



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i del Medi  
Natural

TRABAJO FINAL DE GRADO

DISFUNCIONALIDAD DEL IFN-I E IMPLICACIÓN  
EN EL DESARROLLO DEL SÍNDROME DE  
LIBERACIÓN DE CITOQUINAS (CRS) EN CASOS  
SEVEROS DE COVID-19

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

CURSO 2020/21

**Autora:** Luna Alvarado Añón

**Tutora académica:** Eloísa Jantus Lewintre

**Tutor externo:** Enric Esplugues Artola

Valencia, junio 2021

**Título:** Disfuncionalidad del IFN-I e implicación en el desarrollo del Síndrome de Liberación de Citoquinas (CRS) en casos severos de COVID-19.

**Resumen:**

La aparición del brote de la enfermedad COVID-19 a finales del año 2019, unida a su rápida capacidad de transmisión provocó que, en cuestión de pocos meses, el mundo se viese sumido en una pandemia cuyo principal causante fue un nuevo coronavirus denominado SARS-CoV-2. Consecuentemente, los esfuerzos de la comunidad científica a nivel global han centrado en la caracterización del virus y de su sintomatología asociada, especialmente a los casos más severos de la enfermedad, y los mecanismos moleculares que los provocan, por lo que el trabajo de clasificar y relacionar toda esta información publicada se convierte en una ardua tarea, pero no por ello deja de ser indispensable. Esta revisión describe, por tanto, las características principales del SARS-CoV-2, centrándose en la disfuncionalidad del interferón de tipo I (IFN I) y su implicación en el desarrollo del Síndrome de Liberación de Citoquinas (CRS), que origina una inflamación a nivel sistémico y, en muchos casos, da lugar al fallecimiento de los pacientes. Además, aspira a recopilar, dentro de una única publicación, toda la información obtenida hasta la fecha asociada a estos dos sucesos fisiológicos dentro del contexto de los casos severos de COVID-19 para poder actuar como nexo de unión en la comprensión de las implicaciones entre ambos. Finalmente, se proponen diversos enfoques en cuanto al posible desarrollo de tratamientos centrados en la prevención y cuidado del CRS y su cuadro clínico asociado.

**Palabras clave:** COVID-19, SARS-CoV-2, IFN I, CRS, respuesta inmune, inflamación

**Autora:** Luna Alvarado Añón

**Tutora académica:** Eloísa Jantus Lewintre

**Tutor externo:** Enric Esplugues Artola

Valencia, junio 2021

**Title:** Type I interferon (IFN I) malfunction and implications in the development of Cytokine Release Syndrome (CRS) in severe cases of COVID-19.

**Abstract:**

The appearance of the outbreak of the COVID-19 disease during the last months of 2019, as well as its rapid transmission capacity, caused that, in the span of a few months, the world was plunged into a pandemic whose main cause was a new coronavirus called SARS-CoV-2. Consequently, the scientific community around the world focused its efforts on the characterization of the virus and its associated symptomatology, especially among the most severe cases of the disease, and the molecular mechanisms that cause them. Therefore, the task of classifying and associating all this published information becomes arduous, even if it is still indispensable. This revision describes the principal characteristics of SARS-CoV-2, focusing on the malfunction of type I interferon (IFN I) and its implication in the development of Cytokine Release Syndrome (CRS), which results in inflammation at a systemic level and, in many cases, in the death of patients. Furthermore, it aims to compile, within a single publication, all the information obtained so far associated with these two physiological events within the context of severe cases of COVID-19 in order to act as a nexus in the understanding of the implications among the two of them. Finally, various approaches related to the possible development of treatments focused on the prevention and care of the CRS and its associated clinical profile are proposed.

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, IFN I, CRS, immune response, inflammation.

**Author:** Luna Alvarado Añón

**Academic Tutor:** Eloísa Jantus Lewintre

**External Tutor:** Enric Esplugues Artola

Valencia, June 2021

**Agradecimientos:**

En primer lugar, a Enric Esplugues y Eloísa Jantus, por sus correcciones, su conocimiento, y por dedicar su tiempo a la tutorización de este TFG.

A Maite Añón, Teresa Díez y Sol Añón, por su enorme ayuda al no dudar en hacerme llegar consejos y aportaciones cuando las he necesitado, para hacer de esta revisión, una mejor.

A mis padres, Jesús y Amparo, por haberme apoyado incondicionalmente en cada decisión que he tomado durante estos años, por animarme a confiar en mi instinto y a no rendirme. En especial a mi padre, por, sin estar habituado a los tecnicismos y conceptos científicos presentes en las siguientes páginas, haber leído absolutamente todas las versiones que han existido de este trabajo.

A mi abuela Tere, por haber sido la mejor compañera de piso y confinamiento que podría haber deseado.

A Raquel, Jesús, Iván, Marcos y Juan Carlos, por estar a mi lado, incluso estando lejos.

A todas mis compañeras del grado, pero especialmente a Manu, Lucía, Roger, Alejandra y Crispi, por haber compartido conmigo todo lo vivido. Sois la razón principal por la que, de aquí en adelante, querré volver a estos años.

A María Correa, Carla Sellés y María Lara, por haber sido las columnas que me han mantenido en pie cuando las cosas no iban bien y las primeras en celebrar cuando llegaban los éxitos. No habría llegado hasta aquí sin vosotras tres.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS PLANTEADOS.....</b>	<b>2</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>2</b>
<b>4. PROPIEDADES DE SARS-COV-2 .....</b>	<b>3</b>
4.1. TAXONOMÍA.....	3
4.2. COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA .....	4
4.3. ACE2 Y ENTRADA A LA CÉLULA HUÉSPED .....	5
4.4. TRANSMISIÓN .....	6
<b>5. INTERFERÓN DE TIPO I (IFN I) Y COVID-19 .....</b>	<b>8</b>
5.1. PRODUCCIÓN DE IFN I EN RESPUESTA INMUNE.....	8
5.2. ERRORES EN LA INDUCCIÓN DE INF-I ASOCIADOS A CASOS SEVEROS DE COVID-19 ...	9
5.2.1. RETRASO Y EVASIÓN DE LA INDUCCIÓN DE INF I: IMPLICACIONES .....	10
5.2.2. DEFECTOS GENÉTICOS EN LOCIS RELACIONADOS CON INDUCCIÓN DE INF I.....	12
5.2.3. AUTOANTICUERPOS CONTRA INF-I .....	16
<b>6. SÍNDROME DE LIBERACIÓN DE CITOQUINAS (CRS).....</b>	<b>19</b>
6.1. CITOQUINAS, CÉLULAS DENDRÍTICAS Y RECONOCIMIENTO DE PATÓGENOS .....	19
6.2. SÍNDROME DE LA TORMENTA DE CITOQUINAS.....	20
6.2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	20
6.3. CRS Y COVID-19 .....	21
6.3.1. DISFUNCIÓN DE IFN I COMO CAUSANTE DEL CRS: PAPEL DE LA CARGA VIRAL..	21
6.3.2. VARIACIONES EN LOS NIVELES CELULARES.....	25
6.3.3. SINTOMATOLOGÍA E IMPLICACIONES CLÍNICAS .....	27
6.3.4. DIAGNÓSTICO DE CRS ASOCIADO A COVID-19 .....	28
<b>7. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS .....</b>	<b>29</b>
<b>8. POSIBLES TRATAMIENTOS .....</b>	<b>30</b>
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>31</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>32</b>

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

**Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2.**

**Figura 2. Mecanismos de entrada de SARS-CoV-2 a la célula hospedadora.**

**Figura 3. Ruta de señalización de IFN I.**

**Figura 4. Efecto de las proteínas virales de SARS-CoV-2 en la producción de IFN- $\beta$ .**

**Figura 5. Niveles de infiltración pulmonar dependiente de IFN I en ratones knock-out para IRF3, IRF7 e IFNAR tras la infección con SARS-CoV-2.**

**Figura 6. Respuesta inmune innata de IFN I en células dendríticas plasmocitoides (pDCs).**

**Figura 7. Respuesta inmune intrínseca de IFN I en fibroblastos de la dermis (SV40-Fib).**

**Figura 8. Correlación entre la producción de auto-Abs anti-IFN- $\alpha$ 2 y auto-Abs frente al resto de IFN I.**

**Figura 9. Efecto de los auto-Abs anti-IFN I en presencia de SARS-CoV-2.**

**Figura 10. Diferentes rutas metabólicas de IL-6 y producción de citoquinas relacionadas con CRS.**

**Figura 11. Asociación de perfiles inmunológicos con posibles pronósticos en pacientes de COVID-19 mediante clustering no supervisado.**

**Figura 12. Algoritmo de triaje para pacientes de COVID-19 sospechosos de CRS.**

## **ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1. Variantes causantes de la enfermedad identificadas en pacientes con COVID-19 severo.**

**Tabla 2. Distribución de individuos positivos para auto-Abs neutralizantes contra IFN I entre los diferentes grupos de estudio.**

## **ABREVIATURAS**

OMS: ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

COV: CORONAVIRUS

NCOV: NUEVO CORONAVIRUS

COVID-19: CORONAVIRUS DISEASE-19

SARS-COV: CORONAVIRUS HUMANO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO GRAVE

MERS-COV: CORONAVIRUS HUMANO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO DE ORIENTE MEDIO

ORF: OPENING READING FRAME

NSPs: PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES

RBD: DOMINIO DE UNIÓN AL RECEPTOR

ACE2: ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME 2

PD: DOMINIO PEPTIDASA

RAS: SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

ANG I/II: ANGIOTENSINA I/II

TMPRSS2: TRANSMEMBRANE PROTEASE SERINE 2

IFNS: INTERFERONES

IFNAR: RECEPTOR DEL INTERFERON- $\alpha/\beta$

IFN $\gamma$ R: RECEPTOR DEL INTERFERON- $\gamma$

IFNLR: RECEPTOR DEL INTERFERON- $\lambda$

NK: NATURAL KILLER

PRRs: PATTERN RECOGNITION RECEPTOR

TLRs: TOLL-LIKE RECEPTOR

IRFs: INTERFERON REGULATORY FACTORS

IKKE: IKB KINASE-E

TBK1: TANK-BINDING KINASE 1

CRS: CYTOKINE RELEASE SYNDROME

ISGs: INTERFERON STIMULATED GENES

HACE2: ACE2 HUMANO

AAV: VIRUS ADENOASOCIADO

HPI: HORAS DESPUÉS DE LA INFECCIÓN

WT: WILD TYPE



IEIS: ERRORES INNATOS DE INMUNIDAD

PDCs: CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES

SLE: LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

APS-1: POLIENDOCRINOPATÍA AUTOINMUNE TIPO 1

AIRE: REGULADOR AUTOINMUNE

ELISA: ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY

PBMCs: CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA

BAL: LAVADOS BRONCOALVEOLARES

BAL: LAVADOS BRONCOALVEOLARES

DCs: CÉLULAS DENDRÍTICAS

PAMPs: PATHOGEN-ASSOCIATED MOLECULAR PATTERNS

MOF: FALLO MULTIORGÁNICO

MAS: SÍNDROME DE ACTIVACIÓN DE MACRÓFAGOS

HLH: LINFOCITOSIS HEMOFAGOCÍTICA FAMILIAR

ARDS: SÍNDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA AGUDA

CRP: PROTEÍNA C REACTIVA

MCP-1: MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN 1

VEGF: VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR

LDH: LACTATO DESHIDROGENASA

IL-6R: RECEPTOR DE IL-6

T<sub>H</sub>/CD4<sup>+</sup>: CÉLULAS T HELPER

T CD8<sup>+</sup>: CÉLULAS T CITOTÓXICAS

T<sub>reg</sub>: CÉLULAS T REGULADORAS

sIL-6R: RECEPTOR SOLUBLE DE IL-6

FDP: PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN DE FIBRINA

EGF: EPIDERMAL GROWTH FACTOR

NKG2A: NATURAL KILLER RECEPTOR G2A

NLR: RATIO NEUTRÓFILO:LINFOCITO

N8R: RATIO NEUTRÓFILO:CÉLULA T CD8<sup>+</sup>

GM-CSF: GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR

BALF: FLUIDOS BRONCOALVEOLARES

DIC: COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA

NETs: TRAMPAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS

DAD: DAÑO ALVEOLAR DIFUSO

CSs: CYTOKINE STORM SCORE

## 1. INTRODUCCIÓN

Numerosos casos de individuos con neumonía atípica y de origen desconocido fueron reportados a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a finales de diciembre de 2019, procedentes de la ciudad china de Wuhan, en la provincia de Hubei (C. Wang et al., 2020). Pocas semanas después y a partir de muestras de pacientes hospitalizados, se consiguió no sólo aislar el virus causante, un nuevo coronavirus (nCoV) que fue denominado 2019-nCoV, sino también proporcionar una primera descripción de sus efectos citopáticos y morfología (N. Zhu et al., 2020).

A finales de enero de 2020, la OMS elevó el grado de importancia del brote de la enfermedad causada por el 2019-nCoV, conocida por sus siglas en inglés como COVID-19 (*coronavirus disease-19*) a Emergencia Sanitaria Internacional. Su rápida propagación, la amplia variedad de síntomas que los individuos infectados presentaban y la falta de un tratamiento exitoso a la hora de paliarlos provocaron que, finalmente, la COVID-19 fuese declarada pandemia el 11 de marzo de ese mismo año (Cucinotta & Vanelli, 2020). A fecha de 18 de febrero de 2021, el número de casos confirmados a nivel global es de 109.594.835 y la cifra de fallecidos se eleva hasta los 2.424.060 (*WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard*, s. f.), estableciendo una situación de alerta sanitaria sin precedentes. A los efectos directos de la pandemia sobre la salud mundial se suman los daños colaterales al propio sistema sanitario y a su gestión. Estos incluyen, entre otros, la saturación de los centros, la falta de material y personal cualificado, y la disrupción de los servicios quirúrgicos y de la atención a otros problemas de salud (detección de cáncer, atención a patologías crónicas, cirugías programadas, etc) (Søreide et al., 2020).

El impacto de la COVID-19 se ha visto reflejado principalmente en el coste humano derivado de la misma, pero también en el marco económico de la sociedad actual. Las medidas de distanciamiento social y confinamiento han provocado un cambio en la forma de consumo a nivel global, reduciendo la demanda, lo que, sumado a la ya existente crisis, ha llevado a una ralentización generalizada de la economía (Martin et al., 2020).

Con todo esto, una de las claves para poder controlar la pandemia reside en la caracterización de la enfermedad, del patógeno que la causa y de su sintomatología, para, a partir de ahí, desarrollar tanto terapias como protocolos de prevención y tratamiento de la enfermedad exitosos. Así, los esfuerzos de una gran parte de la comunidad científica se han centrado en el estudio de la respuesta inmune asociada a la COVID-19, que sigue siendo una de las principales cuestiones sin resolver, debido a la heterogeneidad de la misma entre pacientes.

Si bien la carrera por la obtención de una vacuna efectiva ha dado ya los primeros resultados favorables, esto no significa que el objetivo de despejar las numerosas incógnitas que la relación entre virus y hospedador ha suscitado haya perdido importancia. La comprensión del mecanismo de infección y de cuáles son los factores que influyen en que la respuesta por parte del sistema inmune sea una u otra es fundamental para garantizar la administración temprana de tratamientos adecuados a los pacientes contagiados con riesgo de sufrir síntomas severos y, en consecuencia, poder asegurar la supervivencia del mayor número de ellos.

Gran parte de los esfuerzos que se están realizando para que este proceso se acelere se basan en la publicación masiva de información por parte grupos de investigación a nivel mundial, estableciéndose una cooperación sin precedentes entre los mismos. Como resultado, la enorme cantidad de artículos que se pueden encontrar hoy en día en relación con la inmunología de la

enfermedad puede llegar a ser abrumadora, siendo también complicada la tarea de relacionarlos entre ellos. En concreto, los estudios centrados en el papel de la actividad del interferón de tipo I (IFN I) y su disfuncionalidad, así como en la aparición del Síndrome de Liberación de Citoquinas (CRS) en individuos que presentan casos severos de la enfermedad constituyen, a día de hoy, algunas de las líneas de investigación más prometedoras en cuanto al esclarecimiento del desarrollo y de la evolución de la COVID-19.

## 2. OBJETIVOS PLANTEADOS

Consecuentemente, este trabajo aspira a reunir los principales hallazgos en relación con los campos de dichos mecanismos moleculares asociados a la COVID-19 en una sola publicación, sirviendo además como punto de unión para la mejor interpretación de los mismos dentro del proceso inmunológico como conjunto, estableciéndose como objetivos principales del mismo:

1. Estudio de la naturaleza de los casos severos de COVID-19 asociados a diferentes disfuncionalidades en el mecanismo del IFN I.
2. Relación entre los diferentes tipos de disfuncionalidades del IFN I y el desarrollo del Síndrome de Liberación de Citoquinas (CRS) en pacientes severos de COVID-19.
3. Conocimiento de las características del CRS, marcadores biológicos y posibles complicaciones.
4. Establecimiento de los factores de riesgo asociados a casos severos de COVID-19.
5. Presentación de posibles tratamientos y protocolos a seguir durante el cuidado de dichos pacientes severos de COVID-19.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta revisión bibliográfica surgió como resultado de la necesidad de sintetizar y ordenar la creciente cantidad de publicaciones generadas en relación con la crisis de la COVID-19 y su papel en la alteración del sistema inmune de los individuos infectados. Consecuentemente, el proceso de selección de la bibliografía utilizada para su desarrollo fue una pieza clave en la elaboración de la misma.

Se realizaron búsquedas en bases de datos online tales como [PubMed](#), [Google Scholar](#), [Science Direct](#) y [bioRxiv](#), además de en numerosas revistas, entre las que destacaron [ASM's Journal of Virology](#), [Nature](#), [Science](#) y [New England Journal of Medicine](#).

