucocitos con una estrategia de sincronización basada en una dispersión anterógrada, dispersión lateral y expresión de CD45. Se identificaron los neutrófilos y los macrófagos mediante sus propiedades comparativamente superiores de dispersión de la luz, su patrón específico de expresión de CD45 y la expresión de CD15 (neutrófilos) y de CD33 (macrófagos alveolares). Se identificaron también los linfocitos según su expresión de CD45 y sus propiedades de dispersión anterógrada y lateral. Las poblaciones de neutrófilos, macrófagos y linfocitos se cuantificaron mediante el porcentaje del total de eventos de CD45.

ENSAYO DE ELISA PARA QUIMIOCINAS. Se inactivaron las muestras mediante incubación a una concentración final de 0,2% de SDS por 0,1% de Tween-20 y tratamien-

to con calor a 60 °C durante 15 minutos. Se analizaron muestras de plasma y de LBA sin células con el empleo de kits de ELISA humano para el factor von Willebrand (RAB0556-1KT, Sigma) y para las quimiocinas proteína quimioatrayente monocitaria (MCP)-1 (orb315028, Biorbyt), interleucina (IL)-6 (orb219452, Biorbyt) e IL-8 (orb315028, Biorbyt).

MARCADORES DE NETosis. Se determinaron un total de 3 biomarcadores de NETosis: histona-3 citrulinada (Cit-H3), complejos de MPO-ADN y ADN sin células. Para los análisis de ELISA de Cit-H3 y de MPO-ADN, las muestras se inactivaron primero mediante una suspensión de 0,2% de SDS por 0,1% de Tween-20 y tratamiento de calor a 60 °C durante 15 minutos. Para la determinación del ADN sin células, las muestras se inactivaron con tratamiento de calor a 60 °C durante 1 hora.

La Cit-H3 se determinó con un kit de ELISA (clon 11D3, Cayman, 501620). La cuantificación de los complejos de MPO-ADN se basó en un protocolo descrito con anterioridad (28,29) que utiliza varios reactivos del kit de ELISA de detección de la muerte celular (Cell Death Detection) (Roche, 11544675001) pero incluye una placa de 96 pocillos de EIA/RIA de alta unión cubierta de manera diferente durante una noche a 4 °C con anticuerpo para MPO antihumano (Bio-Rad, 0400-0002). El ADN sin células se determinó con el empleo del kit de Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, P11496).

VISUALIZACIÓN DE NET Y NEUTRÓFILOS EN EL LBA. Las NET se visualizaron mediante tinción de Giemsa de muestras de LBA (30,31). Las muestras de LBA se centrifugaron durante 10 minutos a 2500 revoluciones/min. El sedimento se resuspendió y se extendió para la tinción con la solución de Giemsa. A continuación, las muestras se inactivaron y se fijaron durante 10 minutos a temperatura ambiente con un spray de base alcohólica fijador para el citodiagnóstico (fijador en spray M-Fix). Para el análisis de las imágenes, se digitalizaron muestras fijadas, utilizando un escáner (Nanozoomer-RS C110730, Hamamatsu) y se analizaron con el programa informático de análisis de imágenes NDP (Hamamatsu).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO. Los datos se analizaron con los programas Graphpad Prism versión 8.4 y RStudio. Dado el pequeño tamaño de la muestra, todas las distribuciones se consideraron no normales y se aplicaron pruebas no paramétricas para los análisis estadísticos. Las comparaciones por pares entre las muestras previas y posteriores al tratamiento (es decir, muestras basales y muestras obtenidas a los 4 días) se realizaron mediante pruebas de rango con signo para pares emparejados de Wilcoxon. Para las comparaciones de las dos situaciones de tratamiento (vehículo frente a control) en la situación

inicial o después del tratamiento se utilizó la prueba de la U de Mann-Whitney sin emparejamiento. Para los parámetros hemodinámicos y funcionales durante la administración de metoprolol, se calcularon las diferencias en la situación inicial o antes-después de la administración en embolada, mediante la prueba de Friedman de X^2 no paramétrica con corrección mediante la prueba de Durbin-Conover para las comparaciones por pares. Por lo que respecta a las variables no continuas, se compararon los porcentajes con métodos exactos. Se consideraron estadísticamente significativas las diferencias con un valor de p inferior a 0,05.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES. Entre el 19 de octubre de 2020 y el 19 de enero de 2021, se incluyó a un total de 20 pacientes; 12 de ellos fueron asignados aleatoriamente al metoprolol y 8 al grupo control. No hubo diferencias entre los grupos en cuanto a las características iniciales (tabla 1). Todos los pacientes fueron tratados durante el ingreso en la UCI con corticoesteroides (dexametasona 6 mg una vez al día), anticoagulantes, melatonina y acetilcisteína. Antes de la inclusión en el ensayo, todos los pacientes (excepto 1 del grupo de metoprolol) fueron tratados con dosis en embolada y dosis de mantenimiento de corticoesteroides (metilprednisolona y/o dexametasona) en la sala, antes del ingreso en la UCI, sin que hubiera diferencias entre los dos grupos.

De los pacientes asignados aleatoriamente a metoprolol, 11 recibieron todas las dosis i.v. programadas (15 mg una vez al día durante 3 días). El otro paciente recibió 15 mg de metoprolol en los 2 primeros días, pero no en el tercer día, debido a que presentó una frecuencia cardíaca < 50 latidos/min causada por la intensificación de la sedación (inicio de la administración de propofol). El LBA se llevó a cabo sin complicaciones en todos los pacientes antes y 24 horas después del tratamiento. Los análisis de laboratorio clínico en la situación inicial y después del tratamiento se presentan en la tabla 1 del Suplemento.

