

<https://eoi.citefactor.org/10.11235/BUAP.05.19.06>

El origen, las características moleculares, el mecanismo de infección, la evasión de la inmunidad innata y adaptativa frente al SARS-CoV-2, la sintomatología y los marcadores moleculares de la COVID-19

Adriana Gamboa-Pérez ^{1*} , Esmeralda Escobar-Muciño ^{1**} , María Leticia Ramírez-Castillo ² 

¹Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas, Posgrado en Microbiología. Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. ²Departamento de Posgrado, Universidad Politécnica de Puebla, México.

Email autores corresponsales: *adrigamboa88@gmail.com; **esmeeem2014@mail.com

Recibido: 31 julio 2020. **Aceptado:** 06 septiembre 2020

RESUMEN

El brote emergente de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) causado por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) que hasta la fecha se ha propagado por todo el mundo, ha causado preocupación en toda la sociedad, ya que en casos de pacientes críticos se detectó fallo multiorgánico como consecuencia de adquirir una infección por el SARS-CoV-2. Asimismo, a causa de esta emergencia sanitaria, por el alto número de casos y muertes reportadas por COVID-19, los gobiernos de los países donde se ha presentado esta enfermedad, han solicitado a los ciudadanos permanecer en sus hogares para disminuir el contagio. Esta situación ha afectado la vida diaria de la mayoría de los seres humanos por el aislamiento forzoso y, en consecuencia, también a la economía mundial dado que solo las empresas con actividades esenciales han podido continuar en operación. El objetivo de la presente revisión es dar a conocer información del origen del coronavirus emergente, sus características fisiológicas y moleculares, el mecanismo de infección del virus, la relación del SARS-CoV-2 con el receptor ACE2, la respuesta inmune innata y adaptativa del humano y la relación con el síndrome de liberación de citoquinas. También, comparar diversos estudios publicados, con la finalidad de obtener el consenso en la sintomatología presentada en pacientes de gravedad, con la COVID-19, en diversos órganos humanos y la determinación de elementos inmunológicos que se reportan como biomarcadores moleculares para obtener un pronóstico más rápido y eficiente de la respuesta de un paciente con la COVID-19.

Palabras clave: coronavirus, COVID-19, dianas moleculares del coronavirus, marcadores moleculares del coronavirus, mecanismo del receptor ACE2 y SARS-CoV-2.



ABSTRACT

The emerging outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by the virus of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) that to date has spread worldwide, has caused concern throughout society, because there were reported cases of COVID-19 critical patients with multiorgan failure as a consequence of acquiring a SARS-CoV-2 infection. Likewise, a cause of this health emergency, due to the high number of cases and deaths reported by COVID-19, the governments of the countries where this disease has occurred, asked citizens to stay in their homes to reduce the transmission. This situation has affected the daily life of the majority of human beings due to isolation due to the current pandemic and consequently the world economy has been affected, because only companies with essential activities have been able to continue in operation. This review aims to provide information on the origin of the emerging coronavirus, the physiological and molecular characteristics, the mechanism of virus infection, the relationship of SARS-CoV-2 with the ACE2 receptor, the innate and immune response of humans and the relationship with cytokine release syndrome. Also, various published studies were compared to obtain a consensus on the symptoms presented in COVID-19 patients in various human organs and the determination of immunological elements, which are reported as molecular biomarkers to obtain a faster and more efficient prognosis and the response of a COVID-19 patient.

Keywords: ACE2 receptor mechanism, coronavirus, COVID-19, molecular markers for coronavirus, molecular targets for coronavirus and SARS-CoV-2.

INTRODUCCIÓN

En diciembre del 2019 se presentó un brote de neumonía en Wuhan, provincia de Hubei en China, una enfermedad por un virus emergente había surgido [1]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) nombró la enfermedad el 11 de febrero de 2020 como enfermedad por el coronavirus de 2019 (COVID-19) causada por el coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio

agudo grave o SARS-CoV-2, el cual es una nueva especie de coronavirus capaz de infectar a los seres humanos. Desde entonces, esta epidemia se ha extendido por todo el mundo [2].

Posteriormente, el 30 de enero del 2020 la OMS declaró la COVID-19 como una emergencia de salud pública de interés internacional, para el 11 de febrero del 2020 se consideraban 43000



casos confirmados de COVID-19 en 28 países [3], el 11 de marzo de 2020 fue declarada una pandemia mundial que afecta la vida de millones de individuos y a partir del 1 de mayo del 2020 se presentaron 3,321,402 personas confirmadas infectadas y 237,180 muertes a nivel mundial [4].

En comparación con otras pandemias anteriores como la influenza, la COVID-19 tiene una mayor mortalidad y transmisibilidad ya que se ha extendido a 200 países en un período de tres meses [5]. Esta situación exigió el distanciamiento social y el aislamiento, así como el aceleramiento de la producción y revalidación de medicamentos (antivirales), anticuerpos, terapias y vacunas para contrarrestar la pandemia de la COVID-19 [5-7]. Dada la urgencia de desarrollar vacunas, la Coalición Internacional de Autoridades Regulatoras de Medicamentos (ICMRA, *por sus siglas en inglés*) publicó una compilación del Primer Taller Regulatorio Mundial sobre el desarrollo de vacunas contra la COVID-19. Los puntos clave de este taller abarcaron, en primer lugar, la búsqueda de información sobre los casos de pacientes de COVID-19, posteriormente se inició el desarrollo de la vacuna que comprende IV fases. Se sumaron 150 propuestas que han superado la fase preclínica llegando a la fase II, por ejemplo, las vacunas: AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19)

(NCT04324606), AV-COVID-19 (NCT04386252), V-SARS (NCT04380532), BBIBP-CorV (ChiCTR2000032459), CoronaVac (NCT04352608), mRNA-1273 (NCT04283461) y Measles-Mumps-Rubella Vaccine (NCT04357028). Ejemplos de vacunas que han llegado a la fase III son las vacunas AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19) (NCT04324606) [8, 9] y finalmente las vacunas correspondientes a la fase IV como Bacille Calmette-Guerin (NCT04328441) con 5714 sujetos a prueba (Figura 1) [5, 8, 10].

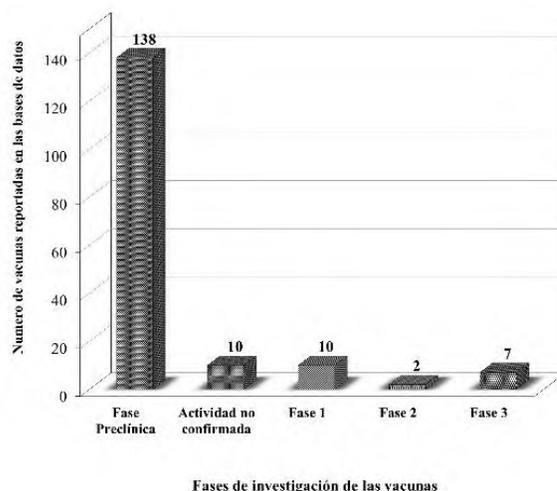


Figura 1. Vacunas propuestas contra el SARS-CoV-2. Datos presentados actualizados hasta el 13 agosto de 2020. Imagen realizada con datos de la OMS [10].

Orígenes del SARS-CoV-2

El nuevo coronavirus se caracteriza por ser un nuevo patógeno humano de origen zoonótico, es decir, es una enfermedad que puede transmitirse entre animales y seres humanos [11].

Los coronavirus (CoV) en general infectan a los seres humanos y animales causando diversas enfermedades. Se clasifican en cuatro géneros: alfa-CoV, beta-CoV, gamma-CoV y delta-CoV. En este siglo se han presentado al menos tres brotes zoonóticos del beta-CoV; por ejemplo, el brote del año 2002–2003 se produjo por un CoV conocido como SARS-CoV (linaje B). El cual surgió del murciélago (género *Rhinolophus*) y se trasladó a la civeta (una especie de mamífero carnívoro de la familia *Viverridae* distribuido ampliamente por la India, el sur de China e Indochina) que después infectaría a humanos. Posteriormente, en 2012 se descubrió que la cepa MERS-CoV perteneciente a un linaje beta-CoV fue causante de un síndrome respiratorio grave en Arabia Saudita cuyo reservorio zoonótico fue el camello [12].

Finalmente, a finales del 2019 se encontró un nuevo coronavirus conocido como el SARS-CoV-2 en pacientes con neumonía grave en Wuhan, China. El virus fue aislado de pacientes y posteriormente secuenciado; su análisis filogenético reveló que pertenece al linaje B y está relacionado estrechamente con un CoV similar al SARS, denominado RaTG13 del murciélago *Rhinolophus affinis* descubierto en una cueva de Yunnan, China, en 2013. Por lo que ambos virus (el SARS-CoV-2 y el RaTG13) comparten alrededor del 96% de

identidad de secuencia nucleotídica, lo que sugiere que el SARS-CoV-2 podría haber surgido de RaTG13 (Figura 2) [12].

La característica principal de las enfermedades zoonóticas de coronavirus como el SARS-CoV y el MERS-CoV es que usualmente pasan a hospederos intermedios como las civetas o los camellos antes de adquirir la capacidad de infectar a humanos. Después de diversos análisis bioinformáticos, el grupo de Zhang *et al.*, informaron que el posible intermediario zoonótico fue el pangolín (mamífero placentario) por que posee un alto porcentaje de identidad al SARS-CoV-2 a nivel de genoma completo. En la elaboración de esta revisión se desarrolló un análisis comparativo de algunas secuencias de diferentes coronavirus. En la figura 2 se observan los porcentajes de similitud entre diferentes tipos de coronavirus.

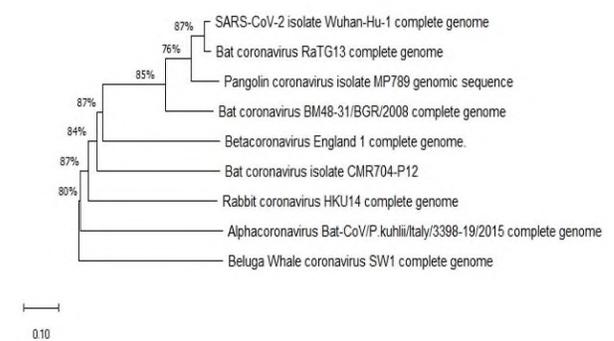


Figura 2. Árbol filogenético demostrando el ancestro más cercano al SARS-CoV-2, elaborado en la presente revisión con la información de las secuencias del NCBI y realizado con MEGA [13 - 19].

Observando que los coronavirus del humano



Wuhan Hu-1 (cepa de referencia, NC_045512) y murciélago Bat coronavirus RaTG13 (MN996532) presentan un porcentaje de similitud del 87%. También, se observó que el virus del pangolín cepa MP789 (MT084071) presentó un porcentaje de similitud de al virus del SARS-CoV-2 Wuhan Hu-1 del 76 % [13]. También, se ha encontrado que el virus del pangolín-CoV es el segundo pariente más cercano de SARS-CoV-2 detrás de RaTG13 y existen cinco aminoácidos clave en el dominio de unión al receptor del ACE2 que son homólogos entre el pangolín-CoV y el SARS-CoV-2 (Figura 3).

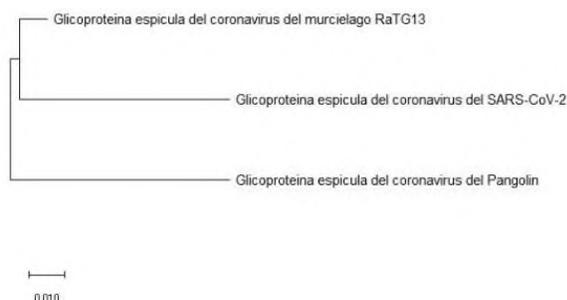


Figura 3. Análisis de las relaciones genéticas entre la proteína espícula del SARS-CoV-2, el coronavirus de murciélago (RaTG13) y el coronavirus de pangolín. Las secuencias de 1269 aminoácidos de longitud fueron tomadas de NCBI cuyos números de acceso fueron los siguientes: pangolín (QIQ54048), SARS-CoV-2 (6WPS_A) y RaTG13 (QHR63300). Imagen realizada en MEGA con base en [11, 13 - 17].

Otra característica importante es que el SARS-CoV-2 contiene un sitio de escisión potencial para las proteasas de furina [13, 16].

Fisiopatología y características del

coronavirus

El SARS-CoV-2 es una partícula esférica envuelta o pleomórfica, con una cápside, (complejo proteico que protege al ácido nucleico viral), contiene ARN monocatenario (sentido positivo); el material genético conjunto con una proteína denominada nucleoproteína (N) forma la nucleocápside. Otra característica de los coronavirus es que poseen un gran genoma (26.4 a 31.7 kb) comparado con todos los virus de ARN conocidos, alcanzan un contenido de G+C que varía del 32% al 43% (Figura 4) [20].