En primer lugar, dichas búsquedas se centraron en artículos publicados entre finales de 2019 y los primeros meses de 2020, para recopilar las primeras informaciones que se obtuvieron con el inicio de la enfermedad (COVID-19) y cómo evolucionó hasta pandemia. Se emplearon palabras clave como “*novel coronavirus*”, “*atypical pneumonia*”, “*first reports*” y “*outbreak*” junto con varios operadores booleanos (**OR**, **AND**, **NOT**, **AND NOT**) para obtener resultados más precisos: “(*novel coronavirus OR atypical pneumonia*) **AND** (*outbreak OR first reports*)”.

A continuación, la selección bibliográfica se basó, por una parte, en recopilar publicaciones relacionadas con las epidemias previamente causadas por SARS-CoV y MERS-CoV, para adquirir mayor conocimiento de cómo se desarrollaron y de sus características, mediante términos de búsqueda como “(SARS-CoV **OR** MERS-CoV) **AND** (*epidemic OR structure OR pathogenesis*)”. Por otra parte, se buscó información a nivel estructural y de composición del nuevo coronavirus

(SARS-CoV-2), para así poder compararla con la adquirida de los dos coronavirus previamente mencionados. En este caso, los términos de búsqueda utilizados fueron “(SARS-CoV-2 **OR** COVID-19) **AND** (*structure OR proteins OR receptor*)” y “ACE-2 **AND** (RBD **OR** *angiotensin II*)” entre otros.

Seguidamente, la estructuración pasó a estar centrada en la respuesta inmune asociada a SARS-CoV-2, ampliándose la información a partir de los artículos ya recopilados por medio de nuevas búsquedas (por ejemplo “COVID-19 **AND** (*immune response OR immune system*)”). Para cada uno de los apartados establecidos, el criterio de búsqueda se basó en palabras clave como en el caso de la tormenta de citoquinas “(cytokine storm **OR** Cytokine Release Syndrome **OR** CRS) **AND** (*interleukin OR IL OR ...*) o del interferón “interferon type I **AND** (*impaired response OR autoantibodies OR inborn errors*)”, entre otras.

Atendiendo a los criterios de selección de las publicaciones, para aquellas relacionadas directamente con el SARS-CoV-2, se aceptaron artículos publicados desde principios de 2020 hasta la actualidad, coincidiendo con el desarrollo de la pandemia y, por tanto, de su estudio, priorizando aquellos que fuesen más recientes. En cuanto al resto de publicaciones, se admitieron aquellas publicadas con anterioridad a las fechas previamente mencionadas. En ambos casos, y también debido a la actualidad del asunto tratado en esta revisión, todos los datos recopilados fueron contrastados con bibliografía reciente en el momento que fueron redactados para evitar la posible presencia de información obsoleta.

#### **4. PROPIEDADES DE SARS-COV-2**

##### **4.1. TAXONOMÍA**

La familia de virus de RNA Coronaviridae está compuesta por dos subfamilias, llamadas Orthocoronavirinae y Torovirinae. La primera de estas, a su vez, se divide en cuatro géneros:  $\alpha$ -coronavirus,  $\beta$ -coronavirus,  $\gamma$ -coronavirus y  $\delta$ -coronavirus (Tufan et al., 2020). El genoma del 2019-nCoV mostró una similitud del 82% con el del coronavirus humano del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV), perteneciente a los  $\beta$ -coronavirus. Esta semejanza llevó a que el virus fuese agrupado en dicho género y a que comenzara a conocerse como SARS-CoV-2 (Chan et al., 2020). A su vez, el MERS-CoV, causante del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio, también forma parte de este género de coronavirus.

Generalmente, los coronavirus en humanos tienden a evolucionar hacia infecciones respiratorias leves, sin embargo, tanto SARS-CoV como MERS-CoV dieron lugar epidemias (desarrolladas a lo largo de las últimas dos décadas) caracterizadas por síndromes respiratorios graves. Pese a que este ha sido también el caso del SARS-CoV-2, el virus causante de la COVID-19 difiere de los dos anteriores de forma significativa en lo que a la epidemiología respecta: por un lado, MERS-CoV y SARS-CoV presentan tasas bajas de transmisión y altas de letalidad, mientras que en el caso del SARS-CoV-2, la transmisión es notablemente alta y la mortalidad, si bien no ha podido ser totalmente definida a nivel mundial todavía, es más baja en comparación (García, 2020).

Aun habiéndose establecido ciertas diferencias entre estos coronavirus, se espera que la experiencia obtenida como resultado de las dos epidemias previamente mencionadas pueda servir como guía a la hora de enfrentarse a la pandemia de COVID-19, por lo que los estudios y trabajos relacionados tanto con SARS-CoV como con MERS-CoV han pasado a ser una importante fuente de referencia a día de hoy (M.-Y. Zhou et al., 2020).

## 4.2. COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA

SARS-CoV-2 es un virus de RNA monocatenario positivo (+ssRNA), con un genoma de aproximadamente 30Kbp. Tiene una morfología esférica, con un diámetro de entre 80 y 120 nm ([Figura 1A](#)) (García, 2020) y su estructura se basa en la producción de proteínas no estructurales (NSPs) a partir de 2 ORFs (*opening reading frames*): ORF1a y ORF1b. ORF1a es el primero de estos, y su expresión da lugar a una poliproteína, compuesta a su vez por 11 NSPs, mientras que el polipéptido resultante de la traducción de ORF1b da lugar a 15 NSPs. Las funciones de estas proteínas no estructurales varían desde la generación de autofagosomas (NSP6) hasta aquellas que dirigen la síntesis y el procesamiento de su RNA, como la polimerasa (NSP12) y la helicasa (NSP13) (Snijder et al., 2016; Yoshimoto, 2020). Por otra parte, también se producen 9 tipos de RNA subgenómico (sgRNA), a partir de los cuales se codifica un total de 5 proteínas accesorias (3a, 6, 7a, 7b, 8), entre las que destaca ORF3a, una proteína de canal iónico relacionada con la activación del inflamósoma por medio de NLRP3 y a las proteínas estructurales típicas de CoVs, como son las proteínas de nucleocápside (N), envuelta (E), membrana (M) y espículas (S) (Kim et al., 2020) ([Figura 1A](#)).

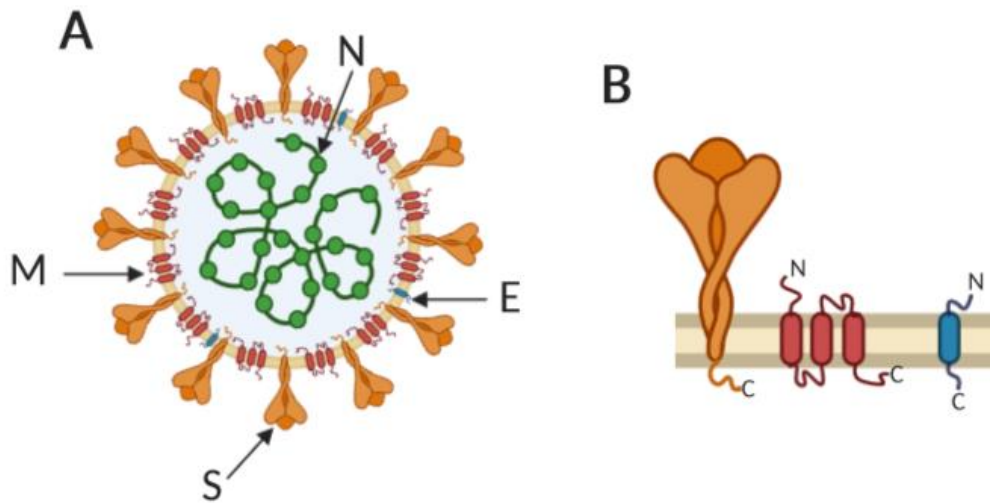
Sin embargo, además de la existencia de los ya mencionados sgRNAs expresados por el virus, se ha demostrado la presencia de numerosos transcritos no canónicos, resultado de diferentes eventos de splicing alternativo en el genoma del virus. Si bien estos pueden ser productos no funcionales del complejo proceso de síntesis de RNA viral del SARS-CoV-2, esta gran frecuencia de recombinación a la que se ven sometidos generalmente los RNAs de CoVs puede ser clave para determinar el porqué de la rápida evolución del virus (Kim et al., 2020).

En relación a las proteínas estructurales de SARS-CoV-2, la proteína N es la mejor conservada entre los distintos tipos de CoVs, por lo que suele ser utilizada como antígeno para el diagnóstico de los mismos (P. Zhang et al., 2020). La componen un dominio amino-terminal (N-terminal) y una cola carboxi-terminal (C-terminal), ambos unidos al RNA viral para formar la nucleocápside helicoidal, aportando estabilidad ([Figura 1B](#)) (Tufan et al., 2020; Yoshimoto, 2020). Por otra parte, la proteína E es una pequeña proteína integral de membrana, con un ectodominio N-terminal, un dominio transmembrana y un endodominio C-terminal ([Figura 1B](#)), que desempeña numerosas funciones en el ciclo replicativo del virus, además de tener cierta actividad como canal iónico (Ruch & Machamer, 2012). Además, está implicada en la respuesta inmune asociada al interferón de tipo I, ya que regula positivamente la producción de NF-κB (Acharya et al., 2020).

La proteína M o proteína de membrana presenta un ectodominio N-terminal, tres dominios transmembrana y un endodominio C-terminal, siendo la glicoproteína más abundante en el virión ([Figura 1A](#)). Aporta al virus su morfología esférica característica, participa en su ensamblaje mediante una interacción con la proteína N y se ha demostrado que juega un cierto papel en la inducción de la apoptosis (Yoshimoto, 2020).

Finalmente, la glicoproteína trimérica S se encuentra en la envuelta externa de la partícula vírica y está formada por dos subunidades S1 (N-terminal) y S2 (C-terminal). Es la proteína estructural de CoVs más estudiada ya que, en su subunidad S1 se encuentra el dominio de unión al receptor, conocido por sus siglas en inglés RBD (*receptor binding domain*). A su vez, el RBD está compuesto por dos subdominios, uno de los cuales (el externo) cuenta con dos loops en su superficie,

responsables de la unión al receptor de la célula hospedadora, en el caso del SARS-CoV-2, el ACE2 (*angiotensin converting enzyme 2*) (Z. Liu et al., 2020).



**Figura 1.** Estructura del SARS-CoV-2. (A) Representación gráfica de la morfología y organización del virus, con las distintas proteínas estructurales señaladas como nucleocápside (N), envuelta (E), membrana (M) y espículas (S). (B) Vista detallada de las proteínas (de izquierda a derecha) S, M y E del virión. Los extremos amino-terminales se indican con la letra N, mientras que aquellos carboxi-terminales con la letra C (Figura modificada de Ruch & Machamer, 2012).

### 4.3. ACE2 Y ENTRADA A LA CÉLULA HUÉSPED

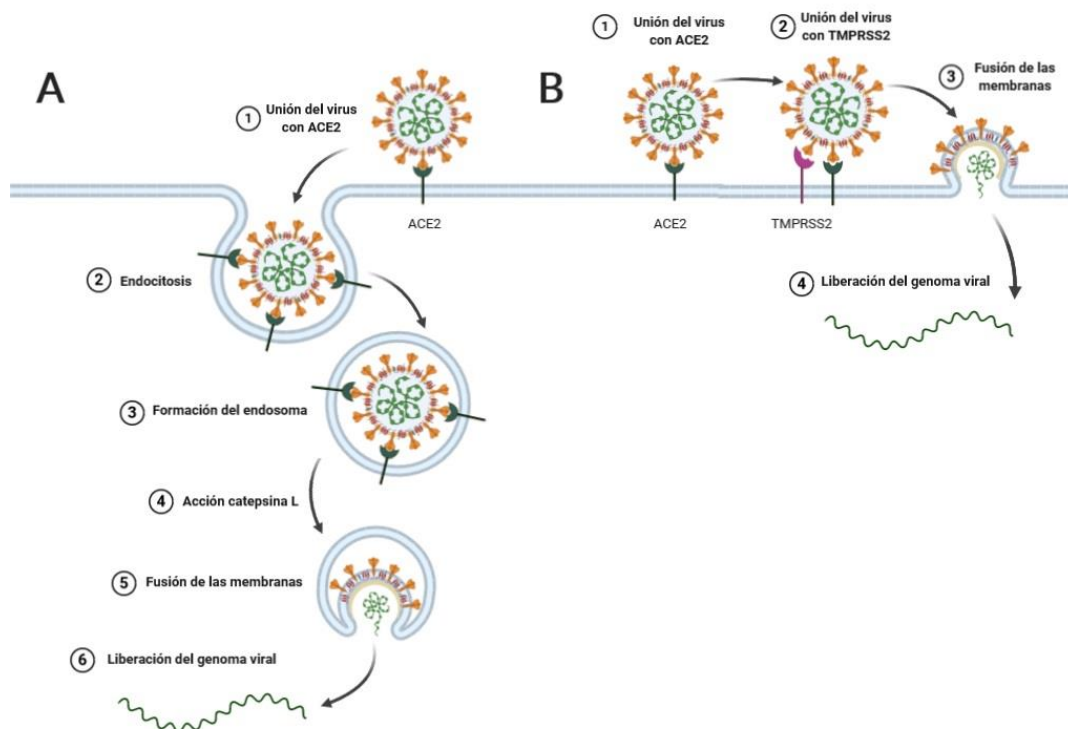
ACE2 es una proteína integral de membrana de tipo I, compuesta por 805 aminoácidos y que cuenta con un único dominio catalítico, llamado PD (*peptidase domain*). Es un potente regulador negativo del Sistema Renina-Angiotensina, conocido por sus siglas en inglés como RAS, encargado de mantener la homeostasis tanto de la presión sanguínea como del equilibrio entre fluidos y sales, siendo su función indispensable para la regulación de órganos como riñones y pulmones, entre otros (Yanwei Li et al., 2020). Si bien ACE2 puede encontrarse en numerosos tejidos, cabe destacar que es significativamente abundante en neumocitos de tipo II. Este tipo celular forma parte de los alveolos, en los que se produce el intercambio de oxígeno. Por lo tanto, dichos alveolos se convierten así en una de las dianas principales de acción del SARS-CoV-2.

Una de las funciones principales de ACE2 en el contexto de RAS reside en la regulación, por diferentes mecanismos, de los fenómenos de vasoconstricción e inflamación, mediados por la angiotensina II (Ang II), el principal péptido efector de dicho sistema. En primer lugar, ACE2 compete con ACE (*angiotensin-converting enzyme*) para hidrolizar moléculas de angiotensina I (Ang I) para dar lugar a Ang (1-9) o a Ang II, respectivamente. Así, ACE2 disminuye la cantidad de Ang I disponible para ser transformada en Ang II. En segundo lugar, ACE2 también hidroliza tanto Ang (1-9) como Ang II para dar Ang (1-7), con capacidad vasodilatadora y efectos antiinflamatorios, es decir, antagonista de Ang II. Con esto no sólo consigue disminuir la concentración de Ang II, sino también contrarrestar su actividad. Así, cuando SARS-CoV-2 ocupa el receptor ACE2, impide que este pueda llevar a cabo su función de forma correcta, lo cual puede desembocar en consecuencias muy negativas, como puede ser causar una inflamación descontrolada y, por tanto, daños tisulares (Esakandari et al., 2020).

Tanto la interacción con ACE2 como la fusión de la membrana del virus con la de la célula huésped están mediadas por la glicoproteína S. El RBD, contenido en la subunidad S1, se une

directamente al PD de ACE2 con una constante de disociación ( $K_D$ ) de ~15 nM, mientras que la subunidad S2 juega un papel muy importante en la fusión. La proteína trimérica S de SARS-CoV-2 presenta una particularidad y es que se escinde de forma consecutiva en dos sitios de clivaje diferentes. La primera escisión, que ocurre en el sitio de clivaje de furina conocido como S1/S2, prepara a la proteína para que ambas subunidades puedan actuar, permitiendo la interacción entre RBD y PD (Figura 2). Sin embargo, la unión del virus a ACE2 no es suficiente para que se produzcan los cambios conformacionales necesarios en S2 para que lleve a cabo la fusión de las membranas. Por esta razón, el virus se introduce en la célula huésped formando un endosoma (Figura 2A), dentro del cual actúa la cathepsina L sobre el segundo sitio de clivaje, S2', desencadenando, entonces sí, la fusión de las membranas y la posterior liberación del virus al citoplasma de la célula huésped (Z. Liu et al., 2020).

Sin embargo, en presencia de la proteasa TMPRSS2 (*transmembrane protease serine 2*) (Figura 2B) expresada en la superficie de la célula huésped simultáneamente con ACE2, la primera podría actuar sobre S2' directamente tras la unión del virus con su receptor, produciéndose la fusión de las membranas sin necesidad de la formación de endosomas, presentándose así diferentes mecanismos de entrada a la célula por parte de SARS-CoV-2 (García, 2020; Paces et al., 2020; Simmons et al., 2013).



**Figura 2. Mecanismos de entrada de SARS-CoV-2 a la célula hospedadora.** (A) Entrada por endocitosis, en la cual destaca la unión del virión con el receptor ACE2, formándose un endosoma sobre el que actúa la cathepsina L para que se dé la fusión de membranas. (B) Entrada directa mediada por la interacción del virus con ACE2 y TMPRSS2, liberándose el genoma viral sin necesidad de la formación de endosomas (Figura modificada de Simmons et al, 2013).