SEGURIDAD CARDIOVASCULAR DE LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE METOPROLOL EN PACIENTES CON SDRA Y EN VENTILACIÓN MECÁNICA. La administración de betabloqueantes i.v. ha resultado mayoritariamente segura, excepto en pacientes con un fallo cardíaco agudo. Dados los efectos cardiovasculares del metoprolol, se realizó una monitorización de los pacientes con métodos invasivos y mediante ecocardiografía antes de la inyección de metoprolol/control y cada día después de esa inyección. Tal como se preveía, el metoprolol redujo significativamente la frecuencia cardíaca

TABLA 1. Características de los pacientes en el momento de la aleatorización

	Todos los pacientes	Metoprolol	Control	Valor de p
Edad, años	60 (53,8, 68)	60 (57,8, 68,5)	58,5 (43,3, 65,8)	0,354
Varones	13 (65,0)	8 (66,7)	5 (62,5)	1,000
IMC (kg/m ²)	27,1 (25,3, 31,1)	26,8 (25,1, 30,4)	27,1 (26,2, 31,5)	0,422
Comorbilidades				
Hipertensión	6 (30,0)	4 (33,3)	2 (25,0)	1,000
Diabetes	2 (10,0)	2 (16,7)	0 (0,0)	0,648
Fumadores	3 (15,0)	1 (8,3)	2 (25,0)	0,701
Dislipidemia	6 (30,0)	4 (33,3)	2 (25,0)	1,000
Tratamiento previo				
Inhibidores de SRA	5 (25,0)	3 (25,0)	2 (25,0)	1,000
Anticoagulantes	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1,000

Los valores corresponden a mediana (C1, C3) o n (%).
IMC = índice de masa corporal; SRA = sistema renina-angiotensina.

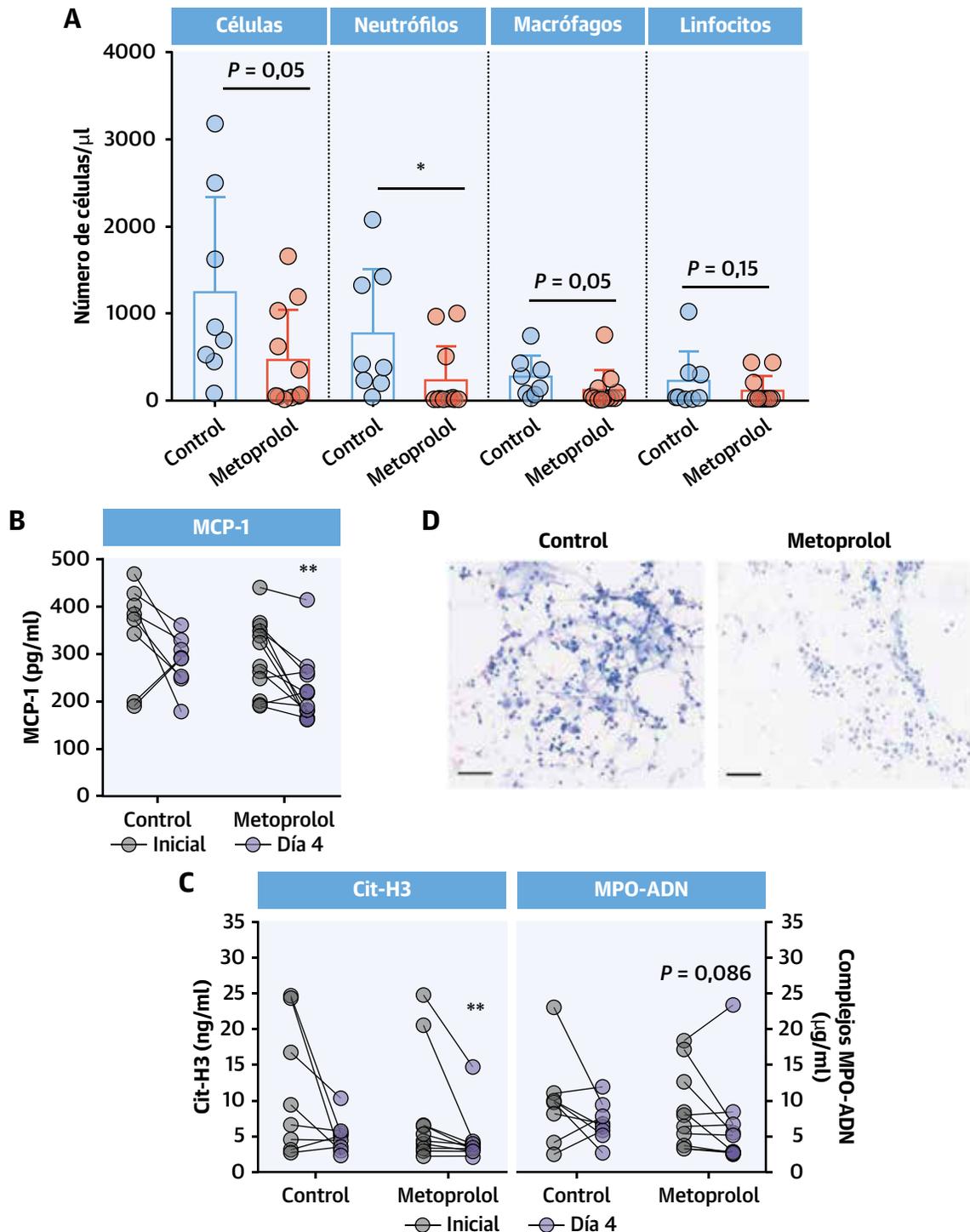
($p < 0,01$) y la presión arterial sistólica determinada de forma invasiva ($p < 0,05$), aunque ambos parámetros se mantuvieron dentro del rango de valores fisiológicos (tabla 2 del Suplemento). La ecocardiografía no mostró ningún deterioro de los parámetros de la función cardíaca después del tratamiento con metoprolol (tabla 3 del Suplemento). En términos generales, la administración intravenosa de metoprolol resultó segura y no produjo efectos secundarios en los pacientes con una COVID-19 grave que presentaban un SDRA y estaban siendo tratados con VMI.

