

*Jefatura de Enseñanza e Investigación. Hospital General de Ticomán. Ciudad de México. **División de Estudios de Posgrado, Facultad de Medicina UNAM. ***Facultad Mexicana de Medicina, Universidad la Salle.

Recibido: 30-01-23

Aceptado: 10-03-2023

Correspondencia: Dr. Alberto Francisco Rubio Guerra

Correo electrónico:

clinhta@hotmail.com

Papel de las estatinas en el manejo del COVID 19

Papel das estatinas no tratamento da COVID 19

Role of Statins in the Management of COVID 19

Alberto Francisco Rubio Guerra. PhD *; ** Georgina Ivonne Narvaez Ortiz. *, ***

RESUMEN

Las estatinas son fármacos que se desarrollaron para el manejo de las dislipidemias, sin embargo, se han descrito otros efectos de las mismas, a los que se les ha llamado pleiotrópico, destacando su efecto anti-inflamatorio y modificador de los niveles de diversas citoquinas, dentro de los efectos pleiotrópicos se ha descrito actividad antiviral. En esta revisión, buscamos en PubMed información sobre estatinas en infecciones virales en general, y en infección por COVID-19 en particular, analizando la información más reciente tanto su posible papel en la profilaxis, así como en el tratamiento de la enfermedad.

Palabras Clave: Estatinas, efectos pleiotrópicos, Covid 19.

RESUMO

As estatinas são drogas que foram desenvolvidas para o manejo das dislipidemias, porém, foram descritos outros efeitos das mesmas, os quais foram denominados pleiotrópicos, destacando-se seu efeito anti-inflamatório e modificador dos níveis de várias citocinas, dentro dos efeitos pleiotrópicos, foi descrita atividade antiviral. Nesta revisão, buscamos no PubMed informações sobre estatinas em infecções virais em geral e na infecção por COVID-19 em particular, analisando as informações mais recentes tanto para seu possível papel na profilaxia, quanto no tratamento da doença.

Palavras-chave: Estatinas, efeitos pleiotrópicos, Covid 19.

ABSTRACT

Statins are drugs that were developed for the management of dyslipidemias, however, other effects of them have been described, which have been called pleiotropic, highlighting their anti-inflammatory actions and its effect on the levels of various cytokines, within the pleiotropic effects antiviral activity has been described.

In this review, we searched in PubMed for statin information in viral infections in general, and in COVID-19 infection in particular, analyzing the latest informa-

tion available regarding both, their possible role in prophylaxis as well as in the treatment of the disease.

Keywords: Statins, pleiotropic effects, Covid-19.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID19), causada por el coronavirus SARS-CoV2, apareció en diciembre 2019 en un mercado de la ciudad de Wuhan, capital de la provincia Hubei en la zona central de China, y fue declarada pandemia por la OMS el 11 de marzo de 2020 ¹, el padecimiento presenta una mortalidad de alrededor del 2,3% y una tasa de transmisión de aproximadamente 2.5–3.0. ² El agente causal es un beta coronavirus, el cual posee una sola cadena de ácido ribonucleico ², dicho virus suele afectar más a pacientes con comorbilidades como enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y/o hipertensión arterial (HTA). ³

Frecuentemente, y debido a las comorbilidades mencionadas, los pacientes con COVID19 reciben tratamiento con una estatina, se sabe que este manejo aumenta la expresión de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2), y dado que esta enzima es el receptor mediante el cual el SARS-CoV2 ingresa a las células, el uso de estos agentes provocó en un inicio temor a que aumentaran el riesgo de contraer el padecimiento ⁴. Los primeros reportes mostraron un efecto neutro de las estatinas en la enfermedad por COVID 19 ³, a continuación, revisaremos la evidencia disponible del efecto de estos fármacos en la infección por el SARSCoV2.