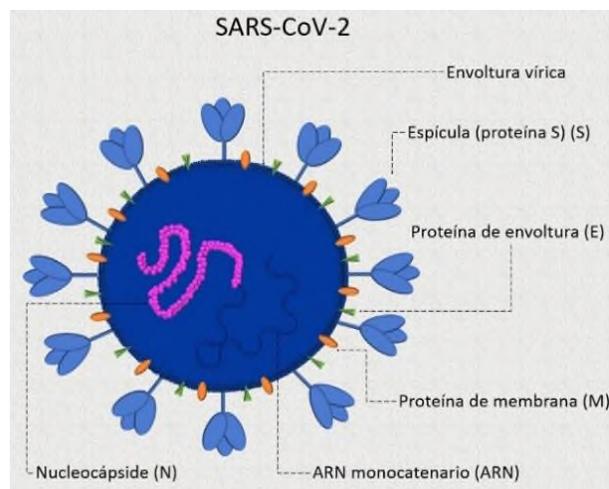


Figura 4. Componentes estructurales del SARS-CoV-2. Imagen realizada y adaptada con base en [21].

Asimismo, se ha encontrado que el genoma del coronavirus posee varios marcos de lectura de abierta (ORF, *por sus siglas en inglés*) o genes conservados conocidos como la región de marco de lectura de las proteínas no estructurales o el ORF1ab, entre las que se encuentran la proteasa de dominio tipo papaína

(NSP3), proteinasa 3CL-pro (NSP5), ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), la helicasa, la endonucleasa y la metil transferasa. También, se encuentra la región de marco de lectura de las proteínas estructurales, está situada río abajo de la secuencia ORF1ab, donde se encuentran la proteína espícula, la proteína de envoltura, la proteína de membrana y la proteína de nucleocápside (Figura 5) [20, 21].

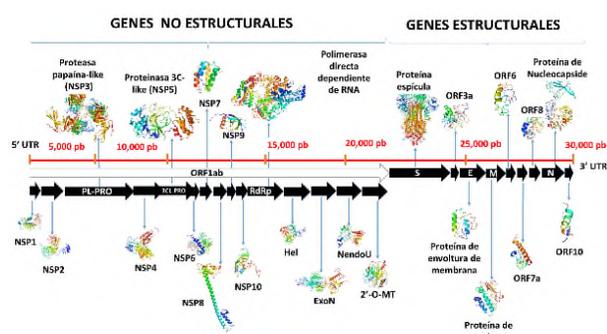


Figura 5. Secuencia completa del coronavirus resaltando los 16 ORF. Imagen obtenida y adaptada de [22].

A continuación, se describen los principales componentes del SARS-CoV-2: (a) ORF para la proteasa con dominio tipo papaína (NSP3) cuyo papel es participar junto con el ORF NSP4 en el ensamblaje de vesículas citoplasmáticas de doble membrana inducidas por el coronavirus, necesarias para la replicación viral. Además, antagoniza la inducción de la respuesta inmune innata del interferón tipo I al bloquear la fosforilación, la dimerización y el posterior transporte nuclear del interferón tipo III del hospedero. También, impide la vía de

señalización por medio del factor de transcripción nuclear (NF-kappa-B) del hospedero [23]. (b) ORF para la proteinasa 3CL-PRO o proteasa principal (Mpro) cuya función es cortar el extremo C-terminal de la poliproteína replicasa en 11 sitios, reconoce sustratos que contienen la secuencia [ILMV]-Q-[SGACN] y puede unirse a la ADP-ribosa-1-fosfato (ADRP). Por otro lado, la Mpro es una enzima clave encargada de la mediación de la replicación viral y la transcripción, por lo que es un objetivo farmacológico atractivo para el diseño de antivirales y vacunas [24]. (c) ORF para la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) también conocida como Nsp12 es utilizada por los (CoV) como una maquinaria de replicación y transcripción de proteínas estructurales que ensamblan el virus en el hospedero. Razón por la que se considera un blanco molecular primario para los inhibidores antivirales con potencial para el tratamiento de infecciones virales por COVID-19 [25]. También se sabe que la enzima Nsp14 es una enzima bifuncional, posee la función de guanina N7-metiltransferasa (MTasa) y la función de 3'-5' exoribonucleasa (ExoN). Mediante experimentación *in vitro* se observó que esta última actividad escinde los nucleótidos en el extremo 3' del ARN, demostrando su papel en la replicación del virus [26]. (d) ORF para la glicoproteína

transmembranal o espícula (S), su función es unir el virus a la membrana celular del hospedero al interactuar con el receptor celular humano ACE2 y propiciar la internalización del virus en la célula del hospedero iniciando la infección e induciendo cambios conformacionales en la glicoproteína S [27].

En la figura 6 se representa la glicoproteína espícula (proteína S, en azul) que sobresale de la envoltura viral; también se observan las 2 subunidades de espícula (S1 y S2), las cuales se pueden dividir en varios subdominios. La subunidad S1 comprende un dominio N-terminal seguido del dominio de unión al receptor (DUR). Mientras que, la subunidad S2 está compuesta principalmente por un péptido de fusión (FP) y dos repeticiones del heptarepetido (HR1 y HR2) que juegan un papel importante en la mediación de la fusión de la membrana viral con la membrana del endosoma en la célula hospedera. La característica más importante de la proteína S es que se encuentra anclada en la envoltura del virus a través de un dominio transmembrana (TMD) y el tallo citoplasmático (CP). Finalmente, se conoce que la proteína S utiliza a la proteasa transmembranal TMPRSS2 humana en células pulmonares humanas para la entrada viral [27].

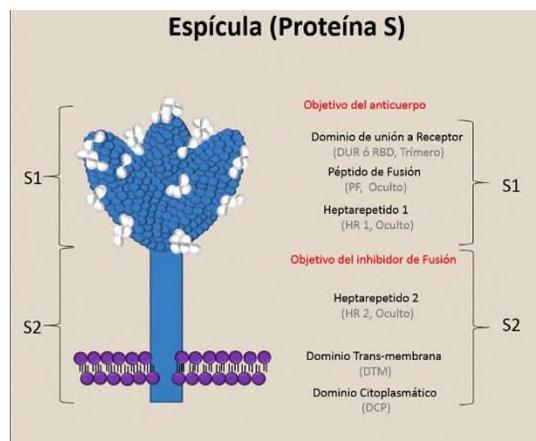


Figura 6. Características estructurales de la proteína receptora espícula (S) del SARS-CoV-2. Imagen realizada con base en [28].

Ciclo de infección del SARS-CoV-2

El ciclo de infección del SARS-CoV-2 se caracteriza porque la glicoproteína S del virus interactúa con el receptor celular ACE2 (la enzima convertidora de angiotensina II), en algunos casos puede ser el receptor CD147, pero en la mayoría es con el receptor ACE2, que es la enzima 2 que convierte la angiotensina, una proteína de la membrana celular que cataliza la conversión de angiotensina I en el nonapéptido angiotensina 1-9 o de angiotensina II, en angiotensina 1-7 [29]. La proteína S se encarga de la fusión de la membrana del virus y de la célula huésped, para lo cual el virus requiere cortar la proteína de la espícula por medio de 2 enzimas conocidas como la TMPRSS2 y las catepsinas, un mecanismo muy parecido al virus del SARS-CoV del 2002; además de estas enzimas, recientemente se descubrió que el SARS-CoV-2 emplea una tercera enzima conocida como furina [30]. De

este modo el virus entra por endocitosis a la célula humana, una vez en el endosoma, ocurre una baja de pH mediada por los lisosomas, que a su vez promueven la fusión de la membrana del endosoma con la envoltura del virus, lo cual libera la nucleocápside del virus al citoplasma. Posteriormente, las proteasas celulares del hospedero degradan la cápside y el genoma del virus queda libre en el citoplasma del hospedero. A continuación, el ARN genómico del virus y la maquinaria celular traducen directamente a poliproteínas que son procesadas y se forma el complejo de replicación y transcripción. Después de eso, se sintetiza la hebra complementaria de ARN pre-genómico (sentido negativo) que servirá como molde para replicar el genoma viral (sentido positivo). Además, el complejo de replicación y transcripción sintetizará una serie de ARN subgenómicos de sentido positivo que a su vez se traducen a proteínas virales. Todo este proceso ocurre en el citoplasma de la célula del hospedero, en donde se sintetizarán las proteínas estructurales que se expresarán en la membrana del retículo endoplasmático para que luego el virus se ensamble. Posteriormente, la partícula viral viajará hasta la superficie por medio del sistema de transporte de vesículas en el que interviene el aparato de Golgi. Finalmente, la partícula viral saldrá de la célula por exocitosis tras una última fase de

maduración del virus y comenzará con un nuevo ciclo celular. La secuencia obtenida por medio de una mutación por inserción de 12 nucleótidos o motivo RRAR en el virus, crea en la proteína de la espícula un punto de corte por la furina (una enzima presente en casi todas las células humanas) lo que explica su alta transmisibilidad y virulencia; la furina hace un primer corte de la espícula de los nuevos virus ya preparados para una nueva invasión a otra célula. En la figura 7 se observa el mecanismo de infección del SARS-CoV-2 [30, 31].

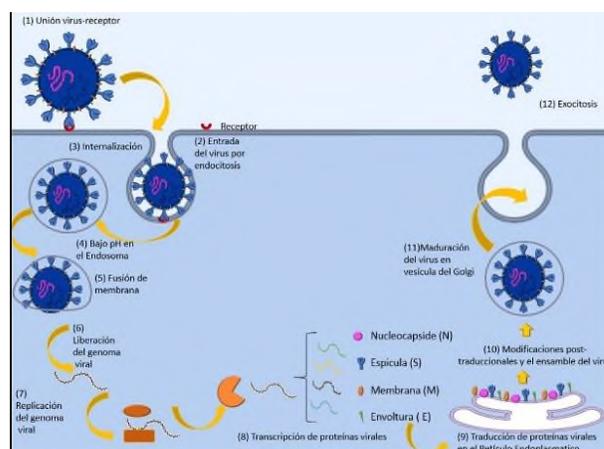


Figura 7. El ciclo de infección del SARS-CoV-2 en células humanas, Imagen realizada y adaptada con base en [32 - 34].

Los receptores del SARS-CoV-2

Después del brote, en poco tiempo se demostró que existen proteínas implicadas en la invasión de células y tejidos en humanos del SARS-CoV-2 como son los receptores CD147 y ACE2 (Figura 8) [35].

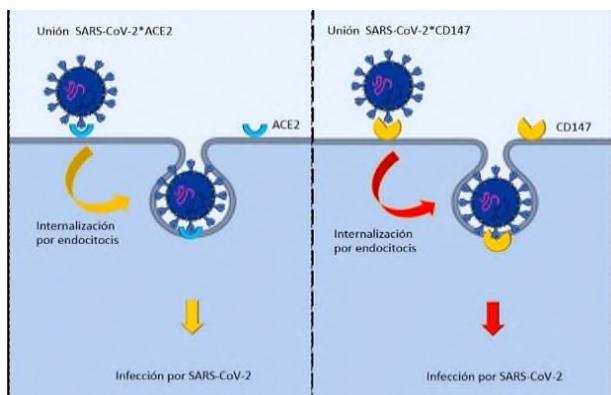


Figura 8. Proceso de infección del SARS-CoV-2 mediante los receptores CD147 (lado derecho) y el receptor ACE2 (lado izquierdo). Imagen realizada y adaptada con base en [38].

CD147

El receptor CD147 se encuentra en los seres humanos, es conocido como el inductor de la metaloproteinasa de la matriz extracelular (EMMPRIN, *por sus siglas en inglés*) [36]. Este receptor es capaz de unirse a la proteína espícula (S) del virus con una constante de afinidad de 1.85×10^{-7} M, mediando así la invasión viral y la diseminación del virus en otras células [35, 37, 38]. Asimismo, mediante ensayos de co-inmunoprecipitación y ELISA se confirmó la unión de las dos proteínas. Finalmente, usando microscopia inmunoelectrónica se observó la localización de la proteína receptora CD147 y la proteína S en células Vero E6 infectadas con el SARS-CoV-2 [35].

Por otro lado, se ha encontrado el virus en células de pacientes con asma, así como una alta concentración de glucosa en experimentos

in vitro, observando un aumento de la expresión del receptor CD147. Lo que sugiere posibles correlaciones en los niveles de asma, diabetes mellitus y el receptor CD147 en complicaciones clínicas debido a la infección por SARS-CoV-2 [35].

ACE2

El receptor ACE2 es conocido como la enzima convertidora de angiotensina 2 (una enzima homóloga a ACE), que se encuentra en el sistema nervioso central (SNC) y en varios órganos como el corazón, el pulmón, el riñón, el intestino, los testículos, entre otros. Asimismo, se ha descrito que se expresa de forma distinta en células de un mismo órgano. En los pulmones, las células epiteliales alveolares tienen niveles más altos de expresión del ACE2 que en las células epiteliales bronquiales, intestino delgado y riñón. Se sabe que en el hígado no se expresa el receptor ACE2 en los hepatocitos, las células de Kupffer o en las células endoteliales, sino que se detecta en los colangiocitos y en el colon es poco detectable [38 - 42].

De igual importancia es que el receptor ACE2 regula el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), red compleja que regula la presión arterial, la homeostasis de los electrolitos y los fluidos, así como la función de varios órganos [39, 41, 42].