LA ADMINISTRACIÓN DE METOPROLOL ATENÚA LA INFLAMACIÓN AGUDIZADA DEL PULMÓN PRODUCIDA POR LOS NEUTRÓFILOS. Para evaluar la capacidad del metoprolol de aliviar la inflamación pulmonar agudizada producida por los neutrófilos, analizamos las poblaciones de leucocitos en muestras de LBA mediante citometría de flujo en la situación inicial y el día 4. En la situación inicial, los grupos de metoprolol y control no mostraron diferencias en el contenido de neutrófilos del LBA (figura 1 del Suplemento). En cambio, el día 4 (después de 3 días de tratamiento con metoprolol/control), el contenido de neutrófilos fue significativamente menor en el LBA de los pacientes del grupo de metoprolol en comparación con el observado en los pacientes asignados aleatoriamente al grupo control (mediana: 14,3 neutrófilos/ μ l [C1, C3: 4,63, 265 neutrófilos/ μ l] frente a mediana: 397 neutrófilos/ μ l [C1, C3: 222, 1346 neutrófilos/ μ l]; $p = 0,016$). En el LBA del día 4 de los pacientes tratados con metoprolol se observó también un contenido total de células inflamatorias inferior y un contenido de monocitos/macrófagos inferior, mientras que los linfocitos no presentaron diferencias entre los grupos (figura 1A). Exploramos también la repercusión del metoprolol en la MCP-1 en el LBA, ya que se ha demostrado que esta quimiocina fomenta la fibrosis pulmonar en una fase avanzada del SDRA (32,33). La MCP-1 en el LBA sin célu-

las mostró una atenuación significativa después de 3 días de tratamiento con metoprolol (mediana: 298 pg/ml [C1, C3: 236, 350 pg/ml] frente a mediana: 203 pg/ml [C1, C3: 175, 258 pg/ml] en la situación inicial y en el día 4, respectivamente; $p = 0,009$), mientras que se mantuvo inalterada en los pacientes del grupo control (figura 1B). En cambio, las modificaciones de la IL-8 y la IL-6 en el LBA sin células no mostraron diferencias entre los dos grupos de tratamiento (figura 2 del Suplemento).

Una activación excesiva de los neutrófilos en los pulmones se asocia a la formación de NET y a la liberación de especies moleculares de oxígeno reactivas y enzimas proteolíticas, que pueden dar lugar a una intensa lesión epitelial y endotelial (2,34). Para estudiar si el efecto modificador de la inflamación que se observaba con el metoprolol reducía la producción de estos productos derivados de la activación de los neutrófilos, realizamos determinaciones de los marcadores de NETosis Cit-H3 y complejos de MPO-ADN. Los niveles de ambos marcadores se redujeron en el LBA del día 4 de los pacientes tratados con metoprolol ($p = 0,005$ y $p = 0,086$ en comparación con el valor inicial, respectivamente), mientras que no hubo ningún cambio en el LBA de los pacientes del grupo de control (figura 1C). La menor formación de NET y el menor contenido inflamatorio en el grupo de metoprolol se confirmaron mediante tinción de Giemsa (figura 1D). No observamos diferencias en el contenido de ADN sin células (figura 3 del Suplemento), lo cual reflejaba probablemente su carácter inespecífico como biomarcador de la NETosis (3).

Para determinar si la atenuación de la infiltración de células inmunitarias en los pulmones se asociaba a un efecto sistémico, evaluamos los cambios de las concentraciones circulantes de quimiocinas que se sabe que están notablemente elevadas en los pacientes con una COVID-19 grave (34). El tratamiento de 3 días con metoprolol se asoció a una reducción significativa de las con-

FIGURA 1. El metoprolol interrumpe la inflamación pulmonar agudizada que se asocia a la COVID-19

(A) Poblaciones de células inflamatorias el día 4 en el LBA de los pacientes con COVID-19 grave del grupo de control y del grupo de tratamiento con metoprolol. Los puntos corresponden a pacientes y las barras y barras de error indican los valores de la media (cajas) ± DE (barras de error). * $p < 0,05$ en la prueba de t de Student para muestras emparejadas. (B) Atenuación de la MCP-1 en el LBA sin células de pacientes tratados con metoprolol. (C) Atenuación de los biomarcadores de la hiperactivación de los neutrófilos (Cit-H3 y complejos de MPO-ADN) en el LBA sin células de pacientes tratados con metoprolol. Los datos se presentan en forma de datos emparejados de individuos (puntos) entre los días 1 y 4. ** $p < 0,01$ mediante la prueba de t de Student para muestras emparejadas. (D) Imágenes representativas de muestras de LBA con tinción de Giemsa de pacientes del grupo de control y del grupo de tratamiento con metoprolol el día 4. Escala de referencia, 50 µm. Control, $n = 8$; metoprolol, $n = 12$. LBA = lavado broncoalveolar; Cit-H3 = histona citrulinada 3; COVID-19 = enfermedad por coronavirus-2019; MCP = proteína quimioatrayente monocitaria; MPO = mieloperoxidasa.

centraciones circulantes de la citocina proinflamatoria IL-8 (mediana: 94,4 pg/ml [C1, C3: 72,1, 168 pg/ml] frente a mediana: 80,1 pg/ml [C1, C3: 69,5, 85,2 pg/ml] en la situación inicial y en el día 4, respectivamente; $p = 0,003$), mientras que no se observó ningún cambio en los pacientes del grupo control (figura 4 del Suplemento). El metoprolol no tuvo ningún efecto significativo en las concentraciones circulantes de IL-6 (figura 4 del Suplemento) ni en los marcadores de NETosis (figura 5 del Suplemento).