Estatinas

Las estatinas son la familia de fármacos hipolipemiantes más usada, su mecanismo de acción es la inhibición de la hidroximetil glutaril coenzima A reductasa (HMGCoAR), una enzima clave en la síntesis de colesterol, de esta forma disminuyen los niveles séricos del lípido, así como de las lipoproteínas de baja densidad ⁴, su uso se acompaña de una reducción importante de riesgo cardiovascular, de la morbilidad y mortalidad cardiovascular, y la mortalidad por cualquier causa.^{4,5} Además de sus efectos sobre los lípidos, las estatinas tienen otras acciones, llamadas pleiotrópicas, poseen propiedades antiinflamatorias,

antitrombóticas, antioxidantes, antiarrítmicas, mejoran la función endotelial y retrasan e incluso revierten el proceso aterogénico ³. Se ha descrito también un efecto inmunomodulador. ⁴

Estatinas e infecciones

Fedson et al. ⁶ reportaron que al añadir atorvastatina (e irbesartán) en 100 pacientes infectados por el virus del ébola, 98 sobrevivieron, si bien este hecho se atribuyó principalmente a un papel de ambos fármacos sobre el endotelio, se abrió la posibilidad de usarlos como un recurso terapéutico en procesos infecciosos. El papel de los inhibidores del eje renina angiotensina en infecciones pulmonares, particularmente COVID 19, lo hemos revisado en otro sitio. ¹

Existen reportes de que el uso previo de estatinas en pacientes con una infección bacteriana, reduce el riesgo de desarrollo de septicemia.⁷ y un estudio retrospectivo mostró que los pacientes con septicemia que reciben estos fármacos, tienen menor mortalidad que quienes no los consumen ⁸. Todo ello sugiere un efecto benéfico de las estatinas en infecciones bacterianas, aunque el mecanismo no se ha determinado.

Estatinas e infecciones virales

Las estatinas poseen efectos pleiotrópicos, algunos de los cuales resultan en actividad antiviral, los cuales se describen en la Tabla I. ⁹

Tabla I. Efectos antivirales de las estatinas

Limitación de la replicación y transmisión intercelular de los virus.
Reducción de la concentración intracelular de ácido mevalónico y colesterol.
Disminución de precursores de la isoprenilación de proteínas como Rho y RAS GTPasas, indispensables para la regulación del ciclo vital de los virus.
Reducción de la expresión de receptores virales.
Interferencia con el ensamblaje de la partícula viral y su liberación.
Inmunomodulación, aumentando la capacidad del sistema inmune para reconocer virus.
Inhibición de la expresión y función de proteínas reguladoras del ciclo intracelular de los virus.

Se ha reportado que las estatinas brindan un papel protector contra la influenza, con menor morbilidad y mortalidad en sujetos ancianos que las reciben y contraen la infección ¹⁰. También en población general el uso de estatinas disminuyó en un 41% la mortalidad por Influenza A, así como complicaciones por H1N1 ⁹. De hecho, el efecto antiviral se ha encontrado contra diversos virus, como virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis B, Zika, ébola, dengue, citomegalovirus, virus sincitial respiratorio, virus de la influenza aviar y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). ⁹

Un estudio retrospectivo que comparó el riesgo de presentar infecciones virales en 20 202 sujetos con dislipidemia que tomaban o no estatinas, encontró en un seguimiento a 6.9 años, que la ingesta de estos fármacos reducía en forma significativa el riesgo de presentar infecciones virales (RM 0.4, IC 95% 0.38-0.41), en mayores de 18 años, sin importar el sexo ni la edad, incluso encontró que el riesgo de infecciones virales disminuía al aumentar la duración de la ingesta de estatinas. ¹¹ Las estatinas pueden interferir con el ciclo viral en diferentes etapas:

Fusión y entrada a la célula

En la fusión y posterior entrada en la célula, esto puede suceder por disminución del colesterol necesario para que las glucoproteínas de algunos virus puedan unirse a la membrana celular del hospedero, esto se ha demostrado con respecto al VIH. ¹² El virus sincitial respiratorio requiere de la prenilación de algunas glucoproteínas para poder ingresar a la célula, lo cual es inhibido por las estatinas, el uso de lovastatina mejora a ratones infectados con este virus. ¹³ Las estatinas también reducen la expresión de receptores a virus en la membrana celular, como el receptor CCR5, necesario para el ingreso del VIH a la célula. ⁹