Para entender las implicaciones de las

alteraciones causadas por SARS-CoV-2 en el sistema RAAS, primero se debe comprender como funciona. En este sistema hormonal RAAS que regula la presión sanguínea, cuando hay disminución en el volumen de sangre o los niveles de sodio, se produce una disminución de la presión arterial. Como respuesta a esta condición, el riñón descarga al torrente sanguíneo una enzima llamada renina que cataliza la reacción enzimática para convertir el angiotensinógeno secretado por el hígado a angiotensina I. La cual no posee efecto fisiológico aparente, pero al pasar por el pulmón, la enzima ACE la transforma en angiotensina II, que posteriormente se une a un receptor ATR1 (distribuido en el cerebro y riñones). Siendo un potente vasoconstrictor regulado por la presencia de sodio, provoca sed en el individuo, estimulando en las glándulas suprarrenales la producción de aldosterona, la cual genera retención de agua, incremento de sal en el volumen y presión sanguínea. Sin embargo, cuando la angiotensina II se une al receptor de angiotensina tipo II (ATR2) el efecto vasoconstrictor de la angiotensina II se atenúa [43].

Por otra parte, cuando el incremento excesivo de la presión sanguínea se vuelve peligroso, existe un mecanismo regulador negativo que actúa sobre la angiotensina I, la enzima transformadora de la angiotensina II (ACE2), la

cual se une al receptor Mas-R, cuyos efectos en el organismo son la reducción de la presión arterial, la reducción del riesgo cardiovascular y el alentamiento de la progresión de la insuficiencia renal [39, 42].

Respecto a las alteraciones en el sistema RAAS causadas por el virus, el SARS-CoV-2 se une al receptor ACE2, que se encuentra unido a la membrana celular y la invade por endocitosis, reduciendo así los niveles de ACE2 unida a la membrana. La invasión celular depende de la expresión de ACE2 y también de la presencia de la proteasa TMPRSS2, que es capaz de procesar la espícula viral. Por lo tanto, la disminución de ACE2 resulta en una acumulación de angiotensina II, que es responsable de la sobre activación de RAAS, lo que lleva a un aumento de la inflamación, fibrosis y vasoconstricción en pacientes COVID-19. En condiciones fisiológicas, ACE2 está vinculado al receptor AT1R, formando un complejo que evita la degradación de ACE2 por internalización de lisosomas. Existe una discusión acerca de si los medicamentos bloqueadores del receptor de angiotensina (ARB, *por sus siglas en inglés*), pueden aumentar la disponibilidad de ACE2, lo que haría al paciente más susceptible a la infección por SARS-CoV-2. Otros autores plantean que los ARB pueden ser incluso un tratamiento potencial para la infección por COVID-19; ya

que el virus se uniría al ACE2 soluble, en vez del ACE2 de membrana, lo que evitaría la internalización del virus en las células y evitaría el proceso de infección. Los estudios clínicos hasta ahora sugieren falta de correlación entre el uso de ARB y la mortalidad de pacientes con COVID-19. Por lo que hasta la fecha, la Sociedad Cardiovascular Alemana, según Gabarre *et al.*, ha sugerido no agregar o detener el uso de inhibidores de RASS (Figura 9) [38, 44].

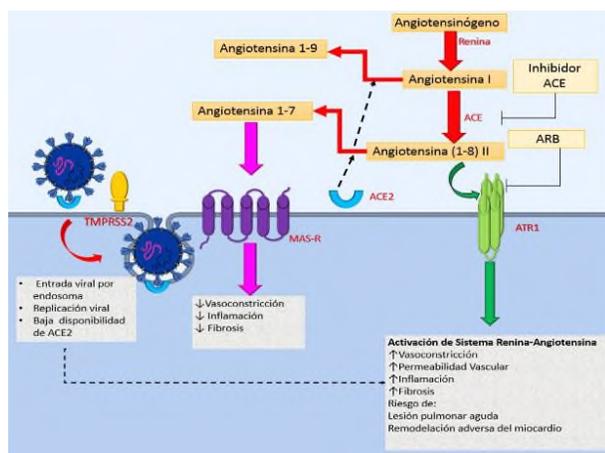


Figura 9. Respuesta del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) al SARS-CoV-2. Imagen realizada con base en [33, 38, 44, 45].

Mecanismos de evasión del sistema inmunitario de los coronavirus

El sistema inmunitario innato reconoce los agentes patógenos por diferentes tipos de sensores, particularmente hay un grupo que reconoce el RNA viral, esto puede ocurrir cuando este RNA se encuentra en el citosol o en el endosoma; estos sensores son conocidos como receptores tipo Toll (TLR, *por sus siglas*

en inglés), los más conocidos TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 y RLR, RIG-I, MDA5, que modulan la activación de los factores de transcripción nucleares (NF-κB) así como del interferón 3 y 7 (IRF3 y IRF7) activando transcripcionalmente la producción de citoquinas proinflamatorias, por ejemplo interleucinas (IL), como IL-6, factor tumoral de necrosis alfa (TNF-α) y los interferones (IFN) del tipo I y III, respectivamente. De este modo todos estos receptores, factores y citoquinas juegan un papel importante para la protección de una infección por coronavirus [46].

Por otro lado, se sabe que los IFN se secretan de forma autocrina (sobre la propia célula) y paracrina (sobre una célula vecina) para inducir la expresión de genes, estimulados por el interferón (ISG) por medio de la vía de señalización cinasa de Janus (JAK) y el transductor de señales y activador de la transcripción (STAT), JAK/STAT. Mientras que los IFN del tipo I y III inducen un conjunto similar de ISG, además de la sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias. Muchas proteínas virales codificadas por coronavirus como el SARS-CoV y MERS-CoV antagonizan varios pasos de esta respuesta antiviral; en el caso de SARS-CoV-2 el mecanismo de evasión se da mediante la disminución de la expresión de IFN-I y IFN-III, además de limitar la respuesta

de ISG lo que puede tener un grandes implicaciones en la patogenicidad de este coronavirus durante la COVID-19 [46].

Modulación de la respuesta antiviral innata por el coronavirus

Los IFN tipo I y tipo III inducen cientos de efectores antivirales, o ISG, para lograr un estado intrínseco celular de resistencia viral. A pesar de esta potente estrategia antiviral del hospedero, los coronavirus siguen siendo altamente patogénicos, debido a los diversos mecanismos virales para evadir y suprimir la respuesta del IFN. Los coronavirus pueden interferir con cualquiera de los siguientes procesos en la inmunidad antiviral innata: (1) detección innata, (2) producción de IFN, (3) señalización de IFN y (4) función efectora ISG (Figura 10) [46].

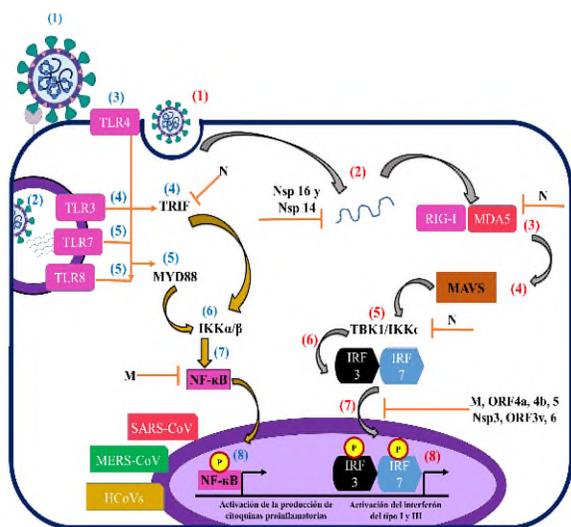


Figura 10. Reconocimiento innato, señalización del interferón y evasión inmune por especies de coronavirus. Imagen realizada y adaptada con base en [46]. Los números entre paréntesis indican el orden de los acontecimientos.

Tormenta de citoquinas asociada a pacientes COVID-19

Según se ha observado, la inflamación es una parte esencial de una respuesta inmune efectiva. Cabe señalar que es difícil eliminar las infecciones con éxito sin inflamación. La respuesta inflamatoria comienza con un reconocimiento inicial de los patógenos. El SARS-CoV-2 como patógeno induce respuestas de citoquinas excesivas y prolongadas en algunas personas infectadas, conocidas como la tormenta de citoquinas [47]. El término "Síndrome de liberación de citoquinas" (SLC) se refiere a cuando en el sistema inmune algo está mal y se produce una respuesta inflamatoria. El concepto general de liberación excesiva o incontrolada de citoquinas proinflamatorias es bien conocido y se refiere a una tormenta de citoquinas que va acompañada de varios eventos moleculares y celulares. Frecuentemente se relaciona con una amplia variedad de enfermedades infecciosas y no infecciosas [48].

Las citoquinas son un grupo diverso de pequeñas proteínas que son secretadas por células con el propósito de señalización y comunicación intercelular, poseen actividad autocrina, paracrina y/o endocrina; pueden provocar una variedad de respuestas, dependiendo de la citoquina y la célula objetivo. Entre las muchas funciones de las



citoquinas están el control de las células, la proliferación, la diferenciación, la regulación de la angiogénesis y la respuesta inmune e inflamatoria [48].

En relación con las enfermedades causadas por el coronavirus, se sabe que las células epiteliales alveolares expresan el receptor ACE2 y al ser infectadas por el SARS-CoV-2 se dispara una respuesta retrasada o suprimida de los interferones tipo I y II. Todo este proceso inflamatorio puede complicarse dando lugar al SLC observado de forma frecuente en pacientes graves de COVID-19 durante la etapa de la infección. Después, en condiciones hiperinflamatorias se registra un aumento de la afluencia de neutrófilos activados y monocitos/macrófagos inflamatorios. Posteriormente, las células Th1/Th7 son inducidas para la producción de anticuerpos específicos inducibles (Figura 11). Las principales citoquinas implicadas en la patogénesis del SLC incluyen la IL-6 (interleucina-6), la IL-10 (interleucina-10), el IFN- γ (interferón γ), el MCP-1 (la proteína quimio atrayente de monocitos 1) y el GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos). Otros marcadores como el IL2, el IL7, el IP10 (proteína 10 inducida por el interferón gamma), el MIP1A (proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa) y el TNF α (el factor de necrosis tumoral α) también han

sido detectados en elevadas concentraciones en sangre de pacientes COVID-19 [49 - 51].

Sin embargo, la tormenta de citoquinas causa la disfunción de múltiples órganos, lo que conduce al deterioro fisiológico y la muerte. Algunos estudios han mostrado que la respuesta inmune hiperactivada o “tormenta de citoquinas” se caracteriza por la producción elevada de la IL-6, el IL-8 (interleucina-8), el IP-10, el MCP-1 y el G-CSF causando daño en el SNC [52].

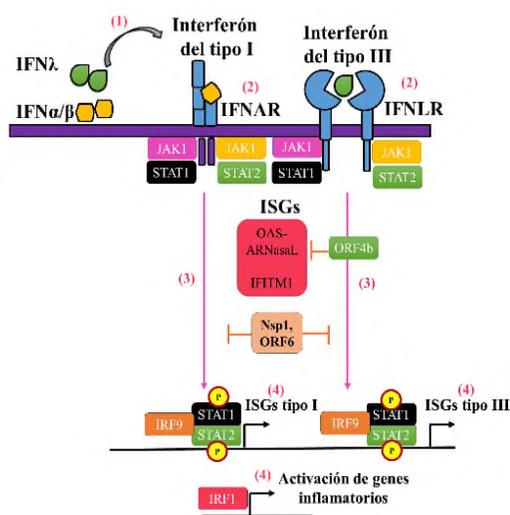


Figura 11. Proceso de activación de la tormenta de citoquinas después de la infección del SARS-CoV-2. Imagen realizada con base en [52].

Con lo anteriormente expuesto se podría inferir que la tormenta de citoquinas también podría estar implicada en el desarrollo de la enfermedad por SARS-CoV-2. Por lo que el control oportuno de la tormenta de citoquinas en su etapa inicial por medio de terapias con inmunomoduladores y antagonistas de citoquinas ayudaría a la reducción de la

infiltración del virus a las células inflamatorias pulmonares [47].

La enfermedad de la COVID-19 y sus implicaciones en el organismo

Los médicos de todo el mundo están obteniendo informes en tiempo real sobre el caso clínico de pacientes afectados por la COVID-19. La OMS ha contribuido con protocolos sirviendo como banco de datos de cada uno de los casos [53].

Sistema cardiovascular

Se sabe que en los seres humanos la expresión del ACE2 aumenta en pacientes con insuficiencia cardíaca especialmente en el área de los ventrículos. Razón por la cual se realizaron experimentos *in vivo* para determinar si la ausencia del ACE2 tenía efectos graves en el sistema cardiovascular por medio de una deleción del gen ACE2 en ratones mutantes. El resultado fue una morfología y funciones cardíacas normales, pero al someterlos a sobrecarga de presión mantenida, los ratones mutantes desarrollaron hipertrofia en las cavidades cardíacas y un aumento en la incidencia de la muerte súbita. Lo contrario sucedía cuando se expresaba el gen ACE2, en este caso se observó presencia ocasional de enfermedad cardíaca y sin incidencia de muerte súbita resaltando el papel biológico del gen en enfermedades cardíacas en esta experimentación *in vivo* [42].

Hasta ahora se sabe que el SARS-CoV-2 ingresa a las células al unirse a los receptores del ACE2 en la superficie celular, esto incluye las células que recubren los vasos sanguíneos (Figura 12).