EL TRATAMIENTO CON METOPROLOL MEJORA LA FUNCIÓN RESPIRATORIA. La oxigenación se evaluó mediante el cociente entre la presión parcial de oxígeno arterial y la fracción de oxígeno inspirado ($PaO_2:FiO_2$). Los parámetros de oxigenación en la situación inicial y después del tratamiento se muestran en la tabla 2. En la situación inicial, la oxigenación fue peor en los pacientes asignados aleatoriamente al grupo de metoprolol que en los del grupo control, a pesar del valor de FiO_2 superior. Después de un tratamiento de 3 días con metoprolol, hubo una mejora significativa de la PaO_2 (mediana: 87,5 mm Hg [C1, C3: 78,8, 110 mm Hg] frente a mediana: 108 mm Hg [C1, C3: 98,3, 139 mm Hg] en la situación inicial y en el día 4, respectivamente; $p = 0,017$). El tratamiento con metoprolol mejoró también significativamente el valor de $PaO_2:FiO_2$ (mediana: 130; C1, C3: 110, 162] frente a mediana: 267; C1, C3: 199, 298] en la situación inicial y en el día 4, respectivamente; $p = 0,007$). Por el contrario, en los pacientes del grupo control, los valores de PaO_2 y de $PaO_2:FiO_2$ mostraron un deterioro, aunque el cambio no alcanzó significación estadística ($p = 0,107$ y $p = 0,363$ en comparación con el valor inicial, respectivamente) (figura 2A y 2B).

Los pacientes asignados aleatoriamente al grupo de metoprolol pasaron menos días en ventilación mecánica, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística ($15,5 \pm 7,6$ días frente a $21,9 \pm 12,6$ días en los grupos de metoprolol y control, respectivamente; $p = 0,17$). Se observó una tendencia similar en cuanto a los días de ingreso en UCI tras la inclusión en el ensayo ($14,5 \pm 7,2$ días

frente a $21,4 \pm 13,4$ días en los grupos de metoprolol y control, respectivamente; $p = 0,15$) (figura 2C). Todos los pacientes fueron dados de alta de la UCI, y 1 paciente de cada grupo falleció antes del alta hospitalaria.

DISCUSIÓN

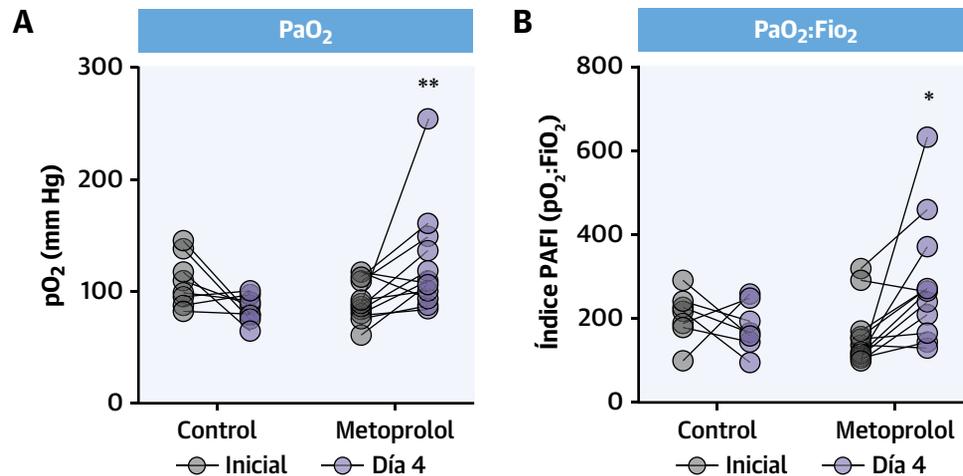
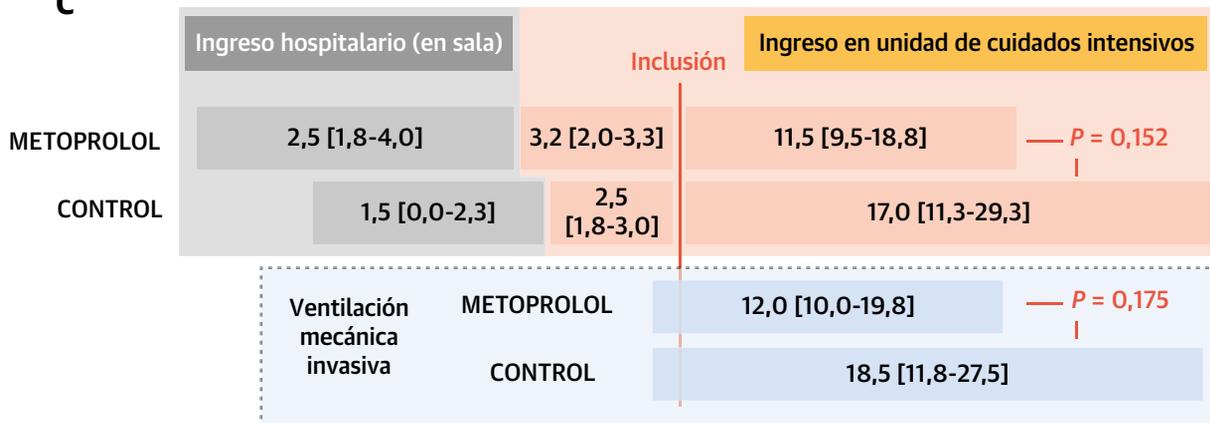
La pandemia de COVID-19 y el SDRA asociado a ella está suponiendo una inmensa carga para los sistemas de asistencia sanitaria. Además de una elevada mortalidad, el SDRA asociado a la COVID-19 comporta un ingreso en UCI prolongado, que contribuye a producir la morbilidad observada en los pacientes que sobreviven a ello, así como un elevado gasto hospitalario. El enfoque actualmente utilizado en estos pacientes se basa principalmente en la VMI protectora (35,36), que asegura un intercambio de gases suficiente al tiempo que causa un daño alveolar mínimo. Con la excepción de la dexametasona, que mostró unos resultados prometedores en un ensayo inicial (37), no hay ningún tratamiento dirigido específicamente a la inflamación agudizada que se da en el SDRA (38).