#### 4.4. TRANSMISIÓN

La transmisión de diferentes tipos de virus respiratorios entre individuos se produce de numerosas formas, si bien en todas ellas están presentes las llamadas gotículas respiratorias. Según su tamaño, estas pueden ser clasificadas en gotículas grandes (algunas de las cuales son



visibles), que caen rápidamente tras haber sido secretadas; o en gotículas pequeñas y partículas, que pueden permanecer suspendidas en el aire durante largos periodos de tiempo. El tamaño crítico que diferencia entre gotículas grandes y pequeñas, o dicho de otra forma, el tamaño a partir del cual ocurre la precipitación de las gotículas, se establece alrededor de los 100µm, si bien puede variar entre 50-150µm según la temperatura y la humedad a la que estén expuestas (Mittal et al., 2020). De esta forma, se distinguen tres tipos de transmisión:

- Transmisión por contacto: que puede ser directo con un individuo infectado o indirecto, por medio de un objeto cuya superficie esté contaminada.
- Transmisión por gotículas: por exposición a gotículas grandes que contienen el virus, dándose en distancias cortas.
- Transmisión por aerosoles (*airborne transmission*): se produce a través de pequeñas gotículas y partículas, por lo que se puede dar a mayores distancias (CDC, 2020).

A día de hoy, existe evidencia de detección de material genético de SARS-CoV-2 en frotis conjuntivos, anales y guturales, además de en muestras de sangre, heces y orina de pacientes infectados. Las secreciones y excreciones corporales de estos individuos pueden ser aerosolizadas de varios modos para dar lugar a gotículas que contengan el virus. Por ejemplo, las secreciones respiratorias pueden aerosolizarse por medio de actividades rutinarias como hablar, estornudar, o toser. Por otra parte, el accionamiento de la cisterna de un inodoro puede llevar a la aerosolización a partir de excreciones. Además, el material vírico que haya podido depositarse en superficies inertes por medio de procesos como los anteriores puede reaerosolizarse sin perder su capacidad infectiva (Esakandari et al., 2020; Tang et al., 2020).

Si bien es cierto que la transmisión de SARS-CoV-2 por aerosoles puede darse bajo ciertas circunstancias (en lugares cerrados, con exposición prolongada a las partículas y/o con ventilación inadecuada), la información disponible hasta el momento indica que los contagios de COVID-19 se han dado en mayor medida por medio de transmisión por gotículas (que entran al organismo vía inhalación de las mismas, ya sea por boca o nariz), es decir, en rangos de distancias bajas (CDC, 2020; Shereen et al., 2020).

Igualmente, no hay que ignorar que gran parte de los infectados por SARS-CoV-2 acaban siendo asintomáticos, pero esto no significa que dichos individuos no puedan transmitir el virus. Se cree que la presencia de altos niveles del virus en el tracto respiratorio superior pueda ser la razón por la cual la transmisión asintomática es tan efectiva. Además, esta transmisión asintomática revela que, en algunos individuos, el virus se replica a un nivel adecuado para poder ser transmitido a otra persona, pero sin provocar suficientes daños a nivel tisular en el hospedador para que se desencadene una respuesta inmune en este (Pirofski & Casadevall, 2020).

En cuanto a la posibilidad de una transmisión vertical de la COVID-19, esta es baja, pero no inexistente. Recientemente, un estudio de Kotlyar et al. (2020) sobre 936 neonatos de madres infectadas por SARS-CoV-2 en el tercer trimestre del embarazo afirmó que en un 3,2% de los mismos se había detectado RNA viral por medio de frotis nasofaríngeos realizados durante las primeras 48 horas tras el parto. No se detectaron complicaciones o consecuencias significativas derivadas de dicha infección en los recién nacidos, sin embargo, todavía no hay suficiente evidencia del posible pronóstico en los casos de mujeres contagiadas durante los primeros meses de embarazo (Kotlyar et al., 2020)

Cabe destacar el papel fundamental que han tenido los modelos matemáticos predictivos para el estudio de la dinámica de transmisión de la COVID-19, ya que han permitido desde un primer momento comprender cómo de transmisible era la enfermedad, vaticinar su gravedad y estimar los posibles futuros escenarios de la pandemia, para así poder establecer medidas adecuadas para su contención (Samui et al., 2020).

## 5. INTERFERÓN DE TIPO I (IFN I) Y COVID-19

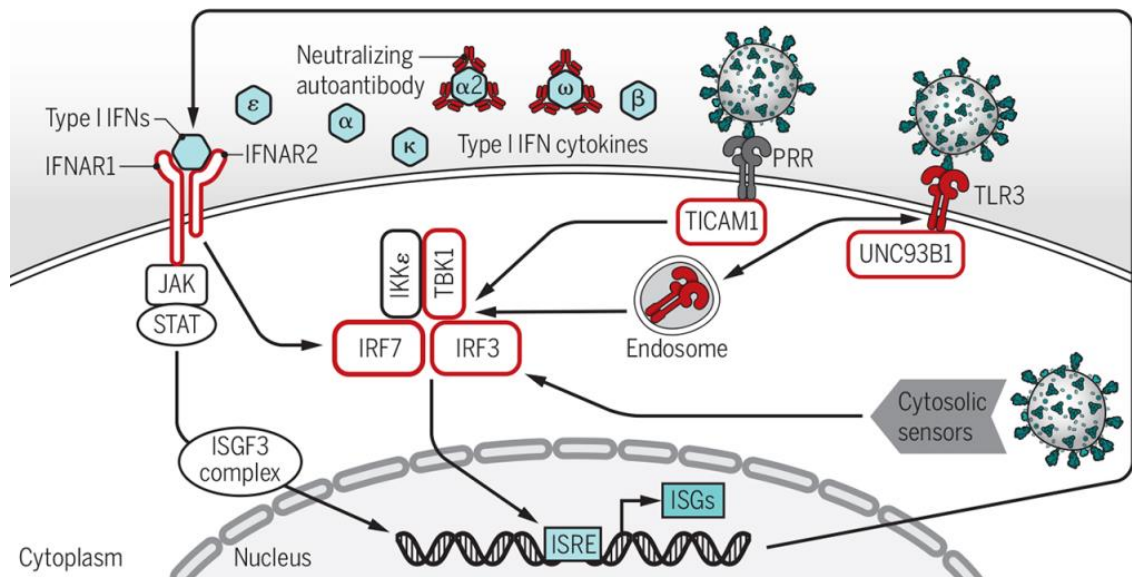
Los interferones (IFNs) se definen como un tipo de citoquinas producidas en respuesta a infecciones causadas por agentes virales o microbianos, o para la regulación de procesos inflamatorios, entre otros. Su papel en el proceso de la respuesta inmune y la eliminación del patógeno se basa en su capacidad para inhibir la replicación del mismo, de forma inespecífica, por medio de la inducción de un estado antiviral en las células hospedadoras.

Los interferones de mamíferos, y, concretamente los de humanos, se subdividen a su vez en tres familias diferentes (INFs I, II y III), atendiendo a la homología de sus secuencias aminoacídicas y a los receptores con los que se asocian. Los IFNs de tipo I en humanos están compuestos por 13 subtipos diferentes de IFN- $\alpha$  y un único subtipo de IFN- $\beta$  (además de algunos otros subtipos como son IFN- $\omega$ , IFN- $\kappa$  e IFN- $\epsilon$ ) y sus genes se encuentran en el cromosoma humano 9. Pueden ser secretados por la mayoría de los tipos celulares y su receptor es conocido como IFNAR. La familia de interferones de tipo II la forma un único producto génico, IFN- $\gamma$ , cuyos genes están localizados en el cromosoma humano 12. Su receptor es el IFN $\gamma$ R y es producido por células *natural killer* (NK) y T activadas. Por último, IFN- $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2 y  $\lambda$ 3 (conocidos como IL-29, IL-28A e IL-28B, respectivamente) y el recientemente identificado IFN- $\lambda$ 4 son los llamados interferones de tipo III. Estos interactúan con el receptor IFNLR, cuya expresión se restringe principalmente a células de superficies epiteliales, y sus genes forman un clúster en el cromosoma humano 19 (Prokunina-Olsson, 2019).

### 5.1. PRODUCCIÓN DE IFN I EN RESPUESTA INMUNE

La producción de INF- $\alpha/\beta$  (IFN I) se asocia al reconocimiento de los diferentes patógenos por medio de receptores conocidos como PRRs (*pattern-recognition receptors*), que se encuentran en las superficies celulares, en el citosol o en compartimentos endosomales (Beck & Aksenitjevich, 2020). Algunos de los principales son RIG-I y MDA5, que reconocen RNA, y los TLRs (*Toll-like receptors*). De estos últimos, cabe mencionar varios como TLR4, que se encuentra en la superficie celular y reconoce lipopolisacáridos bacterianos, o TLR7 y TLR8, que están localizados en compartimentos endosomales y responden a RNA de cadena simple. El reconocimiento de estos diferentes patrones moleculares puede llevar a desencadenar numerosas vías de señalización, convergiendo estas en moléculas clave, como son la familia de los factores de regulación de IFN (IRFs), que activan la transcripción de los genes que codifican INF- $\alpha/\beta$ , y entre los cuales destacan IRF3 e IRF7. Ambos son fosforilados por las quinasas IKKe (*I $\kappa$ B kinase- $\epsilon$* ) y TBK1 (*TANK-binding kinase 1*), que además están implicadas en la activación de NF- $\kappa$ B (Figura 3). La primera oleada de transcripción recae sobre IRF3, y el resultado de la misma desencadena, a su vez, la transcripción tanto de IRF7 por medio de un feedback positivo, como de más genes codificantes para INF- $\alpha/\beta$  (McNab et al., 2015).

La activación de la respuesta celular derivada de los INF I ocurre por medio de la unión de los mismos a IFNAR, un receptor de alta afinidad situado en la superficie celular y que está formado por dos subunidades proteicas transmembrana, denominadas IFNAR1 e IFNAR2, cada una de las cuales lleva a cabo ciertas funciones dentro de la unión con el ligando (Pan et al., 2008). Tras la asociación con IFNAR, se activa la ruta de señalización adecuada, como puede ser la de Jak/STAT, que acaba desembocando en la transcripción de los genes asociados a la respuesta inmune necesaria. Finalmente, y en el caso de las infecciones causadas por virus, esto puede llevar a la interferencia en el ciclo de replicación viral tanto en células infectadas como en aquellas próximas a estas que aún no han sido afectadas por el virus, estableciéndose la acción antiviral, antiproliferativa e inmunomoduladora de INF I. De esta forma, el tipo de respuesta mediada por interferones que ocurre se ve afectada por diferentes condiciones, que varían según el tipo de infección o desequilibrio al que se tenga que hacer frente (Weerd et al., 2020).



**Figura 3.** Ruta de señalización de IFN I. Esquematación de la producción y cascada de señalización de la respuesta inmune mediada por IFN I (Beck & Aksentijevich, 2020).

## 5.2. ERRORES EN LA INDUCCIÓN DE INF-I ASOCIADOS A CASOS SEVEROS DE COVID-19

Los interferones actúan como puente de unión entre el sistema inmune innato y el adaptativo, por lo que son muy necesarios para la activación y el funcionamiento de varios tipos celulares. Sin embargo, han sido numerosos los estudios en los que se han detectado o bien cantidades muy bajas de IFN tipo I en el plasma de pacientes que sufren COVID-19 severo, o bien una ralentización significativa en su producción, en comparación con los que presentan síntomas moderados, lo cual contrasta con lo que cabría esperar de una respuesta inmune habitual frente a una infección viral. Además, se han detectado niveles bajos de IFN I previamente a que se diese un fallo respiratorio en el individuo, y acabaron demostrando estar asociados a un posterior empeoramiento de la enfermedad (Hadjadj et al., 2020). Esta visible alteración en la secreción de IFN I provoca que no exista un control inicial sobre la replicación del virus tras la infección, por lo que la carga viral aumenta de manera exponencial en el organismo hospedador. Como consecuencia de la disfuncionalidad del IFN I, el sistema inmune debe hacer frente a una cantidad de virus exacerbada, imposibilitando la eliminación del mismo por medio de una respuesta inmune dentro de los niveles corrientes. Así, ocurre una hiperactivación inmunológica

para intentar contrarrestar los elevados niveles de carga viral por medio de la liberación masiva de citoquinas, resultando en el conocido por sus siglas en inglés como CRS (*Cytokine release syndrome*), o tormenta de citoquinas, cuyos desarrollo, mecanismo de acción y consecuencias se tratarán en apartados posteriores de esta revisión (Acharya et al., 2020).

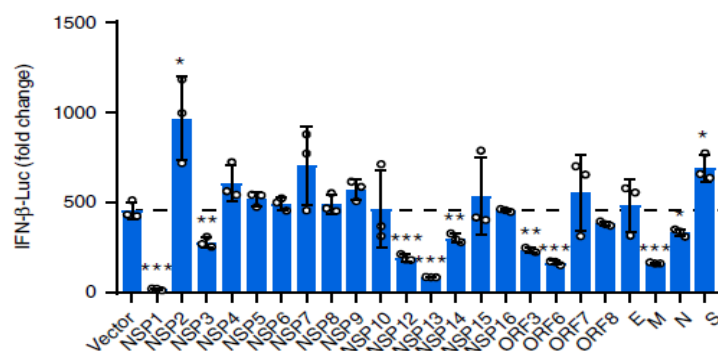
Esta desregulación de la respuesta inmune del IFN I es uno de los principales campos de estudio actualmente, ya que su correlación con la severidad de la enfermedad es más que evidente. Sin embargo, las hipótesis sobre cuáles son las causas que la provocan siguen siendo muy numerosas. A continuación, se tratarán algunas de las investigaciones más prometedoras con las que se cuenta hoy en día.

### 5.2.1. RETRASO Y EVASIÓN DE LA INDUCCIÓN DE INF I: IMPLICACIONES

El reconocimiento de las partículas virales por medio de los receptores de las células hospedadoras es considerado uno de los primeros mecanismos de protección frente al virus con los que cuenta el organismo. De esta forma, la evasión exitosa del mismo supone una parte esencial para la replicación viral. Numerosos patógenos han sido estudiados por haber desarrollado formas de escapar del reconocimiento inmune y, a la vez, suprimir funciones celulares como la señalización IFNs, entre ellos SARS-CoV y MERS-CoV (Park & Iwasaki, 2020).

Lei et al. (2020) centraron sus esfuerzos en el papel de las diferentes proteínas virales del virus causante de la COVID-19 en la disfunción de la respuesta inmune asociada a IFN I. En primer lugar, observaron que, 12 horas después de la infección por SARS-CoV-2 (*hpi, hours post-infection*), la inducción de la expresión de IFN- $\beta$  e ISGs (*interferon stimulated genes*) era anormalmente baja, pero que sufría un aumento muy notable a las 24 hpi. Es decir, SARS-CoV-2 provoca una producción de IFN significativa, pero de forma retardada.

En cuanto a la interferencia de proteínas virales de SARS-CoV-2 en la activación de IFN- $\beta$ , se estudiaron los efectos de las proteínas no estructurales NSP1-10 y NSP12-16, las proteínas estructurales S, E, M y N y de las proteínas accesorias codificadas por los genes ORF3, ORF6, ORF7a y ORF8 (Figura 4). El resultado más significativo fue el relacionado con ORF6, ya que se demostró que inhibía tanto la activación de IRF3 (y, por tanto, la producción de IFN- $\beta$ ), como la cascada de señalización desencadenada por la unión de dicho IFN I con su receptor, por medio de la supresión de la translocación del citoplasma al núcleo de STAT1. Además, las proteínas virales NSP1, ORF3b, M y N, entre otras, presentaron también un papel como antagonistas de



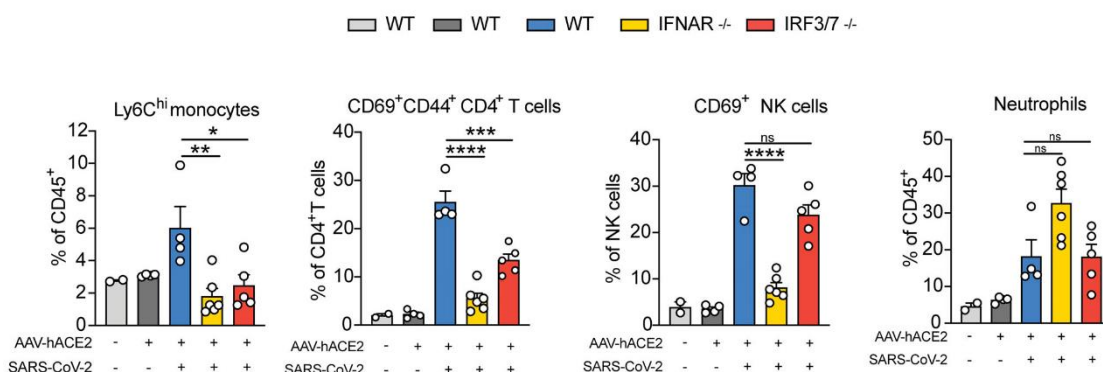
**Figura 4. Efecto de las proteínas virales de SARS-CoV-2 en la producción de IFN- $\beta$ .** Las células HEK293T se transdujeron con un plásmido reportero para IFN-beta (pIFN- $\beta$ -Luc) y o bien un plásmido control o uno que expresase la proteína viral adecuada, midiéndose luego la actividad luciferasa (Lei et al., 2020).

IFN I, mientras que, sorprendentemente, NSP2 y S estimularon la inducción del mismo (Lei et al., 2020).

De la misma manera, se ha podido determinar que la interacción entre NSP6 y TBK1 provoca una reducción en la fosforilación de IRF3, mientras que NSP13 inhibe directamente la fosforilación de TBK1. Asimismo, las fosforilaciones de STAT1 y STAT2 se ven suprimidas por NSP1, NSP6, ORF3a, ORF7a, ORF7b y M (Xia et al., 2020).