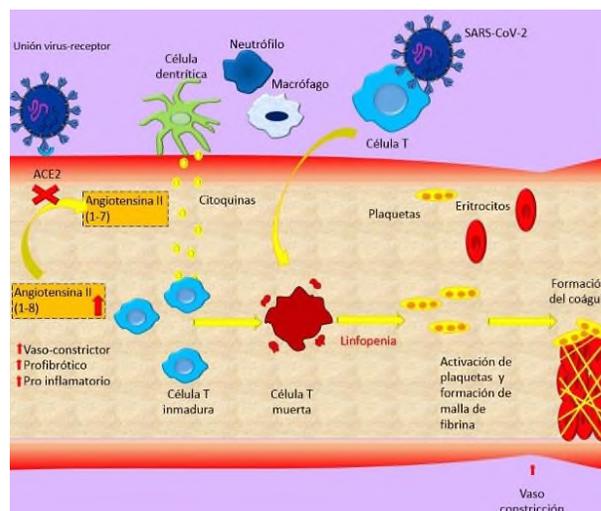


Figura 12. Invasión de un vaso sanguíneo por el SARS-CoV-2 causando la formación de un coágulo. Imagen realizada y adaptada con base en [38, 54].

Los efectos de la infección pueden incentivar la aparición de coágulos sanguíneos, inflamación y ataques cardíacos [54]. La formación de coágulos en pacientes con COVID-19 es uno de los principales problemas a tratar, ya que al generarse coagulopatías, estas derivan en otro tipo de problemas como obstrucciones, que pueden causar desde piernas hinchadas o isquemia en los dedos de los pies hasta la muerte súbita del paciente, ya sea por la obstrucción del coágulo o mala regulación del sistema RAAS [55, 56]. Además, se ha observado que los anticoagulantes no previenen de manera confiable la coagulación en personas

con COVID-19, a causa de esto personas jóvenes mueren por accidentes cerebrovasculares causados por bloqueos a causa de trombos en los vasos sanguíneos cerebrales [56, 57].

Pulmones y tracto respiratorio

El método más usado para la detección de los daños ocasionados en todo el sistema respiratorio causados por la COVID-19 es la Tomografía Computarizada de tórax (TC); se usa para evaluar la gravedad de la afectación pulmonar causada por COVID-19. Su propósito es determinar los cambios pulmonares desde el inicio del diagnóstico de la infección hasta la recuperación del paciente [47, 58, 59].

Para el seguimiento de esta enfermedad, dos equipos de investigación evaluaron pacientes COVID-19 por medio de la TC, monitorearon 21 y 21 pacientes, respectivamente de 2-4 días [47, 58]. Ambos equipos obtuvieron resultados similares, concluyendo mediante el análisis de imágenes que la afectación máxima pulmonar se alcanzó aproximadamente a los 10 días, definiendo 4 etapas de la enfermedad pulmonar que a continuación se desglosan.

Etapa 1: “*temprana*” (0-4 días): Las imágenes de TC del 75% de los pacientes mostraron un patrón con opacidades similares a “*vidrio esmerilado*” (Figura 13 a) [58]. Las cuales se definieron como áreas brumosas con densidad ligeramente aumentada en los pulmones, sin

oscurecimiento de los márgenes bronquiales y vasculares; que pueden ser causadas por el desplazamiento parcial del aire debido al llenado parcial de los espacios aéreos o el engrosamiento intersticial [47].

Etapa 2 “*progresiva*” (5-8 días): Las imágenes de TC del 53% de los pacientes mostraron un aumento del “*patrón de empedrado*” (Figura 13 b) [58]. Se caracteriza por imágenes parecidas a “*tabiques*” causadas por secciones interlobulares engrosadas, y líneas intralobulares, con superposición sobre un fondo opaco como “*vidrio esmerilado*” que se asemeja a adoquines irregulares. La formación de este patrón podría asociarse con la infiltración intersticial de los linfocitos que causa engrosamiento septal interlobular. Basado en el conocimiento patológico previo del SARS-CoV de 2002, este signo indica un edema alveolar y lesión pulmonar aguda. Por lo que el “*patrón de empedrado*” puede ser una señal de COVID-19 en etapa progresiva o llegando a la etapa crítica [47].

Etapa 3 “*crítica*” (9-13 días): Las imágenes de TC del 91% de los pacientes mostraron “*consolidación*” (Figura 13 c) [47]. Se describe como el remplazo de aire en los alveolos por fluidos, aumentando la densidad del parénquima pulmonar. Se ha observado que las opacidades similares a “*vidrio esmerilado*” podrían progresar o coexistir con la etapa de

consolidación. En esta etapa podemos ver el “patrón de empedrado” bien definido en las imágenes de TC. Los pacientes con síntomas más severos de la COVID-19 han mostrado “cambios pleurales”, incluido el engrosamiento y el derrame pleural. Según la experiencia de la infección por el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y los hallazgos recientes, la presencia de derrame pleural puede sugerir un mal pronóstico en COVID-19. En esta etapa pueden ocurrir “cambios en las vías respiratorias”, que incluyen bronquiectasias (dilatación anormal de los bronquios y/o daño irreversible del árbol bronquial) y engrosamiento de la pared bronquial, así como la proliferación de tejido fibroso. Li *et al.*, investigaron a 83 pacientes con la COVID-19, encontraron que la incidencia del engrosamiento de la pared bronquial esta correlacionada con la agudeza de la enfermedad ya que se presenta en mayor incidencia en paciente graves, en comparación con pacientes con síntomas más leves de COVID-19 [58].

Etapa 4 “decrecimiento” (≥ 14 días): Las imágenes de TC del 75% de los pacientes mostrando una disminución gradual de la “consolidación” y del “patrón de empedrado”. Además, la mayor parte de los pacientes ya no presentaban dificultad respiratoria cuando se recuperaban de la COVID-19 (Figura 13 d) [47,

58].

En la figura 13 se observa a modo de resumen la Tomografía Computarizada (TC) de tórax correspondientes a las 4 etapas de la enfermedad pulmonar.

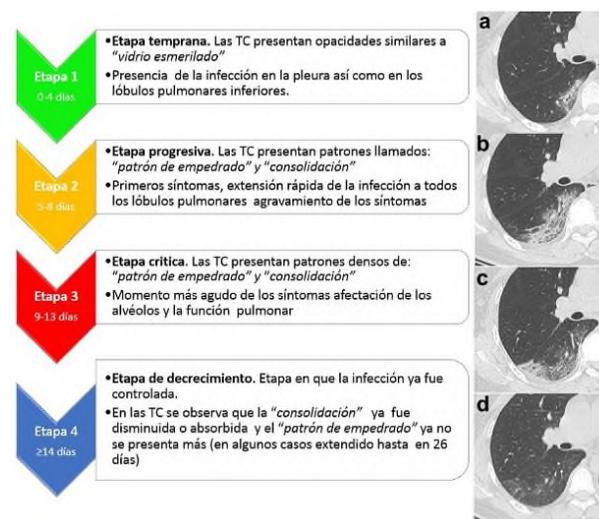


Figura 13. Representación de las 4 etapas de la enfermedad pulmonar y la correspondiente Tomografía Computarizada (TC) de tórax. Imagen realizada y adaptada con base en [47, 58].

Cabe señalar que en los sistemas médicos de muchas comunidades no hay tomógrafos para evaluar la gravedad pulmonar con la que llega el paciente. No obstante, se hace uso de otro método de diagnóstico del daño pulmonar en el paciente conocido como el ultrasonido pulmonar (LUS, *por sus siglas en inglés*). Este método se usa comúnmente en el departamento de emergencias al lado de la cama del paciente para el diagnóstico temprano de neumonía. Es una técnica altamente sensible y específica considerada como una alternativa a la radiografía de tórax o la TC [60]. El método LUS tiene un papel cada vez más importante en

la evaluación y monitorización de pacientes en ventilación ya que permite distinguir cuatro patrones de pérdida progresiva de aireación [61].

Tracto gastrointestinal

Entre la sintomatología que presentan los pacientes con COVID-19, pueden experimentar diarrea e inflamación intestinal. También, se han reportado estudios de meta-análisis informando la frecuencia de síntomas gastrointestinales (GI) en 2800 pacientes experimentales, cuyos síntomas fueron: diarrea (7.5%), náuseas (4.5%), anorexia (4.4%), vómitos (1.3%), dolor abdominal (0.5%) y eructos/reflujo (0.3%); siendo la primera manifestación de la COVID-19 en una persona enferma [62].

Asimismo, se conoce que el ACE2 es esencial para la expresión de transportadores de aminoácidos neutros en el intestino, modulando la inmunidad innata e influyendo en la composición de la microbiota intestinal [39]. Además, el receptor ACE2 se expresa altamente en los enterocitos diferenciados y en los organoides del intestino delgado humano (hSIO). Lo cual se ha demostrado mediante experimentación *in vivo*, infectando enterocitos con SARS-CoV y SARS-CoV-2, observando mediante microscopía confocal y electrónica la presencia del virus y el daño en los enterocitos, en células de íleon y duodenales. Por otro lado,

el análisis de la cuantificación de los niveles de ARNm del virus fue monitoreado en células VeroE6 por medio de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR, *por sus siglas en inglés*) de 2 a 60 horas después de la infección con SARS-CoV-2 y SARS-CoV, observándose el mismo comportamiento de ambos virus revelando una fuerte inducción de la respuesta viral y los genes estimulados por el interferón (ISG) [63].

Una buena microbiota intestinal puede mejorar la respuesta inmune contra COVID-19

Por su parte, Viguera-Mínguez sugiere que algunos individuos son capaces de afrontar la infección del SARS-CoV-2 con menos síntomas debido a la inmunidad adquirida por el microbioma intestinal [64].

En lo que respecta a la microbiota intestinal, se sabe que está compuesta por alrededor de 100 billones de microorganismos, que cubren toda la superficie de la mucosa del hospedero, pero la mayoría reside en el tracto gastrointestinal [65, 66]. Esta se adquiere al nacer, cambia con la edad, dieta, lugar y el uso de antibióticos y se divide en tres enterotipos: Bacteroides, Prevotella y Firmicutes [66]. Cabe destacar que la microbiota proporciona beneficios esenciales para la salud de su hospedero fungiendo como una barrera metabólica, de absorción, inmunológica, de síntesis de vitaminas;

igualmente regula la homeostasis inmune innata y adaptativa que a su vez puede afectar el desarrollo de enfermedades autoinmunes intestinales y sistémicas [67 - 69]. Conjuntamente con los factores genéticos, los factores ambientales juegan un papel importante en la configuración de la microbiota. Estos factores deben tratarse con precaución ya que las prácticas inadecuadas como el uso excesivo de antibióticos pueden aumentar el riesgo de enfermedad autoinmune por la inmunomodulación mediada por microbiota [69]. Con referencia a lo anterior, un análisis de secuencia metagenómica ha revelado alteraciones en la microbiota intestinal en pacientes que padecen enfermedad inflamatoria intestinal, asma y obesidad. En efecto, las perturbaciones en la composición de la microbiota dan como resultado una respuesta inmune deficiente y una tolerancia alterada a los microorganismos comensales. Debido a la composición alterada de la microbiota, que está asociada a algunas enfermedades inflamatorias, se han utilizado varias estrategias como la administración de probióticos, la dieta y el uso de antibióticos, para prevenir o mejorar enfermedades inflamatorias crónicas [65]. Por esa razón, comprender cómo la microbiota modula la susceptibilidad a estas enfermedades es un paso importante hacia una mejor prevención u opciones de tratamiento para tales

enfermedades [70, 71].

Se ha demostrado que los metabolitos derivados de microorganismos, como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), pueden modular las respuestas inflamatorias del huésped, así como promover la tolerancia y la resistencia a los virus patógenos. Por ejemplo, un estudio reciente mostró que la administración de butirato de AGCC redujo la inflamación pulmonar persistente en un modelo animal de neumonía. Estas observaciones nos llevan a considerar que modular la composición de la microbiota intestinal podría, a su vez, regular la respuesta ante la COVID-19 y, por lo tanto, representar una nueva opción terapéutica potencialmente atractiva en esta población de pacientes [72]. También, se sabe que los metabolitos microbianos regulan el sistema inmunológico del huésped. Ejemplo de ello son la desaminotirosina producidos por los géneros *Clostridium* que puede mejorar la función de las células T CD8⁺ que responden a ciertos virus y la señalización del interferón tipo I (IFN) en los macrófagos, aumentando la protección contra la infección por virus [73].

Se sabe que el receptor ACE2 regula la microbiota intestinal controlando indirectamente la secreción de péptidos antimicrobianos. Además, la microbiota intestinal mejora la inmunidad antiviral aumentando el número y la función de las

células inmunes, disminuyendo la inmunopatología y estimulando la producción de interferón. A su vez, se sabe que los virus respiratorios influyen en la composición microbiana en el pulmón y el intestino. Por lo tanto, el análisis de los cambios en la microbiota durante la infección por SARS-CoV-2 puede ayudar a predecir los resultados del paciente y permitir el desarrollo de terapias basadas en la microbiota [73].