En este estudio presentamos los efectos de una administración intravenosa de metoprolol durante 3 días en la inflamación pulmonar en pacientes con COVID-19 que presentan un SDRA. El ensayo piloto MADRID-COVID muestra lo siguiente: 1) la administración i.v. del betabloqueante tartrato de metoprolol, que está autorizado para el uso clínico, es segura en este contexto clínico; 2) el tratamiento con metoprolol reduce la inflamación pulmonar agudizada que se asocia a la enfermedad; y 3) el efecto de interrupción de la inflamación agudizada se asocia a una mejor oxigenación y, por consiguiente, a un menor número de días de VMI y de estancia en la UCI (ilustración central). Estos datos sugieren que la utilización del metoprolol para un nuevo objetivo de tratamiento del SDRA asociado a la COVID-19 es una estrategia segura y poco costosa, y se asocia a una potencial mejora del pronóstico.

El presente estudio tiene su origen en nuestra amplia experiencia en el campo de la lesión de isquemia/reper-

	Situación inicial			Día 4		
	Metoprolol	Control	Valor de p	Metoprolol	Control	Valor de p
PaO_2 , mm Hg	87,5 (78,8, 110,0)	104,0 (93,0, 122)	0,105	108,0 (98,3, 139,0)	83,5 (77,3, 92,5)	0,004
$PaCO_2$, mm Hg	48,5 (43,8, 52,5)	47 (41,5, 48,8)	0,562	51,0 (46,5, 53,3)	47,0 (45,3, 50,5)	0,353
PEEP, cm H_2O	12,0 (10,0, 12,5)	13,0 (10,0, 14,0)	0,625	10,0 (9,00, 12,0)	11,0 (10,0, 12,0)	0,666
FiO_2	0,60 (0,5, 0,75)	0,48 (0,44, 0,60)	0,241	0,40 (0,39, 0,53)	0,43 (0,40, 0,57)	0,634
PaO_2/FiO_2	130 (110, 162)	223 (188, 242)	0,076	267 (199, 298)	163 (145, 209)	0,037
Ácido láctico, mmol/l	1,3 (1,2, 1,8)	1,2 (0,98, 2,00)	0,785	1,4 (1,20, 1,73)	1,9 (1,50, 2,05)	0,094
pH	7,41 (7,38, 7,42)	7,42 (7,37, 7,45)	0,485	7,43 (7,40, 7,46)	7,41 (7,38, 7,44)	0,461

Los valores corresponden a mediana (C1, C3). La **negrita** indica significación estadística.
 FiO_2 = fracción de oxígeno inspirado; $PaCO_2$ = presión parcial de dióxido de carbono; PaO_2 = presión parcial de oxígeno; PEEP = presión telespiratoria positiva.

FIGURA 2. El metoprolol proporciona un rescate de la función pulmonar en pacientes con COVID-19 grave ingresados en la UCI**C**

Los datos se expresan en forma de días, mediana [centiles 25-75]

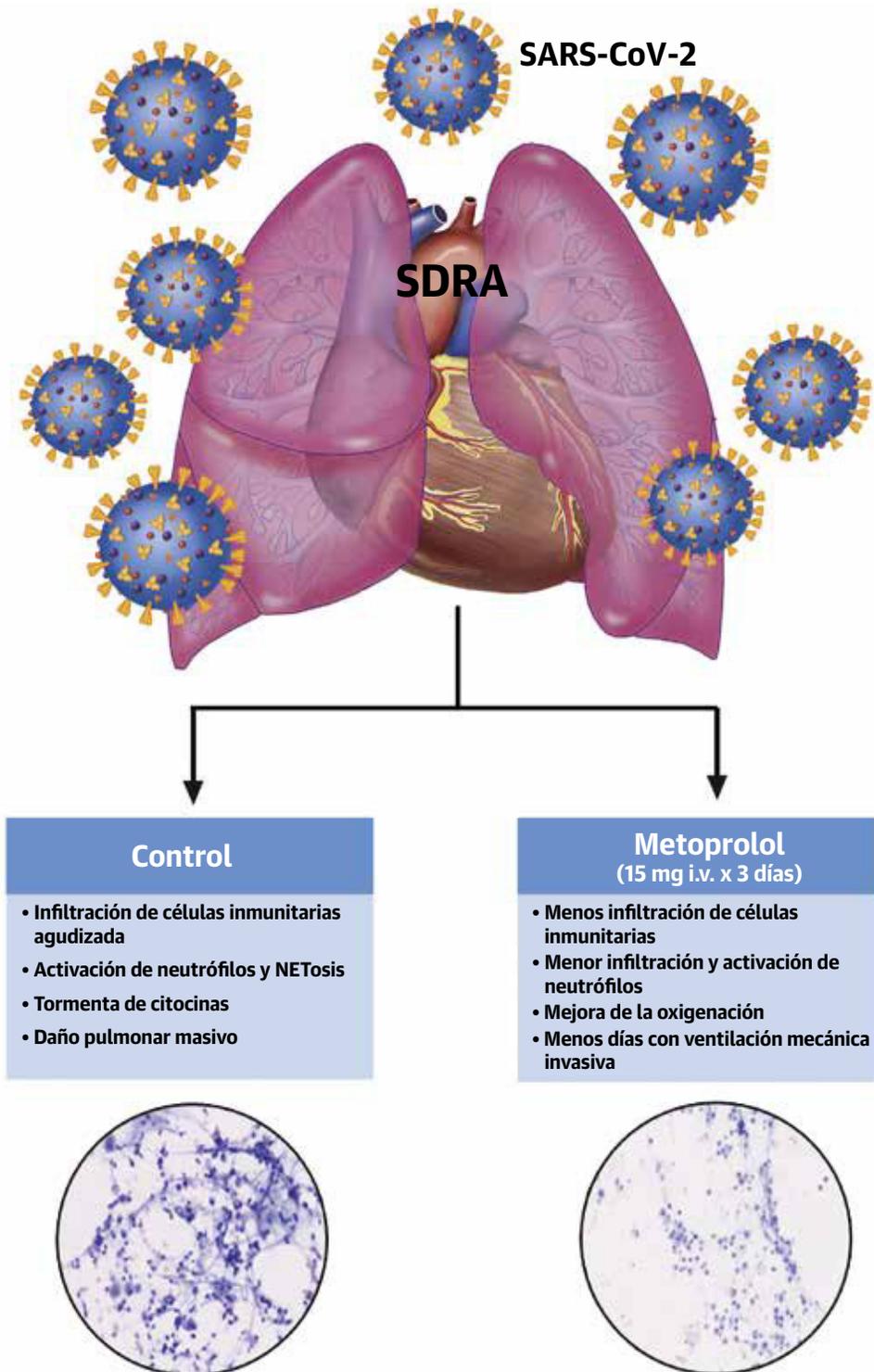
(A y B) Mejora de la oxigenación (PaO₂ y PaO₂:Fio₂) en los pacientes tratados con metoprolol, pero no en los pacientes del grupo de control. Los datos se presentan en forma de datos emparejados de individuos (puntos) entre los días 1 y 4. *p < 0,05, **p < 0,01 mediante la prueba de t de Student para muestras emparejadas. **(C)** Días de uso de VMI y de estancia en la UCI de los pacientes con COVID-19 grave según la asignación al grupo de metoprolol i.v. o al grupo de control (sin ese tratamiento). Control, n = 8; metoprolol, n = 12. Fio₂ = fracción de oxígeno inspirado; UCI = unidad de cuidados intensivos; VMI = ventilación mecánica invasiva; PAFI = cociente PaO₂:Fio₂; otras abreviaturas como en la **figura 1**.