Replicación viral

Las estatinas interfieren con la replicación viral por varios mecanismos, como supresión de la síntesis de mevalonato, -lo que interfiere con la replicación del virus del dengue, misma que se restaura al agregar colesterol- ¹⁴, reducción en la prenilación de proteínas de replicación, lo que interfiere con los mecanismos de replicación del virus de la hepatitis C y del citomegalovirus ⁹. Finalmente, al inhibir la HMGCoAR, restauran la vía de señalización STAT-1, el mecanismo final de acción del interferón α . ⁹

Ensamblaje de la partícula viral

Al suprimir la prenilación de proteínas, las estatinas evitan el ensamblaje del virus de la hepatitis C,⁹ mientras que al reducir los niveles de mevalonato suprimen el ensamblaje del virus ébola ¹⁵, finalmente al suprimir la vía de señalización Src kinasa, inhiben el ensamblaje del virus del dengue. ¹⁶

Liberación de la partícula viral

Para este proceso es indispensable la presencia de colesterol, y de la acción de una proteína viral reguladora llamada Nef, esta última es directamente inhibida por las estatinas. ¹⁷

Transmisión viral a otras células

Las estatinas pueden interferir con las vías de transmisión de partículas virales por reducir los niveles de colesterol, interferir con la prenilación de proteínas y alterar la expresión de moléculas de adhesión. ⁹ Va-

rios virus como VIH, requieren a la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) para pasar de una célula a otra⁹, las estatinas disminuyen los niveles de ICAM-1¹⁸, y de esta forma evitan la transmisión de particular virales tanto célula a célula, como a través de células presentadoras de antígenos.⁹ Por lo anterior, y aunque se requieren más estudios, las estatinas parecen tener potencial terapéutico en el manejo de las infecciones virales.

Mecanismos antiCOVID-19

Con respecto a la actividad contra el COVID-19, las estatinas tienen los siguientes efectos, aumento de niveles de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) 2 soluble, la cual puede unirse al virus evitando así su fusión con la membrana celular de la célula hospedera, inhibiendo la replicación viral.²⁰ Las estatinas se unen a la proteasa principal del virus, en forma similar a los inhibidores de proteasas.²⁰ En un estudio in vitro, la disminución del colesterol unido a la membrana de las células que expresan ECA2, se acompañó de reducción de la infectividad del virus, ya que la unión de la proteína espiga se redujo en un 50%, el mecanismo parece ser que las balsas lipídicas, indispensables para la unión del virus con la ECA 2 y su endocitosis a la célula, no se forman por falta del lípido, lo que impide la penetración viral a la célula.²

Otros efectos benéficos

Al reprimir la expresión del gen MyD88, las estatinas suprimen la activación del factor nuclear κ b, y ejercen un efecto antiinflamatorio, además, al aumentar los niveles de ECA 2 soluble, favorece la formación de angiotensina 1-7, la que al estimular el receptor MAS-R, disminuye la fibrosis pulmonar, ambos mecanismos reducen el daño pulmonar.²⁰

Las estatinas reducen la producción de interleucinas 1, 1 β y 6, lo que disminuye sus efectos inflamatorios en los tejidos²⁰, particularmente IL6 es determinante para el desarrollo de la tormenta de citocinas y el síndrome de activación de macrófagos, lo que sería atenuado por las estatinas, particularmente las liposolubles como atorvastatina, simvastatina y pitavastatina.² Estos fármacos también mejoran la función endotelial, que se ve afectada por el COVID-19, por lo que, además de mejorar la hipoxia tisular, reducen el estado protrombótico de estos pacientes.²⁰ En ratones, atorvastatina reduce la fibrosis pulmonar provocada por el virus COVID-19, al parecer disminuyendo niveles de fibronectina y la actividad del factor transformante de crecimiento β .²

Estatinas en COVID

Se ha reportado que la dislipidemia puede aumentar el riesgo de cuadros graves de COVID-19 en un 39% (RR = 12; CI 95%: 1.33-108; p = 0.03), por lo que la co-

rrección de la misma con estatinas puede reducir dicho riesgo, lo que se analizará a continuación.² Varios estudios retrospectivos han mostrado que el uso previo de estatinas se acompaña de un mejor pronóstico en los enfermos con COVID 19.