Por otro lado, otras investigaciones han demostrado que la transferencia de microbioma intestinal (también conocido como trasplante de la microbiota fecal o FMT), puede ser administrada a pacientes que sufren de enfermedades contraídas por virus, manifestando resultados satisfactorios después de administrar la FMT incluyendo aquellos pacientes con infecciones virales graves. Aunque los resultados inmunológicos del hospedero posteriores a la terapia con FMT no se han dilucidado por completo, varios estudios han mostrado reducciones de IL-6 y otras citoquinas proinflamatorias, como el TNF-alfa. Finalmente, la evidencia disponible parece inspirar un optimismo cauteloso en la investigación de la relación de la terapia FMT en pacientes con COVID-19 como un medio para modular las respuestas disfuncionales del sistema inmunológico. Recomendando realizar estudios clínicos debidamente controlados para

establecer la seguridad, la tolerabilidad y un esquema de dosis eficaz en pacientes. Aunque esta terapia no es muy convencional debido a que existen preocupaciones de seguridad asociadas con la transferencia de una carga antigénica extraña a través del tracto intestinal a pacientes que luchan contra una infección, la terapia FMT se ha recomendado a numerosas indicaciones de enfermedades intestinales y extraintestinales, incluidos los pacientes inmunodeprimidos [72].

En este momento aún se discute el rol que podría jugar la microbiota intestinal durante el proceso de infección por el SARS-CoV-2 en pacientes con COVID-19. Se ha descrito un “eje intestino-pulmón” donde la composición de la microbiota del intestino puede influir en procesos de enfermedad pulmonar y viceversa, a causa de los virus respiratorios provocando perturbaciones en la microbiota intestinal. También, se ha descrito que la biodiversidad intestinal se ve afectada por factores como la dieta y edad, y en últimos estudios los pacientes con COVID-19 también han sufrido alteraciones al respecto. Por lo que mejorar la calidad de la microbiota intestinal podría favorecer a la inmunidad del paciente para que pueda afrontar la infección por SARS-CoV-2 y minimizar el impacto de la enfermedad en el paciente [74].

Hígado

De igual manera se ha informado que del 2-11% de los pacientes con la COVID-19 han tenido comorbilidades relacionadas con el hígado (por ejemplo, hígado graso) [75]. Observando como sintomatología principal el daño hepático, que podría ser causado directamente por la infección viral de las células hepáticas, ya que los colangiocitos presentan receptores de ACE2. Aún no hay estudios concluyentes al respecto, pero también es posible que la insuficiencia hepática presentada por los pacientes COVID-19 se deba a una hepatotoxicidad por fármacos, lo que podría explicar por qué no todos los pacientes la presentan [40]. Adicionalmente, la respuesta inmune hiperaumentada conocida como la “tormenta de citoquinas” e hipoxia asociada a neumonía, también podría contribuir a una lesión hepática o incluso desarrollar insuficiencia hepática en pacientes COVID-19 que están gravemente enfermos. Por otro lado, el daño hepático en casos leves de pacientes COVID-19 es a menudo transitorio y es posible volver a la normalidad sin ningún tratamiento en especial. Sin embargo, cuando ocurre daño hepático severo, se requiere del uso de medicamentos protectores del hígado generalmente en pacientes que se encuentran en unidad de cuidado intensivo (UCI) [75].

Riñones

En el mismo orden de ideas, se ha informado que la lesión renal aguda (LRA) se presenta en aproximadamente el 25% de los pacientes con infección por SARS-CoV-2. Por un lado, la fisiopatología de la LRA asociada a la COVID-19 se puede relacionar con mecanismos específicos como la lesión celular, el desequilibrio del sistema de renina-angiotensina-aldosterona, la desregulación de las citoquinas proinflamatorias y los eventos trombóticos. Por otro lado, los mecanismos no específicos incluyen alteraciones hemodinámicas, insuficiencia cardíaca derecha y altos niveles de presión teleespiratoria positiva o presión inspiratoria máxima e hipovolemia (disminución del volumen total de sangre que circula por el cuerpo) [38].

Adicionalmente, otros padecimientos que puede haber son: la proteinuria (presencia de proteínas en orina), la hematuria (presencia de sangre en la orina), la lesión viral a los podocitos (célula renal responsable de la ultrafiltración del plasma en el riñón), la endocitosis de la nefrina (expresada en células de riñón como los podocitos) y el posterior aumento de la permeabilidad de la membrana basal glomerular en pacientes con proteinuria [76 - 80].

En ese mismo sentido, otros padecimientos que fueron observados en un estudio de 175

pacientes infectados, fue la hipocalemia (deficiencia aguda de potasio) con aumento de la kaliuresis (presencia de exceso de potasio en la orina), como marcador de RAAS. La hipocalemia fue asociada a las formas más graves del SARSCoV-2, ya que el 93% de los pacientes hospitalizados con enfermedad severa presentaban el padecimiento [77].

En estudios más recientes, usando ARN de tejido humano se demostró que la expresión renal del ACE2 era casi 100 veces mayor que en tejido pulmonar y también se detectó la proteasa transmembranal TMPRSS2 en el riñón y en los túbulos proximales de la nefrona [38]. Por su parte, Wang *et al.*, encontraron que el SARS-CoV-2 invade células del hospedero a través de una nueva ruta, la proteína espícula puede unirse a CD147, que es una glicoproteína transmembranal expresada de forma ubicua; se expresa altamente en células del epitelio tubular proximal y en células inflamatorias encontrándose relación con diversas enfermedades renales [79].

Testículos

De igual forma, se ha encontrado que los pacientes COVID-19 presentan dolor abdominal y testicular [81]. También se sabe que el ACE2 se expresa abundantemente en los testículos, incluidas las células espermatogonias, células de Leydig y células de Sertoli. Se compararon las hormonas

relacionadas con el sexo de hombres en edad reproductiva, 81 hombres con infección por el SARS-CoV-2 y 100 hombres sanos de la misma edad. El estudio mostró que, en los hombres infectados, la hormona luteinizante (LH) aumentó significativamente en suero, pero con esto se observó un desbalance en la proporción de los niveles de Testosterona (T) respecto a LH, igualmente se alteró la proporción de la hormona folículo estimulante (FSH) que se redujo drásticamente en los hombres enfermos de COVID-19. En el estudio se realizó el análisis de regresión lineal múltiple dando como resultado que los niveles de la proteína C-reactiva (CRP) están relacionados con los niveles de LH: T [82].

Cierta evidencia sugiere que la infección por COVID-19 también tiene implicaciones para el tracto urogenital considerándose dentro de los órganos a tratar por COVID-19. Un estudio en muestras de autopsia testicular obtenidas de seis pacientes muertos por SARS-CoV-2 demostró que este virus puede inducir la inflamación de uno de los testículos o ambos, padecimiento conocido como orquitis [83]. En otro estudio independiente se observaron molestias escrotales relacionadas con la orquitis viral en el momento de la confirmación de la COVID-19 [84].

De igual importancia es que los resultados patológicos mostraron apoptosis de células

espermatogénicas, destrucción de células germinales, pocos o ningún espermatozoide en el epitelio seminífero, membrana basal engrosada e infiltración de leucocitos. En consecuencia, los testículos podrían verse afectados por el SARS-CoV-2, por lo que es recomendable que niños y jóvenes que se hayan recuperado de COVID-19 se hagan una revisión de seguimiento de fertilidad [83].

Sistema Nervioso Central (SNC)

A continuación, se referencian las investigaciones relacionadas con el SNC. Un estudio previo dio a conocer la relación del SARS-CoV y la infección cerebral. La cual puede provocar secuelas neurológicas a largo plazo, pero se sabe poco sobre la patogénesis del SARS-CoV en este órgano. Siendo el cerebro y las neuronas un objetivo altamente susceptible para el SARS-CoV [85]. Por otro lado, la evidencia preliminar en la literatura ya ha destacado que la familia de los coronavirus es causante de un neurotropismo potencial, que puede inducir trastornos neurológicos como la polineuropatía (pérdida sensitiva, debilidad muscular o una combinación de ambas), encefalopatía (inflamación del encéfalo que aparece cuando un virus infecta directamente el encéfalo), lesiones desmielinizantes y accidente cerebrovascular isquémico [86, 87]. También se ha informado que existen déficits neurológicos en pacientes con y sin

complicaciones de COVID-19 cuyos síntomas tempranos son la pérdida del olfato, ataxia y convulsiones, las cuales deben evaluarse más a fondo para determinar la participación del SARS-CoV-2 en el SNC [41].

De igual modo se ha identificado al SARS-CoV-2 en el sistema circulatorio, el cual puede pasar al sistema circulatorio cerebral, interactuando con las células nerviosas y endoteliales de los vasos del SNC [88]. Además, se ha observado que el lento movimiento de la sangre dentro de la microcirculación podría ser uno de los factores que pueden facilitar la interacción del SARS-CoV-2 con el receptor ACE2 expresado en el endotelio capilar. Una vez alcanzado el SNC, el SARS-CoV-2 puede activar los procesos inflamatorios auto reforzantes por medio de una "tormenta de citoquinas", que causa daño neuronal irreversible. La patogénesis de las infecciones virales graves está estrechamente relacionada con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica inducida por el virus (SIRS) o trastornos inmunes similares a SIRS. [41, 87].

Cabe agregar que la gemación posterior de las partículas virales en el endotelio capilar y el daño al revestimiento endotelial pueden favorecer el acceso viral al cerebro. Además, las rupturas endoteliales en los capilares cerebrales debido al proceso de endotelitis

pueden contribuir a la fisiopatología del daño cerebral por el SARS-CoV-2. Una vez que el virus está dentro de los tejidos neuronales, su interacción con los receptores ACE2 expresados en las neuronas puede iniciar un ciclo de gemación viral acompañado de daño neuronal sin inflamación sustancial como se ha visto en casos de SARS-CoV-2 [41, 87].

El receptor ACE2 también se expresa en la membrana plasmática de las neuronas de la médula espinal. Un primer caso reportado de mielitis transversa aguda postinfecciosa se ha descrito en la literatura. Lo que sugiere que la médula espinal puede ser el blanco de infección por el SARS-CoV-2. El daño del tejido nervioso no solo se produce por una acción neuroinvasiva directa del SARS-CoV-2, sino también por una lesión indirecta del sistema inmunitario hiperactivado (tormenta de citoquinas) [86].

Si bien las manifestaciones neurológicas de COVID-19 no se han estudiado adecuadamente, son altamente probables en algunos de estos pacientes, particularmente aquellos que padecen una enfermedad grave, con afectación del SNC y manifestaciones neurológicas. Las investigaciones neurológicas y electrofisiológicas de los pacientes, los intentos de aislar el SARS-CoV-2 del líquido cefalorraquídeo y las autopsias de las víctimas de COVID-19 pueden aclarar el papel

desempeñado por este virus en manifestaciones neurológicas [89].

Trastorno autoinmune generado por el SARS-COV-2

Por otra parte, un nuevo trastorno está siendo asociado actualmente en pacientes recuperados de COVID-19, se trata de una enfermedad autoinmune de origen neuroinmunológico, denominada el síndrome de Guillain-Barré. Cuya sintomatología es extensa y consiste en fiebre, sensaciones de hormigueo, pinchazos en los dedos de las manos, tobillos o las muñecas, debilidad en las piernas que se extiende a la parte superior del cuerpo, marcha inestable o incapacidad para caminar, dificultad con los movimientos oculares o faciales (incluido hablar, masticar o tragar), dificultad para controlar la vejiga o la función intestinal, frecuencia cardíaca acelerada, presión arterial alta o baja, disnea, erupciones moradas y catéteres cutáneos [55, 90, 91].

No obstante, se desconoce la causa exacta de este síndrome, pero a menudo es precedida por una enfermedad infecciosa como una infección respiratoria, estomacal o gripe de una a tres semanas antes de los primeros síntomas. Las infecciones que han provocado el síndrome de Guillain-Barré han sido causadas por microorganismos como; *Campylobacter jejuni*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. También, el 70% de los pacientes

diagnosticados con el síndrome de Guillain-Barré han presentado una enfermedad viral, pudiendo ser los causantes virus como: el virus de la influenza, el citomegalovirus, el virus de Epstein-Barr, el virus de Hepatitis (A, B, C y E), el VIH, enterovirus, el virus Epstein-Barr, el virus del Chikungunya, el virus del Zika y del SARS-CoV-2 [90 - 92]. De igual manera, se suman los resultados presentados por Marino *et al.*, que sugieren que la COVID-19 produce síntomas como la pérdida de olfato y el gusto, la atrofia muscular y nerviosa de extremidades. Proponiendo, la vigilancia de otro tipo de enfermedades neuroinmunológicas que podrían presentarse después de enfermar por COVID-19 [55, 91].

Biomarcadores encontrados en análisis sanguíneos de rutina de pacientes COVID-19

Actualmente tenemos un conocimiento limitado de los factores que podrían ser de riesgo para la susceptibilidad de los humanos a la COVID-19. Por esa razón, hoy por hoy, existen trabajos de colaboración que se han puesto en marcha para generar, compartir y analizar datos genéticos, con la finalidad de comprender la relación entre la variación genética humana y los factores de susceptibilidad y de gravedad en un paciente COVID-19; el proyecto más destacado es la iniciativa genética “the COVID-19 Host Genetics Initiative” [40].