Siguiendo en esta línea de pensamiento, y para evaluar las posibles consecuencias de una respuesta tardía de IFN I, un estudio de Israelow et al. (2020) optó por desarrollar un modelo de ratón en el que observar en profundidad los mecanismos moleculares implicados en la respuesta inmune asociada a la COVID-19. Los ratones no son susceptibles a dicho SARS-CoV-2 humano, debido a que no se produce una asociación entre el virus y los receptores ACE2 de las células hospedadoras del animal, por lo que, para utilizar este modelo, se transdujo el ACE2 humano (hACE2) mediante un vector de virus adenoasociado (AAV) de forma intratraqueal. En contraposición, estudios posteriores han demostrado que otras variantes del virus (B1.351 y P.1) diferentes a la inicial sí son capaces de infectar ratones como resultado de haber sufrido cambios en posiciones clave del RBD (Montangutelli et al., 2021). Tras dos semanas en las que se permitió que hACE2 se expresase adecuadamente en los pulmones de los ratones, estos fueron infectados con SARS-CoV-2, para luego ser utilizados en el estudio de la respuesta inmune frente al virus, tanto a nivel pulmonar como a nivel sistémico. Así, se estudió el papel de la señalización de IFN I en ratones knock-out para IRF3, IRF7 e IFNAR.

En primer lugar, se pudo observar que la infección de SARS-CoV-2 indujo de forma considerable la expresión de ISGs en los ratones que habían sido transducidos con el hACE2, en comparación con los controles. Por otro lado, fue muy significativo el hecho de que en la mayoría los ratones con deficiencia de IRF3/7 e IFNAR no se había producido infiltración pulmonar de monocitos inflamatorios, células T ni NK. Así, se pudo asumir que la infiltración de leucocitos que se había observado en los ratones WT (wild type) era realmente una consecuencia directa de la señalización del IFN I, ya que muchos de los ISGs inducidos por esta eran citoquinas esenciales para su reclutamiento masivo. Además, cabe destacar que los neutrófilos presentaron un fenotipo diferente en los ratones knock-out de IFNAR, siendo reclutados incluso en mayor medida, en comparación con los WT (Figura 5).



**Figura 5. Niveles de infiltración pulmonar dependiente de IFN I en ratones knock-out para IRF3, IRF7 e IFNAR tras la infección con SARS-CoV-2.** Se realizaron single-cell suspensions de los pulmones de los ratones knock-out para IFNAR (amarillo) e IRF3/7 (rojo) para una posterior citometría de flujo, estableciéndose además 3 controles: WT gris claro (ratones sin hACE2 y no infectados con SARS-CoV-2), WT gris oscuro (ratones con hACE2 y no infectados con SARS-CoV-2) y WT azul (ratones con hACE2 e infectados con SARS-CoV-2) (Israelow et al., 2020).

Por lo tanto, si bien es cierto que la respuesta inmune de IFN I resulta en el bloqueo de la replicación viral, un posible retraso en la misma no sólo no lo conseguiría, sino que también provocaría una respuesta tardía exacerbada. Como consecuencia, provocaría la expresión masiva de citoquinas proinflamatorias, que pueden llevar a una infiltración pulmonar leucocitaria, indicando el posible papel patológico de la señalización retrasada de IFN I en la COVID-19 (Israelow et al., 2020).

### 5.2.2. DEFECTOS GENÉTICOS EN LOCIS RELACIONADOS CON INDUCCIÓN DE INF I

La hipótesis de que ciertos errores genéticos innatos en la respuesta inmune (IEIs, *inborn errors of immunity*) mediada por IFN I pudiesen ser la causa de algunos casos de COVID-19 críticos surge como resultado de los estudios que comenzaron hace años sobre neumonías severas causadas por el virus de la influenza (Q. Zhang, 2020). Estas investigaciones se centraron en niños contagiados que, sin haber presentado complicaciones frente a otros tipos de infecciones, pero sí frente a la influenza, tenían errores innatos en TLR3, IRF9 e IRF7. Estos errores, en presencia del virus, provocaron una deficiencia en la producción de IFN I y III, lo que les hizo acabar desarrollando un cuadro clínico crítico (Ciancanelli et al., 2015).

En este contexto, iniciativas como la del COVID Human Genetic Effort (*COVID HUMAN GENETIC EFFORT*, s. f.) establecieron los cimientos para investigar las bases genéticas de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2, teniendo en cuenta que la situación permitió el estudio a gran escala de pacientes recién infectados, con una interferencia mínima de vacunas o de los efectos de una inmunidad de rebaño. Así, se comenzaron a reclutar principalmente, pero no de forma exclusiva, pacientes jóvenes (menos de 50 años), con COVID-19 crítico y sin patologías previas, para que sus genomas fuesen analizados (Casanova et al., 2020).

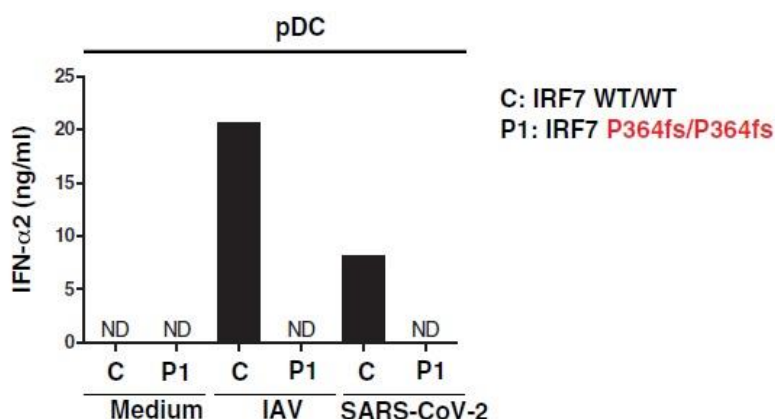
En el estudio llevado a cabo por Zhang et al. (2020), se secuenció o bien el genoma completo o el exoma de 3500 individuos, de entre los cuales 659 habían sido hospitalizados por neumonías severas asociadas a COVID-19. El rango de edades varió entre 1 mes y 99 años, mientras que un 74,5% fueron hombres, frente a un 13,9% de mujeres. Si bien se partió de la base establecida por los estudios con influenza, testando los locis de TLR3, IRF7 e IRF9, se añadieron 10 candidatos más al estudio, que formaban parte tanto de la ruta de inducción de IFN I dependiente de TLR3 (TICAM1/TRIF, UNC93B1, TRAF3, TBK1, IRF3 y NEMO/IKBKG) como de la dependiente de IRF7 y 9 (IFNAR1, IFNAR2, STAT1 y STAT2). 24 variantes en 8 de estos genes resultaron en pérdidas de función o pérdidas de expresión y fueron detectadas en 23 pacientes de los 659 que tomaron parte en el estudio, siendo estas 4 deficiencias autosómicas recesivas (AR) y 19 autosómicas dominantes (AD) ([Tabla 1](#)). Es decir, aproximadamente un 3,5% de los pacientes que presentaban una sintomatología severa de COVID-19 sufrían de una deficiencia en uno de los 8 loci de los 13 analizados (Ciancanelli et al., 2015; Q. Zhang et al., 2020).

**Tabla 1.** Variantes causantes de la enfermedad identificadas en pacientes con COVID-19 severo (Zhang et al., 2020).

Gene	Inheritance	Genetic form	Genotype	Gender	Age [years]	Ancestry/residence	Outcome
TLR3	AD	Known	p.Ser339fs/WT	M	40	Spain	Survived
TLR3	AD	Known	p.Pro554Ser/WT	M	68	Italy	Survived
TLR3	AD	Known	p.Trp769*/WT	M	77	Italy	Survived
TLR3	AD	Known	p.Met870Val/WT	M	56	Colombia/Spain	Survived
UNC93B1	AD	New	p.Glu96*/WT	M	48	Venezuela/Spain	Survived
TICAM1	AD	Known	p.Thr41le/WT	M	49	Italy	Survived
TICAM1	AD	Known	p.Ser60Cys/WT	F	61	Vietnam/France	Survived
TICAM1	AD	Known	p.Gln392Lys/WT	F	71	Italy	Deceased
TBK1	AD	Known	p.Phe24Ser/WT	F	46	Venezuela/Spain	Survived
TBK1	AD	Known	p.Arg308*/WT	M	17	Turkey	Survived
IRF3	AD	Known	p.Glu49del/WT	F	23	Bolivia/Spain	Survived
IRF3	AD	Known	p.Asn146Lys/WT	F	60	Italy	Survived
IRF7	AR	Known	p.Pro364fs/p.Pro364fs	F	49	Italy/Belgium	Survived
IRF7	AR	Known	p.Met371Val/p.Asp117Asn	M	50	Turkey	Survived
IRF7	AD	New	p.Arg71s/WT	M	60	Italy	Survived
IRF7	AD	New	p.Gln185*/WT	M	44	France	Survived
IRF7	AD	New	p.Pro246fs/WT	M	41	Spain	Survived
IRF7	AD	New	p.Arg369Gln/WT	M	69	Italy	Survived
IRF7	AD	New	p.Phe95Ser/WT	M	37	Turkey	Survived
IFNAR1	AR	Known	p.Trp73Cys/Trp73Cys	M	38	Turkey	Survived
IFNAR1	AR	Known	p.Ser422Arg/Ser422Arg	M	26	Pakistan/Saudi Arabia	Deceased
IFNAR1	AD	New	p.Pro335del/WT	F	23	China/Italy	Survived
IFNAR2	AD	New	p.Glu140fs/WT	F	54	Belgium	Survived

Se realizaron, entonces, experimentos para comprobar las clases de respuestas inmunes asociadas a IFN I que ocurrían en distintos tipos celulares de pacientes con algunas de estas deficiencias durante una infección con SARS-CoV-2. Se demostró que, en el contexto de la inmunidad innata, si bien no había variaciones excesivamente significativas en la cantidad de células dendríticas plasmocitoides (pDCs) presentes en pacientes con una deficiencia AR en IRF7, estas no producían cantidades detectables de IFN- $\alpha$  al ser infectadas con SARS-CoV-2 (Figura 6). También se infectaron estas células con el influenzavirus A, obteniéndose resultados análogos.

El IFN I juega también un papel muy importante en lo que se conoce como inmunidad intrínseca. Este tipo de respuesta inmune ha sido desarrollada por medio de organismos complejos a lo largo del tiempo con el objetivo de prevenir o reprimir infecciones virales por medio de un conjunto de genes que se expresan de forma constitutiva en el hospedador. Así, parte de los efectos que se le atribuyen a la inducción del IFN en presencia de un virus han sido observados previamente a dicha infección (B. C. Liu et al., 2018).

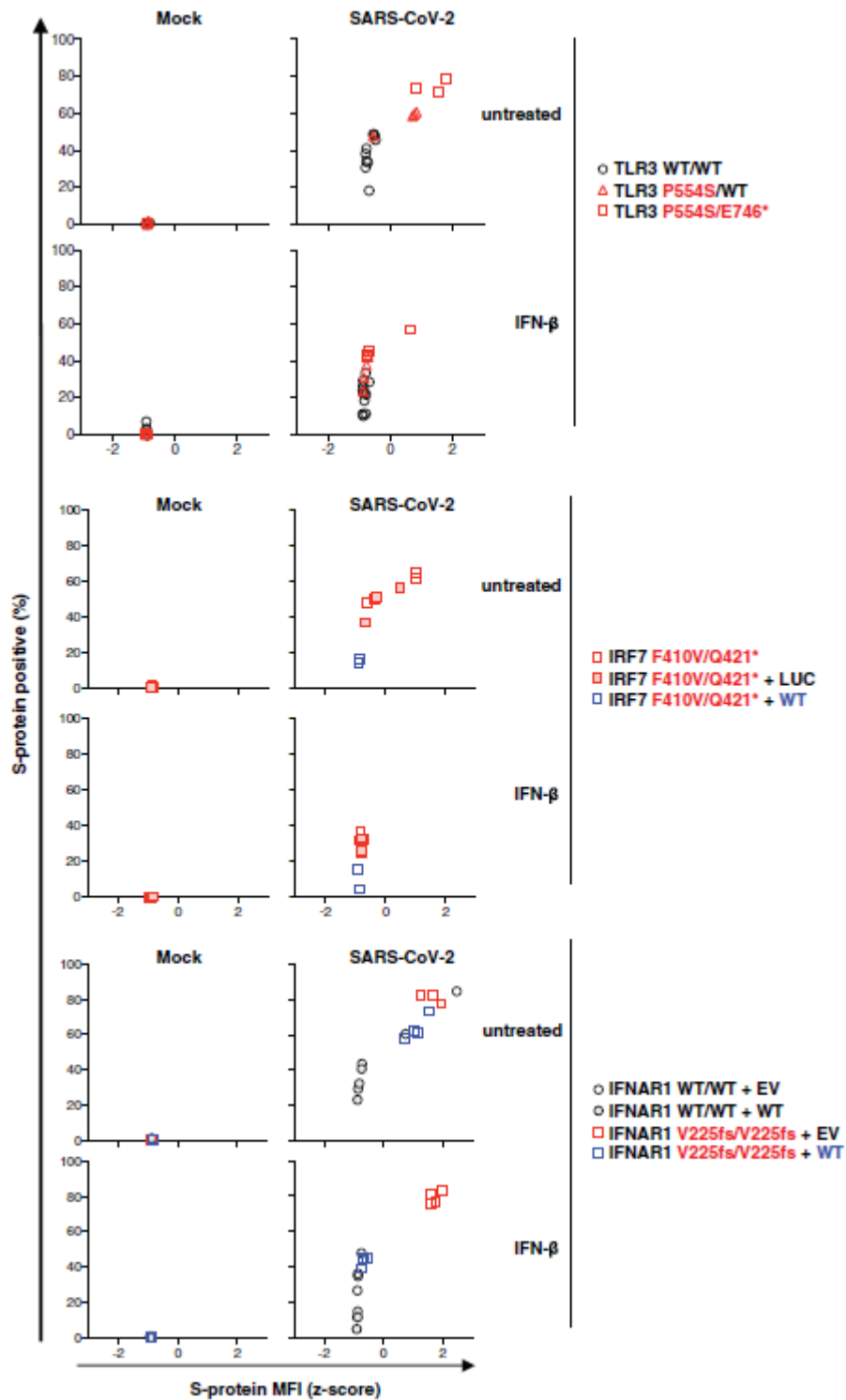


**Figura 6.** Respuesta inmune innata de IFN I en células dendríticas plasmocitoides (pDCs). Medida de la producción de IFN-alfa2 (ng/ml) en pDCs aisladas de un individuo sano, que actúa como control, (C1) y de un paciente con una deficiencia AR en IRF7 (P1). Las células se dividieron en no tratadas (medium), infectadas con el influenzavirus A (IAV) o infectadas con SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2), y el análisis se llevó a cabo por medio de un *cytometric bead array* (CBA) (Zhang et al., 2020).

Para comprobar el efecto de las variantes genéticas previamente descritas sobre la actividad del IFN I durante la inmunidad intrínseca, se trabajó con fibroblastos dérmicos (SV40-Fib) de pacientes con mutaciones en TLR3, IRF7 e IFNAR1. Se estudiaron estos fibroblastos para ver si posibilitaban la replicación masiva del virus en comparación con fibroblastos sin mutaciones, o WT, en presencia o ausencia de IFN- $\beta$  (Figura 7). Para los experimentos con células deficientes en TLR3 e IRF7, se pudo observar cómo el crecimiento viral fue revertido con la adición exógena de IFN- $\beta$ , mientras que en el caso de IRF7, también se consiguió mediante la transducción previa de IRF7 WT. No se realizó una transducción de TLR3 WT porque el alelo responsable es dominante negativo, por lo que no hubiese surtido efecto expresar el WT en presencia de las variantes. Para IFNAR1, el IFN- $\beta$  exógeno no consiguió detener el crecimiento viral, pero la transducción de IFNAR1 WT sí (Q. Zhang et al., 2020).

Respecto a las implicaciones biológicas de este estudio, cabe destacar el hecho de que las deficiencias en IRF7 e IFNAR puedan permanecer silenciadas durante períodos tan extensos de tiempo en estos individuos, que no habían presentado enfermedades virales severas hasta haber sido contagiados por SARS-CoV-2, lo que lleva a pensar que estos trastornos genéticos podrían tener una penetrancia incompleta para COVID-19 (The COVID Team et al., 2020) Además, se propuso la administración de IFN- $\alpha$ 2/ $\beta$  mediante inyecciones subcutáneas como tratamiento para estos pacientes, pero esto permanece en proceso de ser investigado más en profundidad (Q. Zhang et al., 2020).





**Figura 7. Respuesta inmune intrínseca de IFN I en fibroblastos de la dermis (SV40-Fib).** El eje X corresponde a la tinción de la proteína S viral y el eje Y corresponde al porcentaje de células positivas para la misma. Se transdujeron con ACE2 y TMPRSS2 células SV40-Fib TLR3<sup>-/-</sup>, TLR3<sup>+/-</sup>, IRF7<sup>-/-</sup>, IRF7<sup>-/-</sup> rescatadas con IRF7 WT, IFNAR1<sup>-/-</sup> e IFNAR1<sup>-/-</sup> rescatadas con IFNAR1 WT. Tras esto, o bien se dejaron sin tratar o bien se trataron con IFN-β durante 4 horas. Una vez se infectaron las células con SARS-CoV-2 y fueron teñidas, se midieron los niveles de ACE2 y proteína S viral mediante microscopía de alto contenido. Las células deficientes de IRF7 habían sido previamente transducidas o bien con WT o con un control negativo (LUC), mientras que las deficientes de IFNAR1 habían sido previamente transducidas o bien con WT o bien con un vector vacío (EV) (Zhang et al., 2020).

### 5.2.3. AUTOANTICUERPOS CONTRA INF-I

A raíz de lo referido en los estudios previos relacionados con los casos severos de COVID-19, quedó de manifiesto la importancia de la respuesta inmune mediada por IFN I para la supervivencia frente al virus. Sin embargo, únicamente un 3% de los pacientes críticos podían ser atribuidos a la presencia de IEs para TLR3, IRF7 e IFNAR1, por lo que se comenzó a investigar a qué podía deberse la disfuncionalidad de respuesta de IFN I en el resto de los casos en los que el cuadro clínico seguía ese mismo patrón, pero no había evidencia de los defectos genéticos en locis asociados a IFN I mencionados anteriormente.