En un análisis de las muertes hospitalarias en 8910 pacientes con COVID-19 de países de Asia, Europa y América del Norte se encontró que el uso de estatinas se asoció con un pronóstico favorable.²⁰ Un artículo que incluyó 22 estudios, reveló que el tratamiento con estatinas se asocia a una reducción del 35% en el riesgo de muerte, en pacientes hospitalizados por COVID-19.³ Un metanálisis exhaustivo que incluyó 8 990 sujetos, encontró que el riesgo de enfermedad grave y/o mortalidad en COVID-19, fue menor entre los pacientes que tomaba estatinas comparado con quienes no las tomaban, el análisis reveló que entre los pacientes con COVID-19 con tratamiento con estatinas, la gravedad de la enfermedad y la mortalidad se redujeron significativamente (HR = 0,70; IC del 95%: 0,53-0,94).²¹

Un estudio que reportó datos de 10 541 pacientes hospitalizados por COVID 19, encontró que los pacientes que recibían estatinas antes de la hospitalización mostraron un riesgo 25% menor de tener una forma grave de la enfermedad, y 40% menor de muerte, que quienes no tomaban el medicamento, principalmente entre las personas con antecedentes de enfermedad cardiovascular y / o hipertensión arterial.²² El análisis de los expedientes de 1014 pacientes, encontró que el uso previo de estatinas se asoció con una disminución significativa de la mortalidad (OR, 0,66; IC del 95%, 0,46 - 0,95; p = 0,03).²³

Una investigación que incluyó más de 4 millones de pacientes mayores de 65 años con COVID, aquellos que recibían una estatina (50% de los sujetos incluidos), presentaron un 16% menor de hospitalización comparado con quienes no las recibían, (RM 0.84; CI 95%, 0.81-0.88), todas las estatinas mostraron este efecto protector. Lo mismo se encontró con respecto al riesgo de muerte en pacientes hospitalizados (RM 0.77; 95% CI, 0.69-0.86).²⁴ La revisión de los casos de 10 448 pacientes con un promedio de edad de 45 años que cursaban con COVID-19 encontró al aplicar la regresión de Cox, una disminución significativa en el cociente de riesgos instantáneos asociado con el uso de estatinas (cociente de riesgos instantáneos, 0,637 [IC del 95%, 0,425-0,953]; P=0,0283).²⁵

Un estudio realizado en España que incluyó 1122 pacientes hospitalizados con COVID-19, encontró que, en el análisis de supervivencia ponderado por la posibilidad de recibir el tratamiento, la terapia previa con estatinas (40.22% de los sujetos incluidos), se asoció

con una reducción significativa de la mortalidad (HR: 0,76; IC 95%: 0,59-0,97), el mayor beneficio se observó en sujetos con enfermedad coronaria.²⁶ Por otra parte, se ha encontrado que la interrupción del tratamiento previo con atorvastatina, se asocia con un aumento del 35% en la mortalidad, y en la necesidad de ventilación, para los pacientes con COVID-19, Razón de momios: 0.65, CI 95%: 0.59-0.72, p < .001.²⁷ Actualmente, se están realizando varios estudios clínicos prospectivos controlados para establecer la utilidad de las estatinas en el desenlace de los pacientes que cursan con COVID-19.

Otras aplicaciones

Una publicación reciente mostró que los pacientes con COVID-19 prolongado tienen un riesgo aumentado de presentar dislipidemia en la fase postaguda de la infección²⁸ (RR1.31, IC 95% 1.28-1.34), incluso en sujetos que no requirieron hospitalización, el riesgo aumentó conforme fue mayor la severidad del cuadro viral, por lo que aquellos pacientes que tomaban estatinas antes de la infección, deberán seguir con dicho tratamiento para mantener los lípidos séricos a nivel terapéutico; estudios posteriores deberán establecer si las estatinas evitan la aparición de esta dislipidemia post-COVID 19 en pacientes sin dislipidemia previa.