También se han llevado a cabo 30 estudios de COVID-19 con 53000 pacientes en total realizando meta-análisis [88]. Los hallazgos sugirieron la aplicación de las siguientes pruebas como biomarcadores predictores de la gravedad y evolución de un paciente infectado: (i) la cuantificación de la LDH (lactato deshidrogenasa) encontrando niveles elevados de concentración en casos graves [93, 94]; (ii) la identificación y cuantificación de la CRP (proteína C reactiva) encontrando que el un nivel elevado de concentración se relaciona con daño pulmonar, renal, alteraciones en el balance de hormonas masculinas y también puede predecir daño al miocardio [37, 95]; (iii) la cuantificación de la trombocitopenia (disminución del recuento de plaquetas) que puede ser indicativo de coagulopatías en pacientes COVID-19 con importantes implicaciones terapéuticas [96, 97]. (iv) La linfopenia (disminución del número linfocitos en la sangre), que se ha convertido en un biomarcador para el pronóstico de la evolución de un estado estable a crítico y aparentemente pueden predecir el índice de morbilidad y mortalidad, incluso en etapas tempranas de infección por COVID-19 [98]. (v) Por otro lado, si al ingreso al hospital se detecta un nivel superior de 2,0 $\mu\text{g/ml}$ de D-dímero (aumento cuádruple), podría predecirse efectivamente la mortalidad hospitalaria en pacientes con

COVID-19 [57]. De nuevo, los niveles elevados también se relacionaron con el daño cardíaco [99]. (vi) Además se informó que si la relación de neutrófilos/linfocitos (N/L) es ≥ 3.13 en un paciente, este es más propenso a desarrollar una enfermedad grave por lo que se requiere de un ingreso inmediato a la UCI [100]; ya que este paciente a corto plazo pueden pasar de una neumonía moderada a neumonía grave [101].

Biomarcadores inmunológicos

Lo anteriormente expuesto indica que la infección por SARS-CoV-2 puede activar respuestas inmunes innatas y adaptativas. Sin embargo, la pérdida del control de estas ha demostrado que puede provocar daños nocivos en los tejidos, tanto local como sistémicamente en pacientes con enfermedad severa de la COVID-19, pero no en pacientes con enfermedad leve. La linfopenia es una característica común, con reducción drástica de células T CD4, células T CD8, células B y células asesinas (NK), así como un porcentaje reducido de monocitos, eosinófilos y basófilos. Un aumento en el recuento de neutrófilos respecto a los linfocitos generalmente indica mayor gravedad de la enfermedad [76]. Cuando el SARS-CoV-2 infecta al individuo, normalmente entra por el tracto respiratorio, se une al receptor ACE2 e inicia su procesos de replicación, en este momento las células dendríticas actúan sobre el virus por

endocitosis, de este modo recoge información del patógeno en un proceso llamando “procesamiento de antígeno”; los fragmentos de antígeno se presentan luego por proteínas denominadas “moléculas MHC” o antígenos de leucocito (HLA), en la superficie celular y permiten el reconocimiento por parte de una célula T. Si el antígeno presentado por las moléculas de clase MHC se une a una célula T CD8+, se someterá a una expansión clonal (tras la unión del antígeno el linfocito se activa para proliferar y generar una progenie de células idénticas) y se dirigirá directamente a las células infectadas a través de alguna de estas vías: (i) la vía de la perforina/granzimas, (ii) la vía del FAS/ligando inductor de apoptosis, (iii) la vía de secreción de mediadores proinflamatorios. Si el antígeno presentado por las moléculas MHC se une a una célula T CD4+, puede activar células B que reconocen el antígeno, al hacer que proliferen clonalmente y secreten anticuerpos para atacar el SARS-CoV-2 (Figura 14) [102].

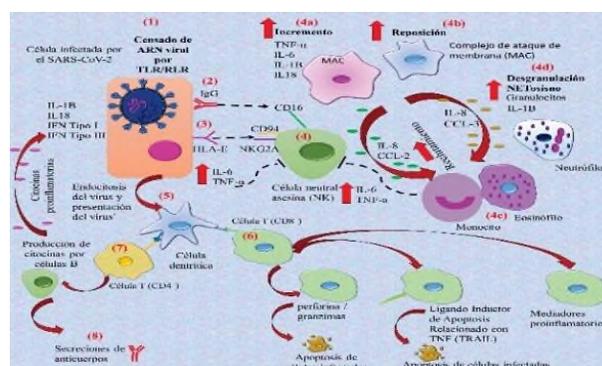


Figura 14. Mecanismos de respuesta innata y adaptativa de una célula infectada de SARS-COV-2. Imagen realizada y adaptada con base en [40, 102].



Se debe enfatizar que muchos pacientes críticos de COVID-19 pueden desarrollar fallo multiorgánico o fallo orgánico múltiple (actualmente se le denomina Síndrome de disfunción multiorgánica, SDMO), al verse afectada la función de dos o más órganos. En el caso de la COVID-19 se puede presentar edema e insuficiencia pulmonar, daño en hígado, daños cardíacos y renales. Estos síntomas están asociados con la tormenta de citoquinas. Varias citoquinas y otros parámetros inmunológicos se han correlacionado con pacientes COVID-19 de gravedad por lo que algunos investigadores se han enfocado en detectar cuáles de estos pueden ser usados como biomarcadores inmunológicos para la predicción de la morbilidad y la mortalidad de pacientes COVID-19 [40, 54].

En términos generales, es una respuesta inmune hiperactiva caracterizada por la liberación de interferones, interleucinas, factores de necrosis tumoral, citoquinas y varios otros mediadores. Estos mediadores son parte de una respuesta inmune innata necesaria para la eliminación eficiente de agentes infecciosos. La tormenta de citoquinas implica que los niveles de citoquinas liberadas son perjudiciales para las células hospedero. Sin embargo, ha sido un desafío importante distinguir una respuesta inflamatoria regulada de una respuesta desregulada en un paciente grave de COVID-19

[103].

Como antecedente, se tiene que en 2005 se analizaron las muestras pertenecientes a 88 pacientes confirmados estar infectados con SARS-CoV, en Taiwan. A los pacientes se les realizaron pruebas de RT-PCR para la detección de citoquinas, encontrando altos niveles de IFN- γ , IL-18 (interleucina-18), TGF- β (el factor de crecimiento transformante beta), IL-6; además las citoquinas IP-10, MCP-1, MIG (inmunoglobulina de membrana) fueron elevadas especialmente en pacientes graves de SARS [50].

Asimismo, se compararon varios estudios para obtener un consenso de aquellos elementos inmunológicos que sirven como biomarcadores con la finalidad de informar cómo se puede realizar un pronóstico más rápido y eficiente de la respuesta de un paciente COVID-19. A continuación se describen algunos marcadores inmunológicos que se han detectado: (i) Bajos niveles de las células T CD4⁺, T CD8⁺ y células asesinas naturales NK (Neuro Killer, *por sus siglas en inglés*) en pacientes COVID-19 y se han correlacionado con pacientes de gravedad [40]. (ii) Niveles elevados de IL-6 en casos graves de pacientes COVID-19 que requirieron la admisión a la UCI debido a que mostraron insuficiencia respiratoria [50, 75 -77, 104]. (iii) Niveles elevados de IL-2 (Interleucina 2) y su receptor IL-2R en pacientes de gravedad,

relacionandose con la alteración de los niveles de ferroproteínas, la PCT (procalcitonina) y un conteo alterado de eosinófilos [40, 104]. (iv) Niveles elevados de la IL-8, ha sido correlacionada directamente con pacientes de gravedad, encontrando que entre más altos niveles de IL-8 mayor es la gravedad y peor pronóstico para el paciente [104, 105]. (v) Para la IL-10 se ha observado un incremento significativo en casos severos de la enfermedad en comparación con los casos de pacientes con enfermedad leve [40]. (vi) La IL-1 β (Interleucina 1 beta), se han encontrado niveles asociados con el tipo celular T CD14⁺ en conjunto con IL-1 β y abundantes monocitos en pacientes de recuperación temprana, por lo que se cree que está asociada a la tormenta de citoquinas, pero sus niveles no están asociados con un cuadro clínico de un paciente de gravedad [105, 106]. (vii) El INF- α (interferón alfa), fue identificado en pacientes que requirieron hospitalización prolongada [75]. (viii) El INF- γ (interferón gama), se detectaron niveles incrementados en pacientes graves [100]. (ix) Para la GM-CSF, se detectaron niveles elevados en pacientes que requirieron ingreso a UCI [40, 105, 107]. (x) Otras citoquinas pro-inflamatorias han sido reportadas con niveles elevados en pacientes con enfermedad severa de COVID-19 que requirieron tratamiento en UCI, observando un

nivel elevado de interleucinas como IL-7, IL-9 y IL-17; también fueron encontrados en algunos casos de COVID-19 niveles elevados de G-CSF, IP10 MCP1, MIP-1 y MIP1 β [36, 65]. (xi) Finalmente, otros pacientes COVID-19 mostraron monocitos más grandes de lo normal, fácilmente identificables en dispersión frontal, mediante análisis de dispersión lateral por citometría de flujo de rutina, con la presencia de una población distinta de monocitos con dispersión frontal alta (FSC-alta). En un análisis más detallado, estos monocitos se mostraron elevados, cuantificando los monocitos CD11b⁺, CD14⁺, CD16⁺, CD68⁺, CD80⁺, CD163⁺, CD206⁺; secretan IL-6, IL-10 y TNF- α , para identificar un fenotipo inflamatorio en pacientes con COVID-19 que necesitaron ingresar a UCI [40, 75].

Del mismo modo, en pacientes con enfermedad severa de COVID-19 se han encontrado niveles elevados de citoquinas, las interleucinas IL-6, el IL-1 β , el IFN-I/III, en tejido epitelial de pulmón infectado. Estas citoquinas pueden inducir programas inflamatorios en macrófagos durante el reclutamiento de monocitos inflamatorios, granulocitos y linfocitos de circulación. El aumento sostenido del IL-6 y el TNF- α puede conducir varias cascadas de hiperinflamación. Los macrófagos inflamatorios derivados de monocitos pueden amplificar las respuestas disfuncionales de

varias maneras [40].

El papel de la red extracelular de neutrófilos en COVID-19

Tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa están involucradas en la inmunopatogénesis de COVID-19. La cascada patogénica comienza con la replicación del SARS-CoV-2 en las células epiteliales del pulmón y células endoteliales donde ocurre un mecanismo de respuesta innata por el interferón I y II. Como consecuencia de ello, los neutrófilos y las células del sistema fagocítico mononuclear (MPS, *por sus siglas en inglés*) como los macrófagos, monocitos y las células dendríticas inmaduras son masivamente reclutados en el tejido inflamatorio siendo considerados como la primera línea de defensa contra los virus al interferir en la replicación del virus y frenar la infección a células vecinas sanas [46, 108].

Los neutrófilos son las principales células del sistema de inmunidad innata. Uno de los mecanismos de acción de los neutrófilos es la formación de la Trampa Extracelular de Neutrofilos (NET). Muchos virus pueden estimular neutrófilos para inducir NET [109].

Por otra parte, las citoquinas CXCL9 y CXCL10 derivadas de monocitos tienen la función de reclutar células NK como mecanismo antiviral en células infectadas con SARS-CoV-2 [40].

Diferentes respuestas de los neutrófilos han sido observadas. La clásica NETosis es una respuesta inmune del organismo que se libera como mecanismo de defensa ante cuerpos extraños o contaminantes como los virus. Es un tipo de muerte celular diferente a la necrosis y apoptosis, ya que es un programa celular de múltiples pasos donde las enzimas a partir de los gránulos se translocan a los núcleos y facilitan la de condensación de la cromatina. Posteriormente la membrana interna se rompe provocando la citólisis para liberar la NET, que está compuesta de complejos de doble cadena de ADN, histonas y proteínas granulares; los cuales pueden circular de forma descontrolada, permitiendo liderar una respuesta sistémica del cuerpo con la producción de complejos inmunes, citoquinas, y finalmente favorecer la inflamación y una alta concentración local de moléculas antimicrobianas [46, 107].

Cabe agregar que la NETosis está asociada con la desintegración de la envoltura nuclear, la mezcla de material nuclear y citoplasmático, la pérdida de membrana interna y el desaparecimiento de los organelos citoplasmáticos. Otra característica es que las membranas no están intactas permitiendo que las proteínas intracelulares se dirijan fuera de la célula. Posteriormente, de la NET se libera una nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), una oxidasa dependiente del

proceso de la muerte celular. Durante la activación de la oxidasa los neutrófilos producen especies reactivas de oxígeno (ROS) (*por sus siglas en inglés*, Reactive Oxygen Species) que están involucrados en la liberación de la NET por medio de un mecanismo de acción de una elastasa, que transloca del granulo citoplasmático al núcleo, activando la degradación de la cromatina por el corte de las histonas [110].

Por una parte, los neutrófilos activados y las células MPS producen grandes cantidades de ROS creando así una respuesta desequilibrada al estrés oxidativo. La oxidación de moléculas endógenas como el ADN y los lípidos da como resultado la activación de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs, *por sus siglas en inglés*) que desencadenan la secreción de citoquinas proinflamatorias (tormenta de citoquinas) a través de la señalización de TLR, lo que activa el factor de transcripción sensible a redox NF- κ B. La señalización de ROS y TLR también induce un desbordamiento de la NET. Además, puede haber varios bucles de retroalimentación positiva entre las citoquinas (TNF- α , IL-1 β) y la producción de ROS, así como entre las citoquinas (TNF- α , IL-1 β) y la formación de ROS, NET y las enzimas proteolíticas liberadas por neutrófilos activados, lo anterior contribuye al daño de los órganos y la coagulación en los vasos. Por la

otra parte, la producción desequilibrada del ROS también suprime la respuesta de las células T, lo que contribuye a la linfopenia en COVID-19. Como resultado, las células T CD8⁺ antivirales menos activadas están disponibles para matar las células infectadas con virus y eliminar el virus. Sin embargo, las células T CD4⁺ son menos eficientes para ayudar a las células B a producir anticuerpos neutralizantes y establecer inmunidad a largo plazo [108].