En *Science*, Paul Bastard y asociados publicaron una investigación que tomó como base los conocimientos adquiridos hasta la fecha en relación a la generación de autoanticuerpos (de ahora en adelante, auto-Abs), concretamente aquellos que neutralizaban citoquinas, para establecer una hipótesis según la cual la existencia de autoanticuerpos contra IFN I podría ser la causa de parte de los casos de COVID-19 en los que existe una disregulación de la respuesta a IFN I.

Los auto-Abs neutralizantes de citoquinas se comenzaron a estudiar hace décadas, y se ha podido observar que, en los casos de pacientes con auto-Abs contra IFN- $\gamma$ , IL-17A, IL-17F e IL-6 entre otras, el fenotipo clínico presentado por los mismos era notablemente similar al que se daba en pacientes con errores innatos en genes asociados a dichas citoquinas (Bastard et al., 2020). Así, una persona con defectos genéticos innatos para IL-17A e IL-17F es propensa a desarrollar candidiasis mucocutánea, y de la misma forma, también lo es alguien que, en ausencia de mutaciones para esos genes, haya desarrollado auto-Abs contra IL-6. En este contexto, surge la hipótesis, de que la secreción de auto-Abs contra INF I pueda causar el mismo cuadro clínico que el que muestran los individuos con IEs (Puel et al., 2011).

Son numerosas las condiciones a las que se asocia la presencia de auto-Abs contra IFN I, si bien suelen encontrarse silenciados. Así, se han dado casos en una minoría de los pacientes con lupus eritematoso sistémico (SLE) (Gupta et al., 2020) algunos pacientes con timoma (Shiono, 2003) y todos los pacientes con APS-1 (*autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1*). Esta última enfermedad se presenta clínicamente mediante candidiasis mucocutánea e insuficiencia adrenal o paratiroidea y está provocada por mutaciones en el gen AIRE (*autoimmune regulator*), que actúa como regulador en la presentación de antígenos en las células del timo y dendríticas (Levin, 2006).

En abril de 2020, se detectaron 3 pacientes con APS-1 que presentaban altos títulos de auto-Abs neutralizantes de IFN I y que habían sido ingresados en UCIs como consecuencia de la COVID-19. De esta forma, se decidió probar la hipótesis de que la preexistencia de auto-Abs contra IFN I, silenciados hasta el momento de la infección por SARS-CoV-2, pudiese ser la causa subyacente de algunos casos de neumonía severa derivada de la enfermedad. Para el estudio, se seleccionaron un total de 2887 individuos, divididos en 3 grupos: 987 pacientes críticos de COVID-19, 663 enfermos de COVID-19 asintomáticos y 1227 individuos sanos, que actuaron como controles.

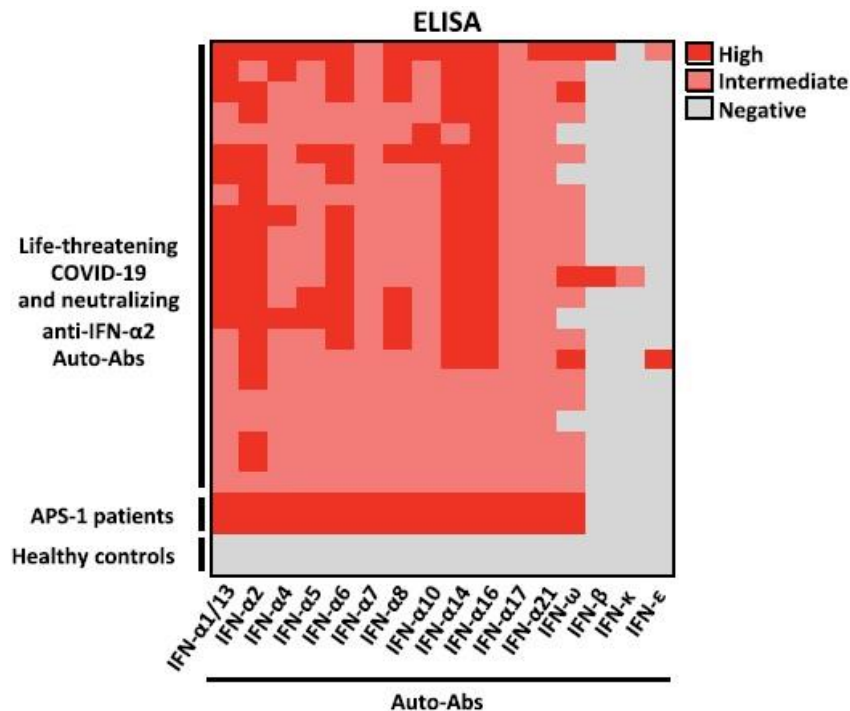
Se detectaron, mediante un ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) del plasma o muestras de suero tomadas durante la fase aguda de los 987 pacientes críticos de COVID-19, un total 135 individuos positivos para auto-Abs contra IFN- $\alpha$ 2 y/o IFN- $\omega$ . Posteriormente, se analizó la capacidad de dichos auto-Abs para neutralizar IFN I *in vitro*, para lo cual se utilizaron células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de controles sanos cultivadas con IFN- $\alpha$ 2 e IFN- $\omega$  y, o bien plasma de individuos sanos o bien plasma de pacientes que hubiesen presentado auto-

Abs. Finalmente, hubo una supresión completa de la fosforilación de STAT1 en 101 (10,23%) de los pacientes, demostrándose la capacidad neutralizante de los auto-Abs. Por otra parte, únicamente se detectaron auto-Abs contra IFN I en 4 (0,33%) de los 1227 controles sanos y no hubo constancia de individuos asintomáticos positivos para auto-Abs (Tabla 2). Además, 95 (94%) de los 101 pacientes críticos positivos para auto-Abs anti-IFN I eran hombres, mientras que 51 (50,5%) tenían más de 65 años (Bastard et al., 2020).

**Tabla 2.** Distribución de individuos positivos para auto-Abs neutralizantes contra IFN I entre los diferentes grupos del estudio. (Datos obtenidos de Bastard et al., 2020).

	N	Positivos para autoanticuerpos neutralizantes contra IFN I	
		N	Porcentaje (%)
COVID-19 severa	987	101	10,23
Asintomáticos	663	0	0
Controles sanos	1227	4	0,33

De los 17 IFN I que existen en humanos, IFN- $\alpha$  (incluyendo sus 13 subtipos) e IFN- $\omega$  son los más cercanos a nivel filogenético. Teniendo esto en cuenta, se realizó un ELISA en los pacientes positivos para auto-Abs anti-IFN- $\alpha$ 2 y se pudo observar cómo, en la mayoría de los casos, estos individuos también tenían auto-Abs que reconocían los otros 12 IFN- $\alpha$  e IFN- $\omega$ . Por otra parte, este experimento también puso de manifiesto la poca probabilidad de generación de auto-Abs contra IFN- $\beta$ , IFN- $\kappa$  o IFN- $\epsilon$  (Figura 8).



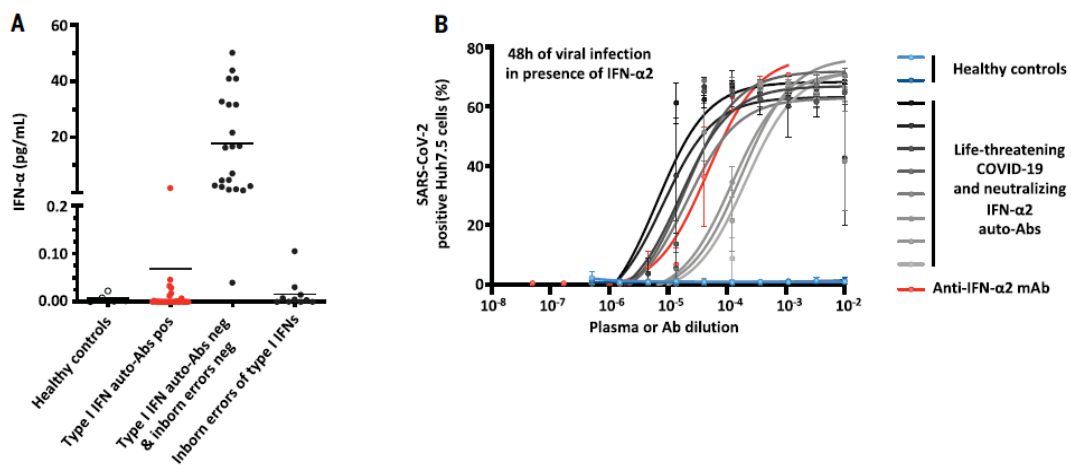
**Figura 8.** Correlación entre la producción de auto-Abs anti-IFN- $\alpha$ 2 y auto-Abs frente al resto de IFN I. Se realizó un ELISA con 22 pacientes críticos de COVID-19, 2 pacientes con APS-1 y 2 individuos sanos, que actuaron como controles (Bastard et al., 2020).

Además de sus similitudes bioquímicas, los IFN- $\alpha$  e IFN- $\omega$  también comparten el ser INF I sistémicos, pudiendo ser medidos, por ejemplo, en sangre, mientras que IFN- $\beta$  suele permanecer en tejidos, siendo un IFN local y con una vida media corta. Asimismo, IFN- $\kappa$  se encuentra principalmente en la piel e IFN- $\epsilon$  está generalmente asociado al tracto reproductor

femenino (Yuanyuan Li et al., 2019; Xi et al., 2012). Esta información, junto con la obtenida en relación a las proporciones de auto-Abs contra diferentes tipos de IFN I producidos, explicaría por qué se han encontrado niveles de IFN I sistémicos muy bajos, pero una inducción de IFN I locales destacable en lavados broncoalveolares (BAL) de pacientes críticos de COVID-19 (Acharya et al., 2020).

A continuación, se compararon los niveles de IFN- $\alpha$  en pacientes críticos infectados por SARS-CoV-2 y positivos para IELs (Q. Zhang et al., 2020) o para auto-Abs anti-IFN I con pacientes de COVID-19 negativos para ambos (Figura 9A). Los resultados demostraron una clara presencia de IFN- $\alpha$  en aquellos pacientes que no sufrían una alteración en la producción del mismo, mientras que tanto en los individuos con IELs como en los positivos para auto-Abs, los niveles de IFN- $\alpha$  fueron prácticamente indetectables, presentando ambos casos un fenotipo clínico similar, como se había predicho.

Por último, se infectó la línea celular Huh7,5 con SARS-CoV en presencia de IFN- $\alpha$ 2, cuya acción impide que se produzca la replicación del virus. En primer lugar, se añadió plasma de dos individuos sanos, que no afectó a que continuase la supresión de la proliferación del virus. Tras esto, se pasó a comprobar el efecto que tendría un auto-Abs anti-IFN- $\alpha$ 2 comercial, observándose cómo en presencia del mismo, el IFN- $\alpha$  fue neutralizado y, por lo tanto, ocurrió un aumento del porcentaje de células infectadas por el virus. Finalmente, al añadir plasma de pacientes de COVID-19 positivos para auto-Abs, el resultado fue el mismo que en el caso anterior (Figura 9B). Así, se llegó a la conclusión de que la presencia de auto-Abs en el plasma de estos pacientes tenía la misma capacidad para neutralizar IFN- $\alpha$ 2, o incluso una mayor en algunos casos, que el auto-Ab comercial, provocando la replicación masiva del virus en células hospedadoras (Bastard et al., 2020).



**Figura 9. Efecto de los auto-Abs anti-IFN I en presencia de SARS-CoV-2.** (A) Medida de los niveles de IFN- $\alpha$  (pg/mL) por *Single molecular array* (Simoa) ELISA en (de izquierda a derecha) 5 individuos sanos (controles), 41 pacientes de COVID-19 positivos para auto-Abs, 21 pacientes de COVID-19 negativos tanto para auto-Abs como para IELs de IFN I y 10 pacientes de COVID-19 positivos para IELs de IFN I. (B) Replicación de SARS-CoV 48 hpi en células Huh7,5 tratadas con IFN- $\alpha$ 2. Se midió el porcentaje de dichas células positivas para el virus en presencia de diferentes concentraciones de plasma de 2 individuos sanos (azules), 8 pacientes de COVID-19 positivos para auto-Abs anti-IFN- $\alpha$ 2 (escala de grises) y un auto-Ab anti-IFN- $\alpha$ 2 comercial (rojo) (Bastard et al., 2020).

Así, se reportó que más del 10% de los pacientes que sufren neumonía severa como consecuencia de la infección por SARS-CoV-2 presentaban antes del contagio auto-Abs contra IFN I, sin que estos hubiesen provocado complicaciones en otras infecciones virales previas. Se

cree que la activación de los mismos puede deberse a la enorme virulencia del virus causante de la COVID-19. Por otra parte, la realización de pruebas de detección de estos auto-Abs en pacientes en fase temprana de la enfermedad puede servir para predecir el desarrollo futuro de la misma. Igualmente, se destacó la importancia de asegurar que aquellos pacientes recuperados que donen plasma no tengan estos tipos de auto-Abs, ya que su utilización como tratamiento en otros individuos podría ser fatal (Bastard et al., 2020).

## **6. SÍNDROME DE LIBERACIÓN DE CITOQUINAS (CRS)**

Como consecuencia de la disfuncionalidad del IFN I en algunos de los pacientes de COVID-19, la carga viral en los mismos aumenta en los primeros instantes de la infección. Este aumento provoca que el sistema inmune no pueda llevar a cabo una eliminación del virus exitosa por medio de la que sería considerada una respuesta inmunológica corriente, dándose, en su lugar, una liberación masiva de citoquinas inflamatorias asociada al conocido como CRS (Hadjadj et al., 2020; Z. Zhou et al., 2020).

### **6.1. CITOQUINAS, CÉLULAS DENDRÍTICAS Y RECONOCIMIENTO DE PATÓGENOS**

Las citoquinas son pequeñas proteínas secretadas por diversos tipos celulares y cuya función principal reside en la mediación de la interacción entre estos y la regulación de sus funciones, ya sea de forma autocrina, paracrina o endocrina. Según su papel dentro de la comunicación intercelular, se pueden distinguir citoquinas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), quimiocinas (MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , GRO/KC), y citoquinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13) (J.-M. Zhang & An, 2007).

Las células dendríticas (DCs) son una familia heterogénea de células de origen hematopoyético, especializadas tanto para efectuar el reconocimiento de antígenos como para llevar a cabo el control de un enorme conjunto de respuestas innatas y adaptativas frente a los mismos (Steinman & Banchereau, 2007). Estas células se encuentran en una etapa inmadura en tejidos periféricos, momento en el cual capturan los antígenos. Como respuesta, sobrellevan un complejo proceso de maduración que se da durante la migración desde los tejidos periféricos a los nodos linfáticos, para acabar siendo células presentadoras de antígenos totalmente funcionales. Existen numerosos agentes capaces de activar a las DCs, y estos pueden ser tanto exógenos como endógenos, por lo que estas células no sólo están implicadas en procesos de inflamación como respuesta a agentes virales externos, sino también en el mantenimiento de la homeostasis del propio sistema inmunológico, por lo que una alteración en su función podría desencadenar la aparición de condiciones autoinmunes.

El reconocimiento de patógenos por parte de las DCs se produce por medio de la asociación de los PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*) a los diferentes PRRs que estas células presentan, como pueden ser diversos tipos de TLRs. Como consecuencia del reconocimiento de los agentes externos, las DCs secretan un amplio conjunto de citoquinas para atraer a diferentes tipos celulares en momentos concretos de la respuesta inmune (Blanco et al., 2008). Sin embargo, se puede afirmar que las citoquinas no son únicamente el producto de las DCs, sino que también pueden actuar como inductoras de su activación. El reconocimiento de PAMPs por medio de TLRs lleva a la liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-1 o TNF, y la

exposición de DCs inactivas a dichas proteínas puede provocar una activación mediada por citoquinas de las mismas, a partir de un mecanismo de feedback positivo (Märten et al., 2001).

Además, las DCs presentan también un conjunto de moléculas coestimuladoras que provocan la activación de las células T naïve, permitiendo así el desarrollo de la respuesta inmune primaria (Blanco et al., 2008).

## **6.2. SÍNDROME DE LA TORMENTA DE CITOQUINAS**

Si bien no existe una única definición aceptada para referirse a la familia de condiciones que presenta la conocida como tormenta de citoquinas, podría establecerse que todas están caracterizadas por un fenotipo clínico de inflamación sistémica descontrolada, elevación en los niveles de ferritina, desequilibrio en los niveles de células circulantes y fallo multiorgánico (MOF). La causa principal es la sobreproducción de citoquinas proinflamatorias y la hiperactivación de células inmunes, desencadenada ya sea en respuesta a patógenos, cánceres, condiciones autoinmunes, alteraciones monogénicas o ciertas terapias. La falta de consenso en cuanto a dicha definición se debe a que es un término que es utilizado para englobar los episodios de respuestas inmunes exacerbadas provocadas por un amplio conjunto de diferentes condiciones médicas, lo que provoca que no todos tengan como resultado un mismo cuadro sintomatológico, y, por tanto, que haya variaciones en cuanto al tratamiento adecuado para cada uno (Cron & Behrens, 2019).

Dentro de todos los eventos que se encuentran comprendidos en los síndromes asociados a una tormenta de citoquinas, destacan el Síndrome de Activación de Macrófagos (MAS), la Linfocitosis Hemofagocítica Familiar (HLH), el Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (ARDS) y el Síndrome de Liberación de Citoquinas (CRS), entre otros. Todos estos síndromes, a su vez, pueden llegar a estar relacionados entre sí, siendo algunos desencadenantes de otros (Mehta et al., 2020). La hiperinflamación principal provocada por la infección de SARS-CoV-2 ha sido asociada al CRS, y, en los casos más graves de la enfermedad, se ha demostrado que este acaba desembocando en ARDS, causante de un alto porcentaje de los fallecimientos a causa de COVID-19 (Henderson et al., 2020).