fusión miocárdica. Anteriormente hemos demostrado que el metoprolol aporta una protección al corazón durante el infarto de miocardio en curso, al producir una atenuación de los neutrófilos y anular la inflamación agudizada (20,24). La identificación de este mecanismo cardioprotector brindó la oportunidad de reorientar el uso del metoprolol para emplearlo en otros trastornos agudos en los que la inflamación agudizada desempeña un papel, como es el caso del SDRA asociado a la COVID-19. El presente estudio resalta la importancia de conocer el mecanismo de acción de fármacos que se vienen utilizando desde hace mucho tiempo, con objeto de identificar otras posibles indicaciones.

Los pacientes con una COVID-19 grave sufren una neumonía bilateral que puede conducir a una dificultad respiratoria que requiera VMI. El SDRA asociado a la COVID-19 se caracteriza por una infiltración activa de neutrófilos en el espacio alveolar, que perpetúa la inflamación agudizada, dando lugar a una tormenta de citocinas e hipoxemia (8,34). La infiltración de neutrófilos es, pues, un importante factor contribuyente en el mal pronóstico de estos pacientes. Así pues, la mitigación de la disregulación inmunitaria es un camino terapéutico importante para el tratamiento y la prevención de la COVID-19 grave.

En varios estudios se han evaluado los posibles efectos beneficiosos de los betabloqueantes en la sepsis y el

ILUSTRACIÓN CENTRAL Un nuevo uso del metoprolol para tratar el SDRA en pacientes con COVID-19 en estado crítico



Clemente-Moragón, A. et al. J Am Coll Cardiol. 2021;78(10):1001-1011.

La reducción de la inflamación pulmonar se asoció a una mejora significativa de la oxigenación y a un menor número de días con ventilación mecánica y de ingreso en la unidad de cuidados intensivos. La utilización del metoprolol para un nuevo objetivo de tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria aguda asociado a la enfermedad por coronavirus-2019 (COVID-19) es una estrategia segura y poco costosa, que puede aliviar la carga de la pandemia de COVID-19.

shock séptico. Los datos de estudios retrospectivos observacionales han sugerido que los pacientes ingresados con un *shock séptico* y que anteriormente han recibido un tratamiento de mantenimiento con betabloqueantes tienen un pronóstico de supervivencia mejor que el de los pacientes que no han sido tratados con betabloqueantes antes del ingreso (13). Además, en ensayos clínicos prospectivos pequeños se han evaluado los efectos beneficiosos de los betabloqueantes i.v. en pacientes con sepsis (12,39-41). La conclusión de la mayor parte de estos ensayos es que los betabloqueantes parecen aportar un beneficio clínico.

En un análisis de diversos modelos experimentales de la inflamación agudizada, recientemente hemos puesto de relieve que no todos los betabloqueantes con selectividad β_1 ejercen los mismos efectos sobre la biología de los neutrófilos. De todos los betabloqueantes examinados, tan solo el metoprolol atenuó de forma significativa la inflamación agudizada y redujo la infiltración de neutrófilos y su interacción con otros tipos de células (24). Estos resultados sitúan al metoprolol como betabloqueante de elección en el contexto de una inflamación agudizada.

El presente estudio muestra que un tratamiento de 3 días con metoprolol i.v. reduce la inflamación agudizada en pacientes con COVID-19 y un SDRA asociado que se encuentran en un estado crítico. Esto se evidenció mediante la atenuación de la infiltración de células inmunitarias, en especial neutrófilos, y la reducción de los niveles de productos derivados de la NETosis y productos inflamatorios relacionados (figura 1), que pueden ser la causa de una lesión epitelial y endotelial grave. La menor infiltración de neutrófilos en los pacientes tratados con metoprolol se acompañó de una reducción significativa de las concentraciones circulantes de la IL-8 proinflamatoria, que ejerce funciones quimiotácticas y activadoras sobre los neutrófilos, lo cual sugiere un efecto antiinflamatorio sistémico de este tratamiento (figura 4 del Suplemento). Los marcadores sistémicos de la NETosis no se vieron afectados el día 4; sin embargo, no puede descartarse la existencia de un efecto en un intervalo de tiempo más largo después del tratamiento con el metoprolol (figura 5 del Suplemento). El efecto favorable del metoprolol de reducción de la inflamación pulmonar en los pacientes con COVID-19 y un SDRA se asoció a la presencia de indicadores claros de un beneficio clínico, que se demostró por una mejora significativa de la oxigenación ($\text{PaO}_2:\text{FiO}_2$) no observada en los pacientes del grupo de control (figura 2). Estos resultados son muy alentadores, pero serán necesarios nuevos ensayos a gran escala para validar los beneficios clínicos aportados por el metoprolol en este contexto. Dado que los neutrófilos desempeñan un papel importante en la fisiopatología del SDRA de múltiples causas (no solo del asociado a la COVID-19), en futuros estudios de validación amplios po-

dría incluirse un amplio espectro de pacientes con este trastorno.