Otra enzima que participa es la mieloperoxidasa cuya contribución es en la condensación nuclear del ADN. Finalmente, la ADNase I es una enzima que participa en la digestión de la NET (Figura 15) [110].

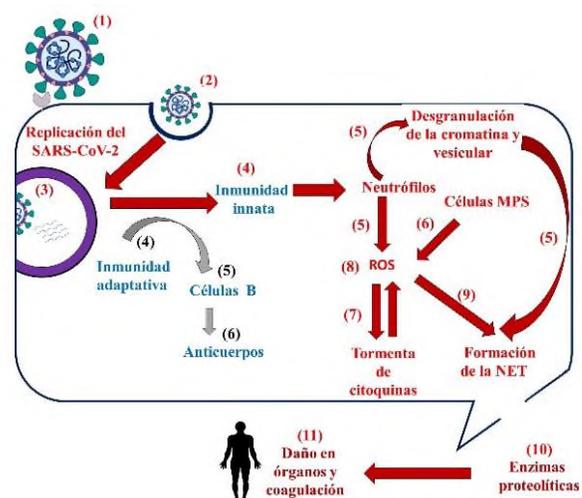


Figura 15. Características básicas de la inmunopatogénesis y el papel central de ROS durante la infección por SARS-CoV-2. Imagen realizada con base en [108].

La NETosis no solo es “la ruta de la muerte”, adicionalmente se han descrito la NETosis vital o no lítica, que a diferencia de la Netosis suicida

se induce rápidamente y preserva la integridad celular. Se activa vía TLR2, TLR4 y activación de plaquetas. Al igual que en la NETosis “suicida” (donde el neutrófilo al final muere), las enzimas granulares (granulocitos) se translocan al núcleo y facilitan la descondensación de la cromatina y el rompimiento de la membrana nuclear. Sin embargo, aunque las proteínas unidas a la cromatina son expulsadas al espacio extracelular y el neutrófilo permanece vivo. La NETosis está relacionada con varias enfermedades e infecciones en particular con enfermedades autoinmunes, cáncer, tromboembolismo venoso, aterosclerosis, diabetes, entre otras [110, 111].

También se ha investigado que durante una infección COVID-19, las NET pueden ser activadas como respuesta a la enfermedad. Por lo que se ha evaluado la actividad de la NETosis en pacientes COVID-19. Middleton *et al.*, proponen como posible intervención terapéutica, la inhibición de las trampas extracelulares de neutrófilos con el factor neonatal inhibidor de NET (nNIF) [110].

La NET es considerada como un marcador de gravedad de la COVID-19, cuando no se regula adecuadamente, tiene potencial para propagar la inflamación y trombosis microvascular, incluso en los pulmones de pacientes con “síndrome de dificultad respiratoria aguda”

(SDRA). En la COVID-19 los niveles elevados de neutrófilos en sangre predicen el peor resultado [109].

Asimismo, se ha visto que los sueros de individuos con COVID-19 desencadenan la liberación de NET en neutrófilos, revelando altos niveles de la NET en muchos pacientes con COVID-19 contribuyendo al SLC y la insuficiencia respiratoria. Después de lo anteriormente expuesto, se concluye que la NET puede ser considerada como un objetivo terapéutico novedoso para pacientes que sufren de COVID-19 [109].

Finalmente, se sabe que las NET contribuyen a la tormenta inflamatoria, favoreciendo la falla respiratoria en muchos pacientes COVID-19 implicando varias interleucinas que sirven de marcadores inmunológicos para el monitoreo de los pacientes. De hecho, las NET aumentan en pacientes con SDRA, como se ha demostrado en diversos estudios de pacientes con insuficiencia respiratoria aguda durante la exacerbación de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) observándose que la NET es capaz de liberar la inmunotrombosis en pacientes que requieren ventilación. Del mismo modo, las formas avanzadas de COVID-19 a menudo se caracterizan por hiperinflamación (“tormenta de citoquinas”) con el desarrollo de una afección similar al SDRA [109, 110].

CONCLUSIONES

Como se informó en la presente revisión, el SARS-CoV-2 puede infectar al ser humano fácilmente mediante un mecanismo de internalización en células de hospedero por medio del receptor ACE2, que está distribuido en una gran variedad de tipos celulares humanos causando daño en múltiples órganos; incluso con secuelas a largo plazo o llegando a ser mortal.

Asimismo, se conoce que los pacientes enfermos presentan cierta sintomatología de acuerdo con el órgano o sistema que ataca el virus, acompañándose con la detección de varios biomarcadores inmunológicos que a su vez se relacionan con SLC, indicativo de la gravedad o no de un paciente. Como apoyo a la detección del padecimiento causado por el SARS-CoV-2 existen pruebas como la TC y LUS que son eficaces para detectar anomalías pulmonares en un paciente COVID-19. Estas pruebas son complementarias con las técnicas de detección como las pruebas serológicas (detección de inmunoglobulinas en sangre), la detección de biomarcadores inmunológicos que a su vez son relacionados con la enfermedad y la detección de la presencia del SARS-CoV-2 por la qPCR. Estas pruebas son de gran ayuda para la detección temprana y la predicción de la evolución del paciente, con el fin de ofrecer el tratamiento oportuno y dar un buen seguimiento

al paciente infectado al conocer su progreso.

Por otro lado, tanto la respuesta innata y adaptativa inmune están involucradas en la inmunopatogénesis de COVID-19. Siendo los neutrófilos las principales células del sistema de inmunidad innata. Uno de los mecanismos de acción inducidos por virus, como el SARS COV-2 es la formación de NET correlacionados con los altos niveles de NET observados en muchos pacientes con COVID-19, es de llamar la atención el considerar la inhibición de la formación de NET como un objetivo terapéutico novedoso para pacientes que sufren de COVID-19. También, se ha observado que la formación de NET contribuye a la hiperinflamación o tormenta de citoquinas favoreciendo la falla respiratoria en muchos pacientes COVID-19, implicando además a varias interleucinas que sirven de marcadores inmunológicos para el monitoreo de los pacientes.

Finalmente, los diversos equipos de investigación alrededor del mundo están esforzándose para la producción de una vacuna que pueda ayudar a la prevención de la COVID-19, 7 de ellas ya se encuentran en fases avanzadas con resultados prometedores para ayudar a contener esta pandemia. Sin duda alguna, la colaboración de los diferentes grupos de investigación a nivel mundial es fundamental para lograrlo.

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS

- [1] Fiorino S, Zippi M, Gallo C, Sifo D, Sabbatani S, Manfredi R, Leandri P. The rationale for a multi-step therapeutic approach based on antivirals and drugs with immunomodulatory activity in patients with coronavirus-SARS2-induced disease of different severity. Preprint. 2020:1-18.
- [2] Vellingiri B, Jayaramayya K, Iyer M, Narayanasamy A, Govindasamy V, Giridharan B, Ganesan S Venugopal A, Venkatesan D, Ganesan H, Rajagopalan K, Rahman PKSM, Cho SG, Kumar NS, Subramaniam MD. COVID-19: A promising cure for the global panic. *Sci Total Environ.* 2020; 725:1-19.
- [3] Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and corona virus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *International journal of antimicrobial agents.* 2020; 55 (3): 1-9.
- [4] Smith TR, Patel A, Ramos S, Elwood D, Zhu X, Yan J, Xu Z. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat Commun.* 2020; 11(1):1-13.
- [5] Rosales-Mendoza S. Will plant-made biopharmaceuticals play a role in the fight against COVID-19?. *Expert Opin Biol Ther.* 2020; 20(6):545–548.
- [6] Block P, Hoffman M, Raabe IJ, Dowd JB, Rahal C, Kashyap R, Mills MC. Social network-based distancing strategies to flatten the COVID-19 curve in a post-lockdown world. *Nat. Hum. Behav.* 2020; 4:588–596.
- [7] Ling CQ. Traditional Chinese medicine is a resource for drug discovery against 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2). *J Integr Med.* 2020; 18(2):87–88.
- [8] Base de datos de COVID-19, Vaccine & Therapeutics Tracker. Disponible en: <https://biorender.com/covid-vaccine-tracker/details/v-0CV3/bacille-calmette-guerin-bcg>. Revisado el 15 de junio 2020.
- [9] Gresham, G. *ClinicalTrials.gov. Princ and Pract Clin Trials.* 2020:1-18.
- [10] Base de datos de la OMS, Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>. Revisado el 13 de agosto 2020.
- [11] Millán-Oñate J, Rodríguez-Morales AJ, Camacho-Moreno G, Mendoza-Ramírez H, Rodríguez-Sabogal IA, Álvarez-Moreno CA. New emerging zoonotic virus of concern: the 2019 novel coronavirus (SARS CoV-2). *Infectio.* 2020; 24(3):187-192.



- [12] Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, Xiang Z. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun.* 2020; 11(1):1-12.
- [13] Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Curr Biol.* 2020; 30(7):1346-1351.
- [14] Saitou N. and Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution.* 1987; 4:406-425.
- [15] Zuckerkandl E. and Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. Edited in *Evolving Genes and Proteins* by V. Bryson and H.J. Vogel. 1965; 97-166.
- [16] Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution.* Academic Press, New York. 2018; 35:1547-1549.
- [17] Base de datos de NCBI. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Revisado el 13 de agosto.
- [18] Han GZ. Pangolins Harbor SARS-CoV-2-Related Coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2020;28(7):515-517.
- [19] Lam TT, Jia N, Zhang YW, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature.* 2020;583(7815):282-285.
- [20] Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res.* 2020;24:91-98.
- [21] Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020:1-5.
- [22] Base de datos de I-Tisser, revisado en 9 de julio del 2020. Disponible en: <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/COVID-19/>.
- [23] Michalska K, Kim Y, Jedrzejczak R, Maltseva NI, Stols L, Endres M, Joachimiak A. Crystal structures of SARS-CoV-2 ADP-ribose phosphatase (ADRP): from the apo form to ligand complexes. *bioRxiv.* 2020:1-24.
- [24] Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, Duan Y. Structure of M pro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature.* 2020; 582:1-24.
- [25] Gao Y, Yan L, Huang Y, Liu F, Zhao Y, Cao L, Ge J. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Sci.* 2020; 368(6492):779-782.
- [26] Ferron F, Subissi L, Silveira De Morais AT, Le N, Sevajol M, Gluais L, et al. Structural



and molecular basis of mismatch correction and ribavirin excision from coronavirus RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018; 115(2): E162–E171.

[27] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veessler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020; 181(2):81-292.

[28] Grant O.C., Montgomery D., Ito K., Woods R.J. 3D Models of glycosylated SARS-CoV-2 spike protein suggest challenges and opportunities for vaccine development. *Biorxiv*. 2020:1-17.

[29] Base de datos de UniProt (UniProt), Available at: <https://www.uniprot.org/>. (Accessed on: July 9, 2020).

[30] Alanagreh LA, Alzoughool F, Atoum M. The human coronavirus disease COVID-19: its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. *Pathogens*. 2020; 9(5):1-11.

[31] Ansele M, Galocha A y Zafra M. The 12 letters that changed the world. *El pais*. Revisado en 7-2020. Disponible en: https://elpais.com/elpais/2020/05/18/ciencia/1589818040_544543.html.

[32] Perkel JM. The software that powers scientific illustration. *Nature*. 2020; 582 (7810):137-138.

[33] Base de datos de: BioRender.com, accesado 2 de agosto 2020.

[34] Coronavirus Replication Cycle”, by BioRender.com (2020). Retrieved from <https://app.biorender.com/biorender-templates>.

[35] Ulrich H, Pillat MM. CD147 as a target for COVID-19 treatment: suggested effects of azithromycin and stem cell engagement. *Stem Cell Rev Rep*. 2020:1-7.

[36] Guo H, Li R, Zucker S, Toole BP. EMMPRIN (CD147), an inducer of matrix metalloproteinase synthesis, also binds interstitial collagenase to the tumor cell surface. *Cancer Res*. 2020; 60(4):888-891.

[37] Wang K, Chen W, Zhou YS, Lian J Q, Zhang Z, Du P, Wang B. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *BioRxiv*.2020; 1-10.

[38] Gabarre P, Dumas G, Dupont T, Darmon M, Azoulay E, Zafrani L. Acute kidney injury in critically ill patients with COVID-19. *Intensive Care Med*. 2020:1-10.

[39] Perlot T, Penninger JM. ACE2–From the renin–angiotensin system to gut microbiota and malnutrition. *Emerg Microbes Infect*. 2013; 15(13): 866-873.

[40] Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, Pia L. Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity*. 2020; 52: 910-941.