CONCLUSIONES

Las estatinas, a través de su mecanismo de acción pleiotrópico, pueden reducir la penetración del SARS-CoV-2 en la célula huésped y reducir el riesgo de complicaciones de la tormenta de citoquinas, estos fármacos pueden ejercer varios efectos benéficos sobre la inflamación, disfunción endotelial, coagulación, trombosis, expresión y función de ACE2 y fibrosis pulmonar. A través de estos mecanismos de acción, las estatinas pueden modificar favorablemente la incidencia y el curso de la infección por COVID-19.

Debido a sus efectos cardioprotectores bien establecidos, se debe mantener la terapia hipolipemiantre establecida al tratar a pacientes infectados con SARS-CoV-2, es importante señalar que la infección por COVID-19 aumenta el riesgo de dislipidemia, lo que resalta la necesidad de continuar este manejo en ellos. Los pacientes con hipercolesterolemia familiar y aquellos sujetos con un riesgo elevado de enfermedad vascular cerebral, pueden estar en riesgo de un cuadro grave de COVID-19. Por lo que es particularmente importante mantener el tratamiento hipolipemiantre en este grupo de pacientes.

La evidencia disponible parece apoyar la hipótesis de que las estatinas interfieren favorablemente

con varias vías en COVID-19, y respaldan una acción protectora del uso de estatinas en estos pacientes. Teniendo en cuenta la necesidad de estrategias terapéuticas efectivas para abordar los casos de COVID-19 que van de leves a graves, se puede justificar la realización de más investigaciones para evaluar los beneficios potenciales con estos agentes. Los ensayos clínicos aleatorios prospectivos en curso permitirán establecer con más precisión el papel de las estatinas en la infección por SARS-CoV-2. Además de reducir el riesgo de muerte en pacientes con COVID-19, el uso de estatinas puede reducir el riesgo de contagio.

REFERENCIAS

1. Rubio-Guerra AF. Hipertensión arterial, sistema renina angiotensina aldosterona e infección por Covid-19. En Castro-Martínez G, Rubio Guerra AF. Diabetes y Corazón. México, Alfil, 2021. 237-244.
2. Surma S, Banach M, Lewek J. COVID-19 and lipids. The role of lipid disorders and statin use in the prognosis of patients with SARS-CoV-2 infection. *Lipids Health Dis.* 2021;20:141.
3. Kollias A, Kyriakoulis KG, Kyriakoulis IG, Nitsotolis T, Poulakou G, Stergiou GS, et al. Statin use and mortality in COVID-19 patients: Updated systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis.* 2021;330:114-121.
4. Lee HY, Ahn J, Park J, Kyung Kang C, Won SH, Wook Kim D, et al. Korean Society of Hypertension, National Committee for Clinical Management of Emerging Infectious Diseases. Beneficial Effect of Statins in COVID-19-Related Outcomes-Brief Report: A National Population-Based Cohort Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41:e175-e182.
5. de Pádua Borges R, Degobbi NAH, Bertoluci MC. Choosing statins: a review to guide clinical practice. *Arch Endocrinol Metab.* 2020;64:639-653
6. Fedson DS, Rordam OM. Treating Ebola patients: a 'bottom up' approach using generic statins and angiotensin receptor blockers. *Int J Infect Dis.* 2015;36:80-4.
7. Almog Y, Shefer A, Novack V, Maimon N, Barski L, Eizinger M, et al. Prior statin therapy is associated with a decreased rate of severe sepsis. *Circulation.* 2004;110:880-885.
8. Liappis AP, Kan VL, Rochester CG, Simon GL. The effect of statins on mortality in patients with bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2001;33:1352-1357.
9. Gorabi AM, Kiae N, Bianconi V, Jamialahmadi T, Al-Rasadi K, Johnston TP, et al. Antiviral effects of statins. *Prog Lipid Res.* 2020;79:101054.
10. Kwong JC, Li P, Redelmeier DA. Influenza morbidity and mortality in elderly patients receiving statins: a cohort study. *PLoS One.* 2009;4:e8087.
11. Wu BR, Chen DH, Liao WC, et al. Statin Therapy and the Risk of Viral Infection: A Retrospective Population-Based Cohort Study. *J Clin Med.* 2022;11:5626. doi:10.3390/jcm11195626
12. Liao Z, Cimakasky LM, Hampton R, Nguyen DH, Hildreth JE. Lipid rafts and HIV pathogenesis: host membrane cholesterol is required for infection by HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2001;17:1009-1019.
13. Gower TL, Graham BS. Antiviral activity of lovastatin against respiratory syncytial virus in vivo and in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:1231-7.
14. Rothwell C, Lebreton A, Young Ng C, Lim JY, Liu W, Vasudevan S, et al. Cholesterol biosynthesis modulation regulates dengue viral replication. *Virology.* 2009;389:8-19.
15. Shrivastava-Ranjan P, Flint M, Bergeron É, McElroy AK, Chatterjee P, Albariño CG, et al. Statins Suppress Ebola Virus Infectivity by Interfering with Glycoprotein Processing. *mBio.* 2018;9:e00660-18.