### **6.2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES**

El proceso inflamatorio incluye una serie de mecanismos biológicos que fueron evolucionando en organismos multicelulares para contener la acción de patógenos y resolver daños provocados por los mismos mediante la activación de repuestas inmunes tanto innatas como adaptativas. Estas respuestas requieren de la existencia de un equilibrio entre la producción de suficiente cantidad de citoquinas para eliminar el patógeno y que esta no sea excesiva para acabar provocando una respuesta hiperinflamatoria (Fajgenbaum & June, 2020). Las citoquinas tienen una vida media corta, lo que ayuda a que normalmente no tengan efectos fuera de los tejidos linfoides y de los sitios de inflamación, pero cuando existen niveles altos de las mismas, pueden provocar daños a nivel sistémico (J.-M. Zhang & An, 2007)

Las características clínicas de aquellos pacientes que presentan síndromes relacionados con la tormenta de citoquinas suelen ser complicadas de diferenciar de aquellas que son provocadas por las condiciones subyacentes, variando además entre las mismas. Es por esto, que, en estos casos, es necesario observar todos los síntomas como un conjunto y no cada uno de forma

aislada. Prácticamente todos los pacientes experimentan fiebre moderada o severa, según el caso. Además, pueden darse también fatiga, edemas, hepatomegalia, artralgia (dolor en las articulaciones), coagulopatías y encefalopatías. Muchos pacientes también desarrollan síntomas respiratorios como tos, taquipnea, e infiltración pulmonar, que pueden acabar evolucionando hasta dar lugar a ARDS, siendo este el caso de los pacientes de COVID-19 (Cron & Behrens, 2019).

A nivel de laboratorio, los marcadores no específicos de la inflamación, como puede ser la proteína C reactiva (CRP), están muy elevados generalmente y su presencia tiene una alta correlación con la severidad de la condición. En cuanto a anormalidades en análisis sanguíneos, destacan la hipertrigliceridemia (presencia de una concentración de triglicéridos en la sangre superior a 150 mg/dl), linfopenia, anemia, trombocitopenia y altos niveles de ferritina y dímero delta. Muchas de las características clínicas de estas condiciones pueden ser potencialmente relacionadas con los efectos de algunas citoquinas proinflamatorias como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, e IL-18 (Fajgenbaum & June, 2020).

### **6.3. CRS Y COVID-19**

Aproximadamente un 10% de todos los pacientes de COVID-19 llegan a sufrir complicaciones de la enfermedad a lo largo de su desarrollo, y la tasa de mortalidad global se sitúa alrededor del 2,13% (*WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*, s. f.). Aunque el abanico de síntomas que presentan varía en gran medida entre individuos, se ha podido determinar que la mayoría de los detectados, si no todos, se ajustan a la hipótesis de que están provocados por una hipercitocinemia (producción masiva de citoquinas), o CRS, que suele desembocar en ARDS (Pasrija & Naime, 2020; Song et al., 2020).

De esta forma, los principales mediadores, de entre muchos otros, que caracterizan la CRS asociada a la infección por SARS-CoV-2 son CRP, ferritina, dímero delta, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein 1*), IFN- $\gamma$ , LDH (lactato deshidrogenasa) y VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Los niveles de CRP, dímero delta, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, MCP-1, VEGF, LDH e IFN- $\gamma$  en casos severos de COVID-19 son superiores a los presentados por pacientes que sufren otros tipos de tormentas de citoquinas, mientras que los de ferritina e IL-6 suelen ser ligeramente menores en comparación, si bien siguen siendo muy altos. Por otra parte, se ha establecido una correlación entre los altos niveles de CRP (considerado biomarcador de la fase aguda) e IL-6 y la severidad de la enfermedad (Fajgenbaum & June, 2020; C. Li et al., 2020).

#### **6.3.1. DISFUNCIÓN DE IFN I COMO CAUSANTE DEL CRS: PAPEL DE LA CARGA VIRAL**

Debido a que la entrada del SARS-CoV-2 a la célula hospedadora depende de la unión de la proteína S del mismo a su receptor, ACE2, se puede asumir que la principal diana de la acción viral se centra en aquellos tipos celulares que expresen una gran cantidad de dicho receptor. Así, una vez el virus llega a la zona pulmonar de los bronquiolos y alveolos, la infección se dirige hacia las células epiteliales bronquiales y a los neumocitos de tipo II del epitelio alveolar, responsables del intercambio gaseoso, y ambos con una alta expresión de ACE2 (García, 2020; Nienhold et al., 2020).

A lo largo de lo que podría ser considerado como un desarrollo correcto de las enfermedades causadas por agentes víricos, las células infectadas secretan moléculas como IFN y otras

citoquinas proinflamatorias para, por una parte detener la replicación viral y, por otra, aumentar el flujo sanguíneo cercano a la zona de la infección para de esta forma promover el reclutamiento y la activación de células de la respuesta inmune innata, encargadas de la eliminación del patógeno (Pasrija & Naime, 2020). Sin embargo, en el caso de ciertos pacientes severos de COVID-19, la evolución de la respuesta inmune se ve alterada.

Así, un retraso o disminución en la producción de IFN I y la presencia de autoanticuerpos contra dicho tipo molecular en las primeras etapas de la infección por SARS-CoV-2, provocados por los mecanismos desarrollados en los apartados previos de esta revisión, pueden comprometer una parte tan vital de la respuesta antiviral como es la llevada a cabo por el IFN I (Ye et al., 2020). Como consecuencia de esta disfuncionalidad, no existe un control sobre la replicación del virus, y la carga viral aumenta hasta llegar a unos niveles tan elevados que el organismo no es capaz de mitigarla siguiendo una ruta de señalización inflamatoria corriente, lo que desencadena una cascada de citoquinas (Pasrija & Naime, 2020). De esta forma, se puede establecer una clara relación entre los altos niveles de carga viral de un paciente de COVID-19 y un mal pronóstico de la enfermedad (Pujadas et al., 2020).

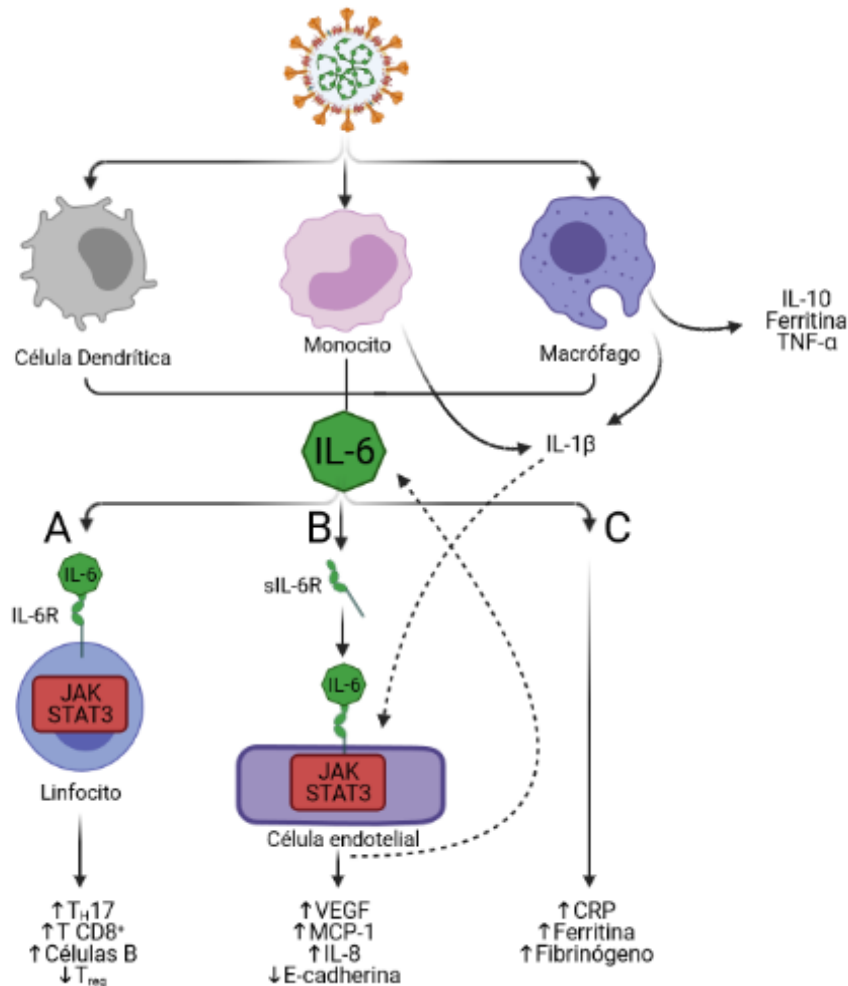
Una elevación de la carga viral de magnitudes tan significativas provoca una activación masiva de células del sistema inmune como macrófagos, DCs y monocitos, que proceden a secretar citoquinas proinflamatorias, destacando principalmente IL-6 en los tres casos y la producción de IL-10, ferritina y TNF- $\alpha$  por parte de los macrófagos. Por otra parte, tanto macrófagos como monocitos participan también en la secreción de IL-1 $\beta$  (Weber et al., 2010). La cascada de señalización desencadenada por la presencia de IL-6 se desarrolla por medio de dos vías metabólicas, denominadas cis y trans ([Figura 10](#)). La primera de las dos ([Figura 10A](#)) ocurre cuando IL-6 se une a su receptor de membrana (IL-6R), que se encuentra principalmente en linfocitos, dando lugar a una vía de señalización mediada por JAK/STAT3. Como resultado, se da una activación de neutrófilos, macrófagos y linfocitos NK, y además ocurre la diferenciación de células del sistema inmune adaptativo: células T<sub>H</sub>17 (células T helper 17 CD4<sup>+</sup>), células T CD8<sup>+</sup> (células T citotóxicas) y células B, mientras que disminuye el número de células T<sub>reg</sub> (células T reguladoras) (Hu et al., 2021; Moore & June, 2020).

La ruta de señalización de IL-6 conocida como trans ([Figura 10B](#)) se desarrolla cuando esta molécula se une a la forma soluble del IL-6R (sIL-6R) en circulación, formando un complejo capaz de asociarse a prácticamente cualquier superficie celular, por lo que puede darse en otros tipos celulares que no sean linfocitos. También está mediada por JAK/STAT3, y resulta en una liberación sistémica de citoquinas como VEGF, MCP-1 e IL-8. Igualmente, la presencia de IL-1 $\beta$  estimula la producción de más IL-6 en células endoteliales, cerrándose así un ciclo de activación de células inflamatorias por feedback positivo (Darif et al., 2021). Cuando esto ocurre en células epiteliales, se da además un descenso en la expresión de E-cadherina (Moore & June, 2020).

De la misma forma, la secreción ininterrumpida de IL-6 junto con la presencia de IL-1 originan en el hígado la producción de CRP ([Figura 10C](#)), siendo este producto de una respuesta coordinada conocida como respuesta de fase aguda, jugando un papel fundamental en los mecanismos de defensa del organismo (Du Clos & Mold, 2004). También en el hígado y como resultado de la acción de algunas de las citoquinas proinflamatorias mencionadas anteriormente, como el TNF- $\alpha$ , hay una inducción significativa de la síntesis de ferritina ([Figura 10C](#)), molécula encargada del almacenamiento del hierro y clave para la homeostasis metabólica del individuo. Por último, ocurre un aumento de la producción de fibrinógeno ([Figura 10C](#)), principal glicoproteína implicada en la formación de trombos para evitar la pérdida de sangre en lesiones vasculares, en las células hepáticas (Tennent et al., 2007). Durante la activación de



mecanismos de coagulación, el fibrinógeno se ve sometido a ciertas transformaciones por acción de moléculas como la trombina y la plasmina, dando lugar a los llamados productos de degradación de fibrina (FDP). Uno de estos FDPs es el dímero delta, que se encuentra, como resultado, en niveles muy altos en casos severos de COVID-19 (L. Zhang et al., 2018).



**Figura 10. Diferentes rutas metabólicas de IL-6 y producción de citoquinas relacionadas con CRS.** Infección de macrófagos, células dendríticas y monocitos por parte de SARS-CoV-2, provocando la producción de IL-6, que participará en varias rutas de señalización: cis (A) y trans (B) por medio de JAK/STAT3 en diferentes tipos celulares y una tercera que muestra el efecto de la presencia de IL-6 en el hígado (C). Todas ellas dan lugar a la secreción de citoquinas involucradas en el CRS (Figura modificada de Moore & June, 2020).

La LDH es una enzima intracelular involucrada en la catalización de la oxidación de piruvato a lactato dentro del metabolismo anaerobio. Previamente a su asociación con la COVID-19, la presencia de niveles elevados de LDH en sangre era considerada como un marcador inespecífico de inflamación o tumorigénesis, ya que esta es liberada al torrente sanguíneo cuando ocurre algún daño en el tejido en el que se encuentra. Además, está muy asociada a niveles altos de IL-6 y TNF- $\alpha$ , y su producción se ve considerablemente incrementada en casos severos de COVID-19 (C. Li et al., 2020).

Las células T helper CD4<sup>+</sup> (T<sub>H</sub>) son claves en el desarrollo de la inmunidad adaptativa, ya que ayudan a las células B y células T citotóxicas (CD8<sup>+</sup>) en la mediación de la protección del organismo. Existen diferentes tipos de respuestas inmunes adaptativas para defender al hospedador de numerosos tipos de patógenos, y que se dé una u otra depende de la interacción entre las DCs, cuya función es la de presentar antígenos, y las células T naïve. Así, la maduración

de células T naïve a cada uno de los diferentes subtipos de células T<sub>H</sub> ocurrirá según qué citoquinas y señales presentan las DCs, y de la misma forma, cada subtipo de célula T<sub>H</sub> secretará las citoquinas adecuadas para generar una respuesta inmune concreta para el tipo de patógeno que haya causado la infección (Sallusto, 2016).

De esta forma, las células T<sub>H</sub> de tipo 1 (T<sub>H</sub>1) suelen generar respuestas frente a infecciones virales, secretando IFN- $\lambda$  y TNF- $\alpha$ , que actuarán en el reclutamiento de macrófagos, mientras que T<sub>H</sub>2 se diferencian generalmente en presencia de parásitos, reclutando eosinófilos y basófilos y en el caso de T<sub>H</sub>17, neutrófilos contra agentes fúngicos (Fajgenbaum & June, 2020).

En una infección de SARS-CoV-2, por lo tanto, cabría esperar una respuesta inmune de tipo T<sub>H</sub>1, ya que el agente infeccioso es un virus, y poca o nula respuesta por parte cualquiera de los otros dos subtipos de células T CD4<sup>+</sup>. Sin embargo, como consecuencia de la enorme secreción de citoquinas causada por el CRS en aquellos pacientes que sufren casos severos de la enfermedad, el organismo hospedador cuenta, además de con los tipos de citoquinas necesarios para activar la respuesta de T<sub>H</sub>1, con niveles también muy elevados de aquellas que, al ser presentadas a las células T naïve por parte de las DCs, generan células T<sub>H</sub>2 y T<sub>H</sub>17, y estas a su vez secretan citoquinas. Este evento por el cual se desencadenan respuestas adaptativas de forma inespecífica se conoce como misfiring, y supone una nueva fuente de sobreproducción de citoquinas (Yale IMPACT Team et al., 2020).

En un estudio conducido por el Yale IMPACT (Implementing Medical and Public Health Action Against Coronavirus CT) Team (2020), se partió de la base de que los casos severos de la enfermedad mostraban una incapacidad para la eliminación del virus y disminución de la carga viral, una respuesta exacerbada temprana de citoquinas y la activación inespecífica de muchos tipos de células efectoras. Así, se procedió a realizar un clustering no supervisado en 113 pacientes que habían sido admitidos en el Yale New Haven Hospital (YNHH) entre marzo y mayo de 2020, y se obtuvieron tres tipos de clústeres ([Figura 11](#)) correlacionados con distintos pronósticos de la enfermedad, caracterizados por 4 conjuntos o sets (A-D) de genes relacionados con la respuesta inmune.

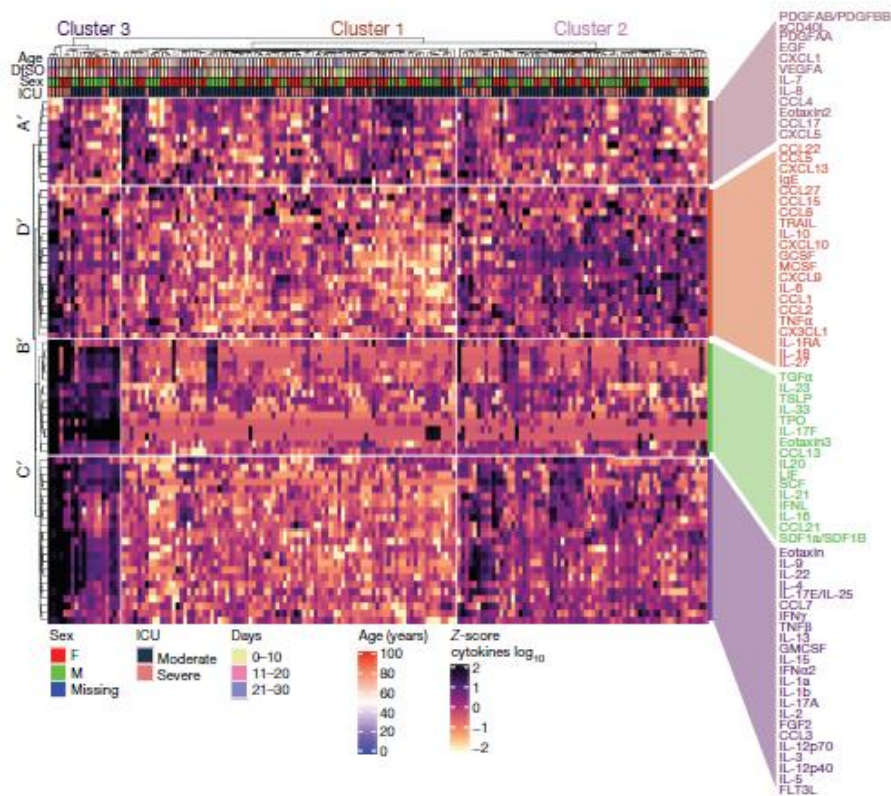
El set A ([Figura 11A'](#)) estaba comprendido por genes asociados a la reparación de tejidos dañados y lesiones, como pueden ser VEGF o EGF (Epidermal Growth Factor); el set B ([Figura 11B'](#)) por efectores asociados a los tipos de respuestas inmunes de T<sub>H</sub>2 y T<sub>H</sub>17, como IL-21, IL-23 e IL-33; el set C ([Figura 11C'](#)) estaba formado por efectores inmunológicos mixtos (de todos los tipos de respuestas) tales como IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-17 y por último, el set D ([Figura 11D'](#)) por quimiocinas entre las que destacan CCL1, CCL5, CXCL9 y CXCL10.