- [41] Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: tissue distribution, host–virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms. *ACS Chem Neurosci*. 2020; 11(7):995-998.
- [42] Soler MJ, Lloveras J, Batlle D. Enzima conversiva de la angiotensina 2 y su papel emergente en la regulación del sistema renina-angiotensina. *Medicina Clínica*. 2008; 131(6):230-236.
- [43] Jiang F., Yang J., Zhang Y., Dong M., Wang S., Zhang Q. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin 1-7: novel therapeutic targets. *Nature Reviews Cardiology*. 2014; 11(7):p. 413-426.
- [44] Vaduganathan M., Vardeny O., Michel T., McMurray J.J.V., Pfeffer M.A.A, Scott D. Solomon, Renin–Angiotensin–Aldosterone System Inhibitors in Patients with COVID-19, *New England J Med* 2020; 382:1653-1659.
- [45] D’Ardes D, Boccatonda A, Rossi I, Guagnano MT, Santilli F, Cipollone F, Bucci, M. COVID-19 and RAS: unravelling an unclear relationship. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8): 1-8.
- [46] Park A, Iwasaki A. Type I and type III interferons–induction, signaling, evasion, and application to combat COVID-19. *Cell Host Microbe*. 2020; 24(10):870-878.
- [47] Ye Z, Zhang Y, Wang Y, Huang Z, Song B. Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pictorial review. *Eur Radiol*. 2020; 30:4381–4389.
- [48] Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol. Mol Biol Rev*. 2012; 76(1):16-32.
- [49] Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, Yuan, Z. Reduction, and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol*, 2020;11(827):1-7.
- [50] Huang KJ, Su I.J, Theron M, Wu Y C, Lai SK, Liu CC, Lei HY. An interferon- γ -related cytokine storm in SARS patients. *J Med Virol*. 2005; 75(2):185-194.
- [51] Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L. Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *Br J Haematol*. 2020; 189: 428–437.
- [52] Yoshio T, Okamoto H, Kurasawa K, Dei Y, Hirohata S, Minota S. IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1 and G-CSF are significantly increased in cerebrospinal fluid but not in sera of patients with central neuropsychiatric lupus erythematosus. *Lupus*. 2016; 25(9):997-1003.
- [53] Baig AM. Neurological manifestations in COVID-19 caused by SARS-CoV-2. *CNS Neurosci*. 2020; 26(5):499–501.
- [54] Wadman M, Couzin-Frankel J, Kaiser J, Maticic C. How does coronavirus kill.



Ferocious rampage through the body, from brain to toes. 2020:1502-1503.

[55] Willyard C. Coronavirus blood-clot mystery intensifies. *Nature*. 2020 (581): 250.

[56] Zhang Y, Xiao M, Zhang S, Zhang S, Li Y. et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19. *N Engl J Med*. 2020:382:385.

[57] Zhang L, Yan X, Fan Q, Liu H, Liu X, Liu Z, Zhang Z. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with COVID-19. *JTH*. 2020; 18(6):1324–1329.

[58] Pan F, Ye T, Sun P, Gui S, Liang B, Li L, Zheng C. Time course of lung changes on chest CT during recovery from 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia. *Radiol*. 2020; 295:715–721.

[59] Li K, Wu J, Wu F, Guo D, Chen L, Fang Z, LI C. The clinical and chest CT features associated with severe and critical COVID-19 pneumonia. *Invest Radiol*. 2020; 55(6):1-5.

[60] Poggiali E, Dacrema A, Bastoni D, Tinelli V, Demichele E, Mateo Ramos P, Magnacavallo A. Can lung US help critical care clinicians in the early diagnosis of novel coronavirus (COVID-19) pneumonia? *Radiology*. 2020;295(3): E6-E6.

[61] Mongodi S, Pozzi M, Orlando A, Bouhemad B, Stella A, Tavazzi G, Mojoli F. Lung ultrasound for daily monitoring of ARDS patients on extracorporeal membrane

oxygenation: preliminary experience. *Intensive Care Med*. 2018; 44(1):123-124.

[62] Schmulson M, Dávalos MF, Berumen J. Alerta: los síntomas gastrointestinales podrían ser una manifestación de la COVID-19. *Rev Gastroenterol Mex*. 2020:1-7.

[63] Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, Knoops K, Puschhof J, Breugem TI, Van Donselaar E. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*. 2020; 369(6499):50-54.

[64] Viguera ME. ¿Que seamos más o menos vulnerables al SARS-CoV-2 depende de nuestros genes? Universidad de Málaga. Disponible en: https://theconversation.com/amp/que-seamos-mas-o-menos-vulnerables-al-sars-cov-2-depende-de-nuestros-genes-138375?__twitter_impression=true&fbclid=IwAR1eT4KK3js23IVtxCK-42X51bLSR5BUQurMkhzRtwBguB6E8wos6dUo5NU revisado el 19 de junio 2020.

[65] Ferreira CM, Vieira AT, Vinolo MA R, Oliveira FA, Curi R, Martins FDS. The central role of the gut microbiota in chronic inflammatory diseases. *J Immunol Res*. 2014:1-13.

[66] Michel Aceves RDJ, Izeta Gutiérrez AC, Torres Alarcón G, Michel Izeta ACM. The human intestinal microbiota and microbiome. (Between the keys of the kingdom and a new



Pandora's Box). *Rev san mil.* 2018; 71(5):443-448.

[67] Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science.* 2012; 336(6086):1268-1273.

[68] Kato LM, Kawamoto S, Maruya M, Fagarasan S. The role of the adaptive immune system in regulation of gut microbiota. *Immunol Rev.* 2014; 260(1):67-75.

[69] Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut microbes.* 2012; 3(1):4-14.

[70] Blaser MJ. The theory of disappearing microbiota and the epidemics of chronic diseases. *Nat Rev Immunol.* 2017; 461-463.

[71] Geuking MB, Köller Y, Rupp S, McCoy KD. The interplay between the gut microbiota and the immune system. *Gut microbes.* 2014; 5(3):411-418.

[72] McIlroy JR, Mullish BH, Goldenberg SD, Ianiro G, Marchesi JR. Intestinal microbiome transfer, a novel therapeutic strategy for COVID-19 induced hyperinflammation?: In reply to, 'COVID-19: Immunology and treatment options', Felsenstein, Herbert McNamara et al. 2020'. *Clin Immunol (Orlando, Fla.).* 2020; 218:1-2.

[73] He Y, Wang J, Li F, Shi, Y. Main clinical features of COVID-19 and potential prognostic and therapeutic value of the microbiota in

SARS-CoV-2 infections. *Front Microbiol.* 2020; 11:1-7.

[74] Dhar D, & Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. *Virus Research.* 2020; 285:1-5.

[75] Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5(5): 428-430.

[76] Cao M, Zhang D, Wang Y, Lu Y, Zhu X, Li Y, Yang Z. Clinical features of patients infected with the 2019 novel coronavirus (COVID-19) in Shanghai, China. *MedRxiv.*2020:1-30.

[77] Chen D, Li X, Song Q, Hu C, Su F et al. Hypokalemia and Clinical Implications in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) *medRxiv.* 2020: 1-22.

[78] Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, Xu G. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney int.* 2020; 97(5):829-838.

[79] Wang L, Li X, Chen H, Yan S, Li D, Li Y, Gong Z. Coronavirus disease 19 infection does not result in acute kidney injury: an analysis of 116 hospitalized patients from Wuhan, China. *Am J Nephrol.* 2020; 51(5):343-348.

[80] Anti-2019-nCoV Volunteers, Li Z, Wu M et al. Caution on kidney dysfunctions of 2019-nCoV patients. *MedRxiv* 2020; Publicado online el 27 de marzo 2020. Disponible en:

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.08.20021212v2> Accessed on: July 10, 2020.

[81] Kim J, Thomsen T, Sell N, Goldsmith AJ. Abdominal and testicular pain: An atypical presentation of COVID-19. *J Emerg Med.* 2020; (20):30194-7.

[82] Ma L, Xie W, Li D, Shi L, Mao Y, Xiong Y, Zhang M. Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: A single center-based study. *MedRxiv.* 2020:1-14.

[83] Wang S, Zhou X, Zhang T. et al. The need for urogenital tract monitoring in COVID-19. *Nat Rev Urol.* 2020; 17:314–315.

[84] Pan F, Xiao X, Guo J, Song Y, Li H, Patel DP, Li PS. No evidence of SARS-CoV-2 in semen of males recovering from COVID-19. *Fertil Steril.* 2020; 113(6):1135–1139.

[85] Netland J, Meyerholz DK, Moore S, Cassell M, Perlman S. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2. *J Virol.* 2008; 82(15):7264-7275.

[86] Giorgianni A, Vinacci G, Agosti E, Cariddi LP, Mauri M, Baruzzi F, Versino, M. Transient acute-onset tetraparesis in a COVID-19 patient. *Spinal Cord.* 2020; 1-3.

[87] Zanin L, Saraceno G, Panciani PP. et al. SARS-CoV-2 can induce brain and spine demyelinating lesions. *Acta Neurochir.* 2020; 62:1491–1494.

[88] Zhao K, Huang J, Dai D, Feng Y, Liu L, Nie S. Acute myelitis after SARS-CoV-2 infection: a case report. *MedRxiv.* 2020:1-7.

[89] Asadi-Pooya AA, Simani L. Central nervous system manifestations of COVID-19: A systematic review. *J Neurol Sci.* 2020; 419:1-4.

[90] Litin SC. *Clínica Mayo: libro de la salud familiar.* Trillas: México 2005.

[91] Marino C, Dalakas, MD. Guillain-Barre syndrome: The first documented COVID-19–triggered autoimmune neurologic disease. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020; 7(5):1-8.

[92] Leonhard SE, Mandarakas MR, Gondim FA, Bateman K, Ferreira ML, Cornblath DR, Kusunoki S. Diagnosis and management of Guillain–Barré syndrome in ten steps. *Nat Rev Neurol.* 2019; 15(11): 671-683.

[93] Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Sci.* 2020; 367(6485): 1444-1448.

[94] Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, Qi Y, Wei H. Aberrant pathogenic GM-CSF+ T, cells and inflammatory CD14+, CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. *BioRxiv.* 2020:1-10.

[95] Liu T, Zhang J, Yang Y, Ma H, Li Z, Zhang J, Cheng J, Zhang X, et al. The role of interleukin-6 in monitoring severe case of



coronavirus disease 2019. *EMBO Mol Med.* 2020;1-12.

[96] Fogarty H, Townsend L, Ni Cheallaigh C, Bergin C, Martin-Loeches I, Browne P, Ryan K. COVID-19 coagulopathy in Caucasian patients. *Br J Haematol.* 2020;189: 1044–1049.

[97] Poor HD, Ventetuolo CE, Tolbert T, Chun G, Serrao G, Zeidman A, Dangayach, NS, Olin, J, Kohli-Seth R, Powell CA. COVID-19 Critical Illness Pathophysiology Driven by Diffuse Pulmonary Thrombi and Pulmonary Endothelial Dysfunction Responsive to Thrombolysis. *medRxiv.* 2020:1-14.

[98] Fei J, Fu L, Li Y, Xiang HX, Xiang Y, Li MD, Liu FF, Xu DX, Zhao H. Reduction of lymphocyte at early stage elevates severity and death risk of COVID-19 patients: a hospital-based case-cohort study. *medRxiv* 2020:1-28.

[99] Liu Y, Li J, Liu D, Song H, Chen C, Lv M, Pei X, Hu Z. Clinical features and outcomes of 2019 novel coronavirus-infected patients with cardiac injury. *medRxiv.* 2020g; 1-17.

[100] Liu J, Liu Y, Xiang P, Pu L, Xiong H, Li C, Zhang M, Tan J, Xu Y, Song R, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med.* 2020; 18(206):1-12.

[101] Feng, S, Shen C, Xia N, Song W, Fan M, Cowling BJ. Rational use of face masks in the

COVID-19 pandemic. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):434-436.

[102] Gutiérrez-Ortiz C, Méndez A, Rodrigo-Rey S, San Pedro-Murillo E, Bermejo-Guerrero L, Gordo-Mañas R, Benito-León J. Miller Fisher Syndrome and polyneuritis cranialis in COVID-19. *Neurol.* 2020: 1-15.

[103] Sinha P, Matthay MA, Calfee CS. Is a “Cytokine Storm” Relevant to COVID-19? *JAMA Intern Med.* 2020:1-3.

[104] Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, Zhang X. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Investig.* 2020; 130(5):1-1.

[105] Gong J, Dong H, Xia SQ, Huang YZ, Wang D, Zhao Y, Lu F. Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19 pneumonia. *MedRxiv.* 2020:1-17.

[106] Wen W, Su W, Tang H, Le W, Zhang X, Zheng Y, Dong L. Immune cell profiling of COVID-19 patients in the recovery stage by single-cell sequencing. *Cell Discov.* 2020; 6(1):1-18.

[107] Schönrich G, Raftery MJ, Samstag Y. Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression. *Adv Biol Regul.* 2020: 1-19.

[108] Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, Gockman K, Zuo M, Madison JA., Woods RJ. Neutrophil

extracellular traps (NETs) as markers of disease severity in COVID-19. medRxiv. 2020: 1-23.

[109] Mozzini C, Girelli D. The role of Neutrophil Extracellular Traps in Covid-19: Only an hypothesis or a potential new field of research? Thromb Res. 2020; 191:26-27.

[110] Middleton EA., He XY, Denorme F, Campbell RA., Ng D, Salvatore SP, Cody MJ. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Contribute to Immunothrombosis in COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome. Blood. 2020.

[111] Yipp BG, Kubes P. NETosis: how vital is it?. Blood. 2013; 122(16):2784-2794.