El ensayo piloto MADRID-COVID ha demostrado que en pacientes con un SDRA causado por la COVID-19 y que se encuentran en un estado crítico, la administración i.v. del betabloqueante metoprolol, que está autorizado para el uso clínico, es segura e interrumpe la inflamación pulmonar agudizada que se asocia a la enfermedad. Los efectos beneficiosos sobre la inflamación agudizada se asociaron a una mejor oxigenación y una reducción no significativa del número de días de ventilación mecánica y de estancia en la UCI. El metoprolol intravenoso es una intervención prometedora que podría mejorar el pronóstico de los pacientes con COVID-19 en un estado crítico. Aunque estos datos tendrán que ser confirmados en una muestra más amplia, el metoprolol es un fármaco disponible clínicamente y de bajo coste (el coste del tratamiento diario es $< 2 \text{ €}$) que puede mejorar los resultados clínicos en los pacientes con COVID-19 grave.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO. La principal limitación de este estudio es el pequeño tamaño de la muestra. El estudio tuvo el poder estadístico necesario para detectar diferencias en la inflamación pulmonar, pero no en los eventos clínicos. Otra limitación es el carácter unicéntrico del estudio. Este estudio tuvo un diseño abierto, y no se ocultó la asignación del tratamiento a los médicos encargados del tratamiento. Por último, no podemos descartar un sesgo de selección que hiciera que no se contemplara la inclusión de pacientes en un mal estado clínico en opinión de los médicos.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que la administración i.v. de metoprolol a pacientes con un SDRA asociado a la COVID-19 es segura y anula la inflamación pulmonar agudizada que se asocia a la enfermedad. La reducción de la inflamación pulmonar se asoció a una mejora significativa de la oxigenación y a una tendencia a un menor número de días con ventilación mecánica y de ingreso en la UCI. El nuevo uso del metoprolol para el tratamiento del SDRA asociado a la COVID-19 es una intervención segura y de bajo coste, que puede ser útil para aliviar la enorme carga de personal y de asistencia sanitaria que se asocia a la pandemia.

AGRADECIMIENTOS. Los autores expresan su agradecimiento a las siguientes personas por su importante apoyo durante la realización de este estudio: Noemí Escalera, Rocío Escudero, y Antonio de Molina-Iracheta del CNIC; y Luis Nieto, Ana María Venegas, José Tuñón, Ignacio Cornejo, Sandra Zazo, y Federico Rojo de la Fundación Jiménez Díaz. La corrección del inglés corrió a cargo de Simon Bartlett.

APOYO DE FINANCIACIÓN Y DECLARACIONES DE INTERESES DE LOS AUTORES

El Sr Clemente-Moragón ha recibido una beca de formación del Ministerio de Ciencia e Innovación (FPU2017/01932). El CNIC cuenta con el respaldo del ISCIII, el Ministerio de Ciencia e Innovación y la Fundación Pro CNIC. El Dr. Ibáñez cuenta con el apoyo de la Comisión Europea (subvención ERC-CoG número 819775) y del Ministerio de Ciencia e Innovación de España (MCN; "RETOS 2019" subvención número PID2019-107332RB-I00). El Dr. Oliver cuenta con el apoyo de fondos de la Comunidad de Madrid Programa de Atracción de Talento (2017-T1/BMD-5185). Todos los demás autores han indicado no tener relaciones relevantes que declarar en relación con el contenido de este artículo.

DIRECCIÓN PARA LA CORRESPONDENCIA: Dr. Borja Ibáñez, Translational Laboratory for Cardiovascular Imaging and Therapy, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) e IIS-Fundación Jiménez Díaz University Hospital, c/ Melchor Fernandez Almagro, 3. 28029 Madrid, España. Correo electrónico: bibanez@cnic.es. Twitter: @Borjaibanez1, @CNIC_CARDIO.

PERSPECTIVAS

COMPETENCIAS EN LA ASISTENCIA DE LOS PACIENTES Y LAS CAPACIDADES DE APLICACIÓN DE TÉCNICAS:

En los pacientes con COVID-19 en estado crítico y tratados con apoyo ventilatorio mecánico, la administración intravenosa de metoprolol al ingreso en la UCI es segura y mejora la función pulmonar y la evolución clínica.

PERSPECTIVA TRASLACIONAL: Serán necesarios futuros estudios con un tamaño de la muestra más grande para confirmar el beneficio aportado por el metoprolol en los pacientes con COVID-19 en estado crítico y potencialmente en el SDRA de otras etiologías inflamatorias.