Se generaron así tres clústeres diferentes de pacientes. El clúster 1 estaba formado por pacientes que con COVID-19 moderada habían sufrido bajas tasas de coagulopatías, estancias cortas en el hospital y que finalmente se habían recuperado. Expresaron niveles bajos de marcadores inflamatorios, así como de genes del set A. El clúster 3, por otra parte, mostró una muy alta expresión de los genes de los sets B, C y D, especialmente pronunciada en el primero de estos. Finalmente, el clúster 2 se caracterizó por mostrar mayor expresión en genes de los sets C y D en comparación con aquellos del clúster 1, pero menor expresión en los de B, C y D que los del clúster 3, determinándose como un clúster intermedio entre los otros dos.

Tanto los pacientes del clúster 2 como del 3 presentaron un aumento significativo de marcadores de inflamación, de coagulopatías y de mortalidad, si bien es cierto que el aumento era mucho más pronunciado en el 3.

A nivel demográfico, no existía mucha diferencia entre los pacientes pertenecientes a un clúster u otro, mientras que la longitud de la estancia en el hospital aumentó a medida que aumentaba la expresión de marcadores de inflamación.

Como conclusión, se determinó que la presencia de eventos de misfiring, sumados a los ya presentes derivados del CRS en casos severos de COVID-19 provocaron un notable aumento en la producción de citoquinas inespecíficas para una respuesta inmune adaptativa antiviral. Consecuentemente, una mayor expresión de los genes asociados a respuestas de tipo  $T_H2$  y  $T_H17$  está directamente relacionada con una mayor severidad de la enfermedad, mayor probabilidad de eventos de coagulopatías, y, en conjunto, con un peor pronóstico (Yale IMPACT Team et al., 2020).



**Figura 11. Asociación de perfiles inmunológicos con posibles pronósticos en pacientes de COVID-19 mediante clustering no supervisado.** Se distinguen 4 sets de genes conformados por genes relacionados con la reparación de tejidos (A'), efectores inmunológicos de respuestas  $T_H2$  y  $T_H17$  (B'), efectores inmunológicos mixtos (C') y quimiocinas (D'). Además, se establecen 3 clústeres atendiendo al pronóstico de la enfermedad: pacientes recuperados (Clúster 1), pacientes con sintomatología moderada-severa (Clúster 2) y pacientes severos (Clúster 3) (Yale IMPACT Team et al., 2020).

### 6.3.2. VARIACIONES EN LOS NIVELES CELULARES

Atendiendo a las variaciones en los niveles celulares en sangre periférica que se asocian al CRS de casos severos de COVID-19, una de las condiciones más destacables es la aparición de linfopenia, si bien no suele ser el caso en tormentas de citoquinas asociadas a otras enfermedades (Fajgenbaum & June, 2020). Se ha demostrado un descenso muy significativo de células T  $CD4^+$  y  $CD8^+$  (especialmente de  $CD8^+$ ) en la sangre periférica de pacientes severos, y uno no tan elevado, pero sí destacable, en pacientes moderados (J. Liu et al., 2020). Si bien todavía no se ha establecido una hipótesis clara de cuál es la principal causa de esta deficiencia

en células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> en estos casos, se plantea la posibilidad de que la enorme producción de citoquinas proinflamatorias, tales como IL-6, pueda inducir dicha reducción (Huang & Pranata, 2020).

Las células B mostraron una variación similar a las células T en los pacientes graves infectados por SARS-CoV-2, con una bajada notable de sus niveles medidos en sangre periférica (F. Wang et al., 2020). Las variaciones de los niveles de células T CD4<sup>+</sup> observadas en casos de COVID-19 se reflejan en el descenso de la diferenciación y la activación de linfocitos B, lo que tiene como consecuencia una menor eficiencia tanto de la generación de anticuerpos contra el virus como de la reducción de la carga viral en el organismo (B. Liu et al., 2020).

En cuanto a los análisis centrados en células NK, también se da el caso de un descenso de sus proporciones en sangre periférica al compararlas con las presentes en personas sanas (Kuri-Cervantes et al., 2020). Igualmente, además de una reducción en número, las células NK periféricas presentaban un fenotipo de agotamiento celular, detectado por el aumento de la expresión de los marcadores LAG3, PDCD1 y HAVCR2 (Wilk et al., 2020). Por último, la elevada expresión de NKG2A, receptor inhibitorio cuya función es la de suprimir la activación de células NK, provoca una disminución en la producción de IL-2, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  por parte de este tipo celular, causando así un descenso en su capacidad citotóxica, y, por tanto, de su funcionalidad (van Eeden et al., 2020).

Tal y como se ha mencionado anteriormente, como consecuencia de la ruta de señalización cis de IL-6 y de la diferenciación de células T<sub>H</sub>17 en CRS, se da una activación masiva de neutrófilos en pacientes graves en comparación con los moderados o asintomáticos (Barnes et al., 2020). Este hecho, sumado al descenso de células T causado por la linfopenia previamente descrita, resulta en un aumento tanto en el llamado ratio neutrófilo:linfocito (NLR), como en el ratio neutrófilo:célula T CD8<sup>+</sup> (N8R), convirtiéndose ambos en importantes factores de prognosis de la enfermedad (Hu et al., 2021; J. Liu et al., 2020).

Asimismo, los niveles de eosinófilos presentes en sangre periférica se ven alarmantemente reducidos en casos severos de COVID-19 (Rosenberg & Foster, 2021). Si bien en un principio estos datos podrían oponerse al previamente desarrollado reclutamiento de eosinófilos como resultado del misfiring en la respuesta inmune asociada a T<sub>H</sub>2, se piensa que este descenso en el recuento periférico de eosinófilos no se debe a un fallo en su producción, sino más bien al reclutamiento masivo de los mismos en tejidos epiteliales de las vías aéreas o a la baja supervivencia de los mismos en el torrente sanguíneo. Además, se detectó una normalización de los niveles de eosinófilos en sangre previa a la total recuperación de los pacientes, por lo que se estableció la eosinopenia como marcador de fase aguda de la enfermedad (Tan et al., 2021).

Por el contrario, el recuento de monocitos inflamatorios CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> en sangre periférica sufre un significativo aumento en los pacientes severos. Estos monocitos han demostrado la capacidad de no sólo secretar IL-6, sino también GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), agravando en mayor medida la liberación de citoquinas (Y. Zhou et al., 2020).

En la misma línea, gracias a numerosos datos obtenidos de fluidos broncoalveolares (BALF) de pacientes con CRS, se puede observar una alta expresión de CCL2 y CCL7, dos quimiocinas involucradas en el reclutamiento pulmonar de monocitos. Consecuentemente, los recuentos celulares en muestras de BALF señalan que un 80% de las células totales corresponden a macrófagos derivados de monocitos inflamatorios, lo que supone un enorme aumento en la población de dicho tipo celular en comparación con controles sanos (Tufan et al., 2020). Estos macrófagos no sólo se ven aumentados en número, sino que experimentan también una

activación exacerbada, lo que supone una enorme fuente de producción de citoquinas en los tejidos pulmonares del hospedador (Cron & Behrens, 2019).

Finalmente, cabe destacar una disminución en el número de células dendríticas en los casos severos de COVID-19 en comparación con casos moderados e individuos sanos (Wilk et al., 2020).

Así, de entre todas las variaciones en los niveles celulares asociadas al CRS en casos de pacientes severos infectados por SARS-CoV-2 destaca una muy notable linfopenia, especialmente significativa en el caso de células T CD8<sup>+</sup> pero también presente en las poblaciones de células T CD4<sup>+</sup>, B y NK, así como un enorme aumento en el recuento de neutrófilos. Igualmente, aumentan tanto los monocitos inflamatorios como los macrófagos de tejidos pulmonares, mientras que eosinófilos periféricos y células dendríticas se ven disminuidos.

### **6.3.3. SINTOMATOLOGÍA E IMPLICACIONES CLÍNICAS**

La presencia de las citoquinas liberadas por el CRS en el organismo es clave en el desarrollo de los síntomas asociados a dicho síndrome. Por ejemplo, IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  son factores clave en el desarrollo de episodios de fiebre alta durante la fase aguda de la enfermedad mientras que los dos últimos también se asocian al alto grado de activación de los macrófagos inflamatorios localizados en los pulmones (Cron & Behrens, 2019; Tufan et al., 2020).

Si bien el mecanismo por el cual se producen los episodios de coagulopatía asociados a COVID-19 todavía no ha sido totalmente esclarecido, numerosos estudios apuntan a que se trata de un tipo de coagulación intravascular diseminada (DIC). Hasta el momento, la alta producción de fibrinógeno, y de dímero delta en consecuencia, como resultado de la secreción masiva de IL-6 es uno de los principales factores de coagulación a los que se atiende a la hora de intentar prevenir la aparición de coágulos (Iba et al., 2020).

Como resultado de la persistencia de la carga viral en los tejidos alveolares de pacientes severos, ocurre un reclutamiento masivo de células pertenecientes al sistema inmune. De entre estas, la infiltración pulmonar de neutrófilos es la más destacada (Hu et al., 2021). Aunque los neutrófilos suelen actuar en sitios de infección mediante explosión oxidativa y fagocitosis para eliminar los posibles patógenos, también pueden hacerlo por medio de un mecanismo de acción no tan conocido: la creación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs). Estos complejos en forma de red están compuestos por numerosas proteínas secretadas por los neutrófilos y pueden estimular a los macrófagos para aumentar la producción de IL-1 $\beta$ , que a su vez induce la formación de más NETs, acelerando la descompensación pulmonar y la inflamación (Barnes et al., 2020).

Al mismo tiempo, la sobreproducción de VEGF sumada a los bajos niveles de expresión de E-cadherina característicos del CRS son factores claves en el incremento de la permeabilidad vascular, que contribuye tanto al desarrollo de hipotensión como al progreso de la ya mencionada disfuncionalidad pulmonar (Moore & June, 2020). En conjunto, todas estas condiciones observadas en casos severos de COVID-19 que presentan CRS terminan por desembocar en el conocido como ARDS.

El ARDS se define como un tipo de condición inflamatoria aguda en los pulmones caracterizada por un aumento de la permeabilidad vascular, hipotensión, aumento del peso pulmonar y en consecuencia, una pérdida de función (Force et al., 2012). La gran mayoría de pacientes que

desarrollan ARDS presentan daño alveolar difuso (DAD) como la principal manifestación histológica, en la cual se puede observar daños severos en la unidad alveolocapilar de los individuos. El desarrollo de DAD puede producir disnea y tos, pero en los casos más severos, puede llegar a provocar fibrosis pulmonar e incluso el fallecimiento del paciente (Gibson et al., 2020).

Finalmente, la infección por SARS-CoV-2 y su rápida evolución hasta dar casos severos de la enfermedad no sólo comprende la disfuncionalidad a nivel pulmonar. La liberación masiva de citoquinas proinflamatorias provocada por el CRS también tiene consecuencias a nivel sistémico, dando lugar a fallos multiorgánicos en los sistemas cardiovascular, renal, hepático, gastrointestinal y nervioso entre otros. Estos sucesos de inflamación exacerbada generan en muchos casos un shock generalizado, que puede ser letal (Fajgenbaum & June, 2020; Zaim, 2020).

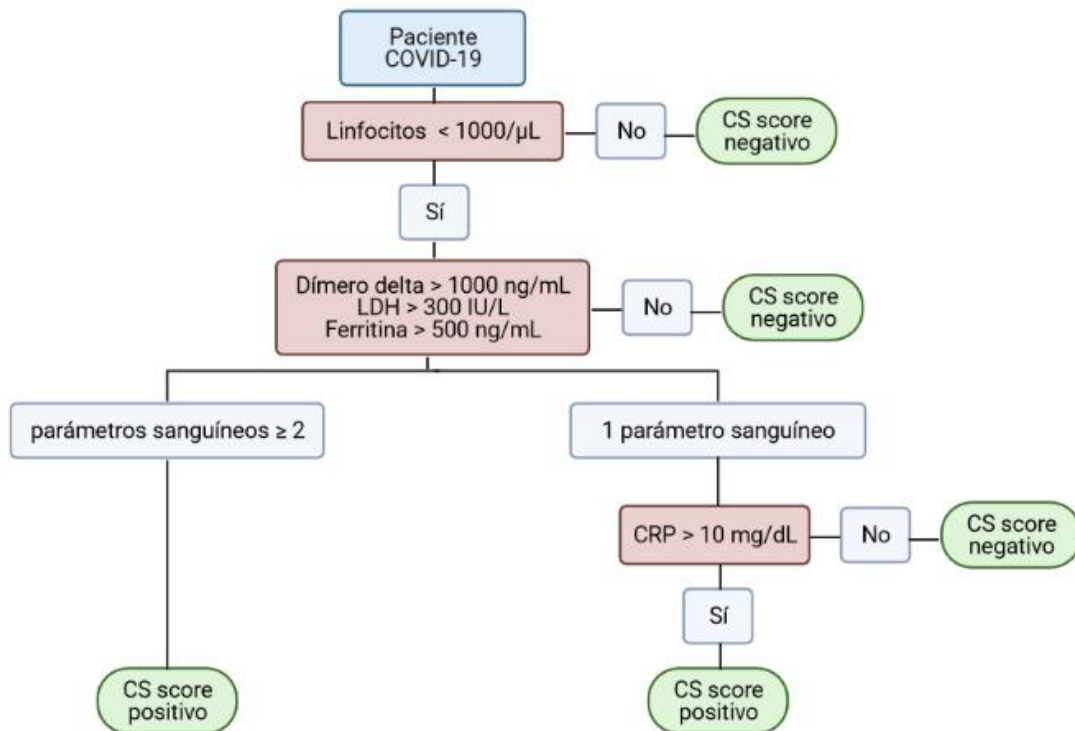
#### **6.3.4. DIAGNÓSTICO DE CRS ASOCIADO A COVID-19**

A causa de la heterogeneidad de la sintomatología presentada por los pacientes de COVID-19, uno de los mayores retos hasta la fecha ha sido el desarrollo de protocolos de diagnóstico exitosos a la hora de pronosticar si un individuo desarrollará la enfermedad de forma moderada o grave, y poder actuar en consecuencia.

En un estudio de Cappanera et al. (2021), se propuso un protocolo a seguir en los pacientes admitidos en hospitales que habían resultado positivos para SARS-CoV-2, de tal forma que se generaba un score (Cytokine Storm score, CSs) según el cual se podía prever si dicho individuo había comenzado a desarrollar (o lo haría en un corto periodo de tiempo) una fase de hiperinflamación como consecuencia de la enfermedad. De esta forma, se intentó detectar el momento en el que se desencadenaba el CRS, para así comenzar a tratarles rápidamente y disminuir el riesgo de intubación más adelante.

Fueron varios los parámetros a tener en cuenta para asignar a cada paciente un valor del score positivo o negativo según si se consideraba que había comenzado a sufrir CRS o no, respectivamente, creando así un algoritmo de triaje ([Figura 12](#)). En primer lugar, se atendió a los bajos niveles de linfocitos en sangre periférica. Si el paciente presentaba un recuento de linfocitos  $<1000/\mu\text{L}$  sangre (*Lymphocytopenia* | *NHLBI, NIH*, s. f.), es decir, linfopenia, se pasaba a medir los niveles de dímero delta, LDH y ferritina. Los valores medios que se reportaron en los casos severos de COVID-19 para cada uno de los tres (dímero delta  $> 1000$  ng/mL, LDH  $> 300$  IU/L y ferritina  $> 500$  ng/mL) fueron establecidos como los de referencia para continuar con el triaje. Una vez medidos en el paciente, si este presentaba al menos dos de los tres valores, se le clasificaba como CSs positivo. En el caso de que las pruebas indicasen que únicamente se cumplía uno de los tres valores, se optó por atender a la cantidad de CRP en sangre, cuyo valor de referencia se estableció en CRP  $> 10$  mg/dL. Por lo tanto, si se superaba dicho dato, también se consideró al paciente como CSs positivo.

El establecimiento de métodos de diagnóstico preventivos frente al CRS asociado a la COVID-19 supone un método extremadamente útil para identificar el cuadro clínico de dicha condición antes de que haya llegado a su fase aguda, y de esta forma poder actuar para impedir su progresión hacia la misma (Cappanera et al., 2021).



**Figura 12. Algoritmo de triaje para pacientes de COVID-19 sospechosos de CRS.** Protocolo de diagnóstico para individuos que pueden potencialmente desarrollar CRS como consecuencia de la infección por SARS-CoV-2 basado en los valores medios de linfocitos, dímero delta, LDH, ferritina y CRP medidos en pacientes de CRS (Figura modificada de Cappanera et al., 2021).