16. Martínez-Gutierrez M, Castellanos JE, Gallego-Gómez JC. Statins reduce dengue virus production via decreased virion assembly. *Intervirology*. 2011;54:202-216.
17. Gilbert C, Bergeron M, Méthot S, Giguère JF, Tremblay MJ. Statins could be used to control replication of some viruses, including HIV-1. *Viral Immunol*. 2005;18:474-89.
18. Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Vargas-Ayala G, Rodríguez-López L, Elizalde-Barrera CI, Escalante-Acosta BA. The Lipid Independent Effect of Statins on Albuminuria in Type-2 Diabetes Mellitus. *JCV*. 2014;2:143-146.
19. Lima Martínez MM, Contreras MA, Marín W, D'Marco L. Estatinas en COVID- ¿existe algún fundamento?. *Clin Investig Arterioscler*. 2020;32:278-281.
20. Vuorio A, Kovanen PT. Statins as Adjuvant Therapy for COVID-19 to Calm the Stormy Immunothrombosis and Beyond. *Front Pharmacol*. 2021 Jan 19;11:579548.
21. Kow C. S., Hasan S. S. Meta-analysis of effect of statins in patients with COVID-19. *Am. J. Cardiol*. 2020;134:153-155.
22. Daniels LB, Ren J, Kumar K, Bui QM, Zhang J, Zhang X, et al. Relation of prior statin and anti-hypertensive use to severity of disease among patients hospitalized with COVID-19: Findings from the American Heart Association's COVID-19 Cardiovascular Disease Registry. *PLoS One*. 2021 Jul 15;16(7):e0254635
23. Lohia P, Kapur S, Benjaram S, Mir T. Association between antecedent statin use and severe disease outcomes in COVID-19: A retrospective study with propensity score matching. *J Clin Lipidol*. 2021;15:451-459.
24. Bouillon K, Baricault B, Semenzato L, Botton J, Bertrand M, Drouin J, et al. Association of Statins for Primary Prevention of Cardiovascular Diseases With Hospitalization for COVID-19: A Nationwide Matched Population-Based Cohort Study. *J Am Heart Assoc*. 2022 Jun 21;11(12):e023357.
25. Lee HY, Ahn J, Park J, Kyung Kang C, Won SH, Wook Kim D, et al. Korean Society of Hypertension, National Committee for Clinical Management of Emerging Infectious Diseases. Beneficial Effect of Statins in COVID-19-Related Outcomes-Brief Report: A National Population-Based Cohort Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021;41:e175-e182.
26. Barge-Caballero E, Marcos-Rodríguez PJ, Domenech-García N, Bou-Arévalo G, Cid-Fernández J, Iglesias-Reinoso R, et al. Survival impact of previous statin therapy in patients hospitalized with COVID-19. *Med Clin (Barc)*. 2022 May 8:S0025-7753(22)00189-0. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2022.03.015. Epub ahead of print. PMID: 35618499; PMCID: PMC9080058
27. Andrews L, Goldin L, Shen Y, Korwek K, Kleja K, Poland RE, et al. Discontinuation of atorvastatin use in hospital is associated with increased risk of mortality in COVID-19 patients. *J Hosp Med*. 2022 Mar;17(3):169-175.
28. Xu E, Xie Y, Al-Aly Z. Risks and burdens of incident dyslipidemia in long COVID: a cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2023;11:120-128. doi:10.1016/S2213-8587(22)00355-2