BIBLIOGRAFÍA

- Ritter M, Ott DVM, Paul F, Haynes JD, Ritter K. COVID-19: a simple statistical model for predicting intensive care unit load in exponential phases of the disease. *Sci Rep*. 2021;11:5018.
- Middleton EA, He XY, Denorme F, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*. 2020;136:1169-1179.
- Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2020;5.
- Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2017;377:562-572.
- Cavalcante-Silva LHA, Carvalho DCM, Lima EA, et al. Neutrophils and COVID-19: the road so far. *Int Immunopharmacol*. 2021;90:107233.
- Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, Hatanaka E. COVID-19 and neutrophils: the relationship between hyperinflammation and neutrophil extracellular traps. *Mediators Inflamm*. 2020;2020:8829674.
- Standford TJ, Ward PA. Therapeutic targeting of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Transl Res*. 2016;167:183-191.
- Chiang CC, Korinek M, Cheng WJ, Hwang TL. Targeting neutrophils to treat acute respiratory distress syndrome in coronavirus disease. *Front Pharmacol*. 2020;11:572009.
- Tomar B, Anders HJ, Desai J, Mulay SR. Neutrophils and neutrophil extracellular traps drive necroinflammation in COVID-19. *Cells*. 2020;9:1383. <https://doi.org/10.3390/cells9061383>
- Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, et al. Severe COVID-19 is marked by a dysregulated myeloid cell compartment. *Cell*. 2020;182: 1419-1440.e23.
- Martinez-Milla J, Raposeiras-Roubin S, Pascual-Figal DA, Ibanez B. Role of beta-blockers cardiovascular disease in 2019. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2019;72:844-852.
- Chacko CJ, Gopal S. Systematic review of use of beta-blockers in sepsis. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2015;31:460-465.
- Tan K, Harazim M, Tang B, McLean A, Nalos M. The association between premonitory beta blocker exposure and mortality in sepsis-a systematic review. *Crit Care*. 2019;23:298.
- Oliver E, Mayor F Jr, D'Ocon P. Beta-blockers: historical perspective and mechanisms of action. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2019;72(10):853-862.
- Noveanu M, Breidhardt T, Reichlin T, et al. Effect of oral beta-blocker on short and long-term mortality in patients with acute respiratory failure: results from the BASEL-II-ICU study. *Crit Care*. 2010;14:R198.
- Cotton BA, Snodgrass KB, Fleming SB, et al. Beta-blocker exposure is associated with improved survival after severe traumatic brain injury. *J Trauma*. 2007;62:26-33. discussion 33-5.
- Inaba K, Teixeira PG, David JS, et al. Beta-blockers in isolated blunt head injury. *J Am Coll Surg*. 2008;206:432-438.
- Christensen S, Johansen MB, Tonnesen E, et al. Preadmission beta-blocker use and 30-day mortality among patients in intensive care: a cohort study. *Crit Care*. 2011;15:R87.
- van der Jagt M, Miranda DR. Beta-blockers in intensive care medicine: potential benefit in acute brain injury and acute respiratory distress syndrome. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*. 2012;7: 141-151.
- Garcia-Prieto J, Villena-Gutierrez R, Gomez M, et al. Neutrophil stunning by metoprolol reduces infarct size. *Nat Commun*. 2017;8:14780.
- Garcia-Ruiz JM, Fernandez-Jimenez R, Garcia-Alvarez A, et al. Impact of the timing of metoprolol administration during STEMI on infarct size and ventricular function. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67:2093-2104.
- Pizarro G, Fernandez-Friera L, Fuster V, et al. Long-term benefit of early pre-reperfusion metoprolol administration in patients with acute myocardial infarction: results from the METOCARD-CNIC Trial (Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction). *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:2356-2362.
- Ibanez B. Intravenous beta-blockers in STEMI: what you are about to do, do it quickly. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2020;9:459-461.
- Clemente-Moragón A, Gomez M, Villena-Gutierrez R, et al. Metoprolol exerts a non-class effect against ischaemia-reperfusion injury by abrogating exacerbated inflammation. *Eur Heart J*. 2020;41:4425-4440.
- Smith PJ, Wiltshire M, Errington RJ. DRAQ5 labeling of nuclear DNA in live and fixed cells. *Curr Protoc Cytom*. 2004 Chapter 7:Unit 7.25.
- Martin RM, Leonhardt H, Cardoso MC. DNA labeling in living cells. *Cytometry A*. 2005;67:45-52.
- Mandy F, Brando B. Enumeration of Absolute Cell Counts Using Immunophenotypic Techniques. *Curr Protoc Cytom*. 2000;13:6.8.1-6.8.26.
- Kessenbrock K, Krumbholz M, Schonermarck U, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med*. 2009;15:623-625.
- Zuo Y, Zuo M, Yalavarthi S, et al. Neutrophil extracellular traps and thrombosis in COVID-19. *J Thromb Thrombolysis*. 2021;51:446-453.
- Malachowa N, Kobayashi SD, Freedman B, Dorward DW, DeLeo FR. *Staphylococcus aureus*

- leukotoxin GH promotes formation of neutrophil extracellular traps. *J Immunol.* 2013;191:6022-6029.
- 31.** Vargas A, Boivin R, Cano P, Murcia Y, Bazin I, Lavoie JP. Neutrophil extracellular traps are down-regulated by glucocorticosteroids in lungs in an equine model of asthma. *Respir Res.* 2017;18:207.
- 32.** Hartl D, Griese M, Nicolai T, et al. A role for MCP-1/CCR2 in interstitial lung disease in children. *Respir Res.* 2005;6:93.
- 33.** He C, Carter AB. C(C)learing the Role of Chemokines in Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020;62:546-547.
- 34.** Pandolfi L, Fossali T, Frangipane V, et al. Broncho-alveolar inflammation in COVID-19 patients: a correlation with clinical outcome. *BMC Pulm Med.* 2020;20:301.
- 35.** Haas CF. Lung protective mechanical ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Respir Care Clin N Am.* 2003;9:363-396.
- 36.** Gong MN, Ferguson ND. Lung-protective ventilation in acute respiratory distress syndrome. How soon is now? *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191:125-126.
- 37.** Villar J, Ferrando C, Martinez D, et al. Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2020;8:267-276.
- 38.** Baudouin SV. Manipulation of inflammation in ARDS: achievable goal or distant target? *Thorax.* 2006;61:464-465.
- 39.** Schmittinger CA, Dunser MW, Haller M, et al. Combined milrinone and enteral metoprolol therapy in patients with septic myocardial depression. *Crit Care.* 2008;12:R99.
- 40.** Morelli A, Donati A, Ertmer C, et al. Microvascular effects of heart rate control with esmolol in patients with septic shock: a pilot study. *Crit Care Med.* 2013;41:2162-2168.
- 41.** Morelli A, Ertmer C, Westphal M, et al. Effect of heart rate control with esmolol on hemodynamic and clinical outcomes in patients with septic shock: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2013;310:1683-1691.

PALABRAS CLAVE asistencia aguda, SDRA, COVID, metoprolol

APÉNDICE Pueden consultarse las tablas y figuras del suplemento en la versión *online* de este artículo.