## 7. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS

Existen numerosos factores de riesgo asociados al desarrollo de casos severos de COVID-19. En apartados previos de esta revisión ya se ha presentado, por ejemplo, una mayor incidencia de auto-Abs contra IFN I en hombres que en mujeres, además de ser esta también superior en personas mayores de 65 años (Bastard et al., 2020).

Las diferencias entre hombres y mujeres a la hora de presentar una sintomatología grave de la enfermedad han sido descritas en abundantes estudios realizados por todo el mundo. Aunque todavía no se ha confirmado ninguna hipótesis de a qué puede deberse este hecho, todo indica que esta baja frecuencia de infecciones severas por SARS-CoV-2 en mujeres puede asociarse a: (1) una expresión menor de ACE2 y TMPRSS2 y mayor de TRL7/8 en sus pulmones (Maggi et al., 2020); (2) el papel de hormonas como el estrógeno y la testosterona en la maduración de células inmunológicas como NK, DCs y neutrófilos, lo que establecería diferencias entre ambos sexos (Paces et al., 2020) o (3) la predisposición genética de las mujeres a ser menos susceptibles a infecciones virales en comparación a los hombres (Zheng et al., 2020). Todo esto se ve claramente reflejado en las proporciones de mujeres y hombres en estudios relacionados con casos severos de la enfermedad, como el anteriormente mencionado llevado a cabo por Zhang et al. (2020) para la investigación de los IEIs, en el que de los 659 pacientes que participaron, sólo un 25,5% fueron mujeres.

Con relación a la edad, se ha demostrado una correlación entre un aumento de esta y la evolución de los casos de COVID-19 hacia fases graves de la misma. Se ha considerado como factor principal el desgaste del sistema inmune asociado a una mayor edad, lo que influye en la disminución de la capacidad de respuesta frente al patógeno. Asimismo, los casos de infección

severa en niños son muy escasos, y únicamente una mínima proporción de los mismos acaban desembocando en CRS (García, 2020). Interesantemente, y a pesar de estos datos, se han descrito varios casos de niños que han desarrollado un síndrome inflamatorio sistémico, como consecuencia de SARS-CoV-2, cuyo cuadro clínico es similar al presente en la enfermedad de Kawasaki, aunque sigue siendo un campo que estudiar en detalle a día de hoy (Pirofski & Casadevall, 2020).

Por último, cabe destacar el importante papel que juega la presencia de condiciones médicas subyacentes en el avance de la infección de SARS-CoV-2 hacia estadios más graves. La prevalencia de enfermedades cardiovasculares y pulmonares es significativamente más alta en los pacientes críticos de COVID-19. Así, igual que aquellos que sufren alteraciones en el sistema cardiovascular tienden a tener más probabilidades de desarrollar una infección grave debido a la debilitación de su función cardíaca, la capacidad de respuesta inmune se ve disminuida en casos de diabetes e hipertensión (Zheng et al., 2020). En la misma línea, la obesidad ha sido declarada factor de muy alto riesgo, con avances recientes que indican que, además de los riesgos cardíacos y vasculares que se asocian de por sí a dicha condición, la expresión del receptor ACE2 se ve significativamente aumentada en el tejido adiposo, incrementando la capacidad de replicación del virus en el organismo hospedador (Iannelli et al., 2020).

Además, los pacientes que presentan condiciones respiratorias crónicas cuentan con una funcionalidad pulmonar comprometida de forma previa, la cual únicamente empeora tras el desarrollo de la COVID-19. También se ha detectado una notable asociación entre individuos fumadores y la enfermedad severa (Fajgenbaum & June, 2020; Zheng et al., 2020). Por otra parte, las personas diagnosticadas con asma han resultado no ser propensas a la necesidad de hospitalización tras infectarse con SARS-CoV-2, tras lo que se ha hipotetizado que el alto recuento de eosinófilos en sangre que dichos pacientes presentan como consecuencia del asma pueda ser una de las posibles causas (Maggi et al., 2020; Rosenberg & Foster, 2021).

## **8. POSIBLES TRATAMIENTOS**

A día de hoy, gran parte de los esfuerzos de la comunidad científica se han centrado en el desarrollo de tratamientos efectivos para frenar el avance del virus hacia el CRS y así reducir tanto la cantidad de pacientes ingresados en UCIs como la tasa de fallecidos. Como consecuencia de la complejidad del mecanismo de acción de SARS-CoV-2, esta tarea resulta considerablemente complicada, ya que hay que se debe encontrar un balance entre el bloqueo de ciertas rutas metabólicas que inducen la inflamación sistémica sin que esto conlleve la pérdida de capacidad de respuesta inmune del individuo (Tufan et al., 2020).

Frente a las condiciones causantes de la disfuncionalidad de la respuesta del IFN I en COVID-19, numerosos tratamientos han sido propuestos hasta la fecha. Tanto en el caso de que la alteración en la producción de IFN I se deba a la presencia de IELs como si ocurre una evasión de la misma provocada por el virus, uno de los abordajes más intuitivos es el de la administración de IFN I exógeno. En ambos escenarios, se considera que un tratamiento en la primera fase de la enfermedad con IFN I podría inducir una mayor respuesta antiviral en el individuo, pudiendo así eliminar de forma efectiva la carga viral antes de que se desencadenen eventos inflamatorios exacerbados (Lei et al., 2020; Q. Zhang et al., 2020). La clave para eficiencia de este tipo de tratamiento, sin embargo, reside en lo temprano que se administre dentro del desarrollo de la enfermedad. Si el paciente ha llegado a la fase aguda de la enfermedad, desarrollando sintomatología propia de la tormenta de citoquinas, aunque se le trate con IFN I para intentar



recuperar la función antireplicativa, la carga viral será demasiado alta para que suponga una gran diferencia a la hora de detener la secreción de citoquinas inflamatorias (Sallard et al., 2020). Por esta razón, se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos en los que se ha comprobado la eficacia de este tipo de terapias al ser administradas de forma preventiva en pacientes con riesgo a sufrir CRS, ya sea mediante inhalación de IFN- $\alpha$ 2 $\beta$  nebulizado solo, o en combinación con otros antivirales como el Umifenovir, que induce la producción de IFN I (Fish, 2020; Nile et al., 2020). Este tipo de tratamientos fueron ampliamente utilizados durante la primera ola de contagios, y hoy en día siguen llevándose a cabo estudios para demostrar su eficacia.

Para los pacientes que presenten auto-Abs contra IFN I, por otra parte, la administración de este tipo de tratamientos no sería efectiva, ya que dicho anticuerpos lo neutralizarían también. Así, algunas de las alternativas que se barajan como potenciales tratamientos es el de la plasmaféresis o la administración de un IFN I recombinante que no pueda ser reconocido por dichos anticuerpos (Bastard et al., 2020).

A la vez, es común el uso en fases tempranas de antivirales como Remdesivir y Favipiravir, que actúan como inhibidores de la RNA polimerasa dependiente de RNA y por tanto impiden la replicación viral (Agrawal et al., 2020). Además, se suelen complementar con adyuvantes como la vitamina D, que previene el riesgo de infecciones virales, y el zinc, implicado en la regulación de células T y en la restricción de los mecanismos moleculares de la tormenta de citoquinas (Esakandari et al., 2020).

Entre los tratamientos que más se contemplan una vez el paciente haya desarrollado ya una tormenta de citoquinas, destacan algunos inmunomoduladores como Anakinra o Tocilizumab, que bloquean la señalización de Il-1 e Il-6 respectivamente, junto con glucocorticoides como Dexametasona, cuyo uso ha demostrado reducir la mortalidad en pacientes severos de COVID-19 (Beigel et al., 2020; Henderson et al., 2020). De nuevo, es necesario recalcar la importancia de la detección precoz del inicio del CRS y del control del perfil de marcadores inflamatorios para poder administrar el tratamiento adecuado, mientras que un uso no moderado de algunos de estos inmunomoduladores podría provocar la inmunosupresión del paciente.

Si bien existen muchas hipótesis acerca de cuál de todos los tratamientos frente a los casos severos de COVID-19 es el idóneo, lo cierto es que todavía no se ha descrito ninguno que funcione de forma uniforme para todos los pacientes, por lo que un mayor estudio dentro de este campo sigue siendo necesario.

## **9. CONCLUSIONES**

En vista de lo establecido en la presente revisión, se puede concluir que:

1. La infección por SARS-CoV-2 está asociada a ciertos errores en la producción y/o funcionamiento del IFN I. Estos pueden darse como resultado de la acción de las propias proteínas estructurales y accesorias del virus, por la presencia de IELs que afectan a su inducción o por la existencia de auto-Abs neutralizantes contra el IFN I.
2. El retraso o ausencia de la respuesta del IFN I frente a la infección provoca una replicación descontrolada del virus y, así, un aumento desmesurado de la carga viral, que no puede ser eliminada de forma eficaz. Ante la enorme cantidad de carga viral presente en el organismo, el sistema inmune genera una respuesta exacerbada

mediante la secreción masiva de citoquinas proinflamatorias, desarrollándose un Síndrome de Liberación de Citoquinas (CRS).

3. El CRS asociado a la COVID-19 se caracteriza por la abundante presencia de IL-6, CRP, dímero delta, LDH y ferritina, entre otros, y por un misfiring en la respuesta inmune asociada a células T. Como consecuencia, se da una enorme variación en los niveles celulares corrientes, destacando una gran producción de neutrófilos y una clara linfopenia, llegando a desembocar en Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda.
4. Los principales factores de riesgo para desarrollar COVID-19 severa son el ser hombre, de edad avanzada y sufrir condiciones médicas subyacentes como enfermedades cardiovasculares y pulmonares, diabetes u obesidad.
5. Los posibles tratamientos para los pacientes con COVID-19 se basan en la administración de IFN I en las fases más tempranas de la enfermedad y en el uso de IFN I recombinante que no sean neutralizados por los auto-Abs para solucionar los errores asociados al IFN I, así como antivirales tales como Remdesivir y Favipiravir. En el caso de pacientes que ya hayan desarrollado CRS, se recomienda el uso de inmunomoduladores como Anakinra o Tocilizumab junto con glucocorticoides como Dexametasona.
6. La utilización de estos tratamientos debe ser siempre en cantidades moderadas, ya que un uso excesivo de los mismos podría llegar a inmunodeprimir al paciente. Destaca además la importancia de generar protocolos para detectar en qué punto exacto de la enfermedad deben ser administrados.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- ACHARYA, D.; LIU, G. & GACK, M. U. (2020). Dysregulation of type I interferon responses in COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 20(7), 397-398. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0346-x>
- AGRAWAL, U.; RAJU R. & UDWADIA, Z. F. (2020). Favipiravir: A new and emerging antiviral option in COVID-19. *Medical Journal Armed Forces India*, 7.
- BARNES, B. J.; ADROVER, J. M.; BAXTER-STOLTZFUS, A.; BORCZUK, A.; COOLS-LARTIGUE, J.; CRAWFORD, J. M.; DAßLER-PLENKER, J.; GUERCI, P.; HUYNH, C.; KNIGHT, J. S.; LODA, M.; LOONEY, M. R.; MCALLISTER, F.; RAYES, R.; RENAUD, S.; ROUSSEAU, S.; SALVATORE, S.; SCHWARTZ, R. E.; SPICER, J. D.; ... EGEBLAD, M. (2020). Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *Journal of Experimental Medicine*, 217(6), e20200652. <https://doi.org/10.1084/jem.20200652>
- BASTARD, P.; ROSEN, L. B.; ZHANG, Q.; MICHAILIDIS, E.; HOFFMANN, H.-H.; ZHANG, Y.; DORGHAM, K.; PHILIPPOT, Q.; ROSAIN, J.; BÉZIAT, V.; MANRY, J.; SHAW, E.; HALJASMÄGI, L.; PETERSON, P.; LORENZO, L.; BIZIEN, L.; TROUILLET-ASSANT, S.; DOBBS, K.; DE JESUS, A. A.; ... CASANOVA, J.-L. (2020). Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science*, 370(6515), eabd4585. <https://doi.org/10.1126/science.abd4585>

- BECK, D. B. & AKSENTIJEVICH, I. (2020). Susceptibility to severe COVID-19. *Science*, 370(6515), 404-405. <https://doi.org/10.1126/science.abe7591>
- BEIGEL, J. H.; TOMASHEK, K. M.; DODD, L. E.; MEHTA, A. K.; ZINGMAN, B. S.; KALIL, A. C.; HOHMANN, E.; CHU, H. Y.; LUETKEMEYER, A. & KLINE, S. (2020). Remdesivir for the Treatment of Covid-19—Final Report. *N Engl J Med*, 14.
- BLANCO, P.; PALUCKA, A.; PASCUAL, V. & BANCHEREAU, J. (2008). Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 19(1), 41-52. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2007.10.004>
- CAPPANERA, S.; PALUMBO, M.; KWAN, S. H.; PRIANTE, G.; MARTELLA, L. A.; SARACA, L. M.; SICARI, F.; VERNELLI, C.; DI GIULI, C.; ANDREANI, P.; MARIOTTINI, A.; FRANCUCCI, M.; SENSI, E.; COSTANTINI, M.; BRUZZONE, P.; D'ANDREA, V.; GIOIA, S.; CIROCCHI, R. & TIRI, B. (2021). When Does the Cytokine Storm Begin in COVID-19 Patients? A Quick Score to Recognize It. *Journal of Clinical Medicine*, 10(2), 297. <https://doi.org/10.3390/jcm10020297>
- CASANOVA, J.-L.; SU, H. C.; ABEL, L.; AIUTI, A.; ALMUHSEN, S.; ARIAS, A. A.; BASTARD, P.; BIGGS, C.; BOGUNOVIC, D.; BOISSON, B.; BOISSON-DUPUIS, S.; BOLZE, A.; BONDARENKO, A.; BOUSFIHA, A.; BRODIN, P.; BUSTAMANTE, J.; BUTTE, M.; CASARI, G.; CIANCANELLI, M.; ... ZHANG, S. (2020). A Global Effort to Define the Human Genetics of Protective Immunity to SARS-CoV-2 Infection. *Cell*, 181(6), 1194-1199. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.016>
- CDC. (2020, febrero 11). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/scientific-brief-sars-cov-2.html>
- CHAN, J. F.-W.; KOK, K.-H.; ZHU, Z.; CHU, H.; TO, K. K.-W.; YUAN, S. & YUEN, K.-Y. (2020). Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 221-236. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1719902>
- CIANCANELLI, M. J.; HUANG, S. X. L.; LUTHRA, P.; GARNER, H.; ITAN, Y.; VOLPI, S.; LAFAILLE, F. G.; TROUILLET, C.; SCHMOLKE, M.; ALBRECHT, R. A.; ISRAELSSON, E.; LIM, H. K.; CASADIO, M.; HERMESH, T.; LORENZO, L.; LEUNG, L. W.; PEDERGNANA, V.; BOISSON, B.; OKADA, S.; ... CASANOVA, J.-L. (2015). Life-threatening influenza and impaired interferon amplification in human IRF7 deficiency. *Science*, 348(6233), 448-453. <https://doi.org/10.1126/science.aaa1578>
- COVID HUMAN GENETIC EFFORT. (s. f.). COVID HUMAN GENETIC EFFORT. Recuperado 11 de febrero de 2021, de <https://www.covidhge.com>
- CRON, R. Q. & BEHRENS, E. M. (Eds.). (2019). *Cytokine Storm Syndrome*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-22094-5>
- CUCINOTTA, D. & VANELLI, M. (2020). WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*, 91(1), 157-160. <https://doi.org/10.23750/abm.v91i1.9397>
- DARIF, D.; HAMMI, I.; KIHIL, A.; EL IDRISSE SAIK, I.; GUESSOUS, F. & AKARID, K. (2021). The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? *Microbial Pathogenesis*, 153, 104799. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104799>

- DU CLOS, T. W. & MOLD, C. (2004). C-Reactive Protein: An Activator of Innate Immunity and a Modulator of Adaptive Immunity. *Immunologic Research*, 30(3), 261-278. <https://doi.org/10.1385/IR:30:3:261>
- ESAKANDARI, H.; NABI-AFJADI, M.; FAKKARI-AFJADI, J.; FARAHMANDIAN, N.; MIRESMAEILI, S.-M. & BAHREINI, E. (2020). A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *Biological Procedures Online*, 22(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00128-2>
- FAJGENBAUM, D. C. & JUNE, C. H. (2020). Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255-2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>
- FISH, E. N. (2020). Interferon- $\alpha$ 2b Treatment for COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11, 6.
- FORCE, A. D. T.; RANIERI, V. M.; RUBENFELD, G. D.; THOMPSON, B.; FERGUSON, N. & CALDWELL, E. (2012). Acute Respiratory Distress Syndrome: The Berlin Definition. *JAMA*, 307(23). <https://doi.org/10.1001/jama.2012.5669>
- GARCÍA, L. F. (2020). Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11, 1441. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01441>
- GIBSON, P. G.; QIN, L. & PUAH, S. H. (2020). COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): Clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. *Medical Journal of Australia*, 213(2), 54. <https://doi.org/10.5694/mja2.50674>
- GUPTA, S.; NAKABO, S.; CHU, J.; HASNI, S. & KAPLAN, M. J. (2020). Association between anti-interferon-alpha autoantibodies and COVID-19 in systemic lupus erythematosus. 12.
- HADJADJ, J.; YATIM, N.; BARNABEI, L.; CORNEAU, A.; BOUSSIER, J.; SMITH, N.; PÉRE, H.; CHARBIT, B.; BONDET, V.; CHENEVIER-GOBEAUX, C.; BREILLAT, P.; CARLIER, N.; GAUZIT, R.; MORBIEU, C.; PÈNE, F.; MARIN, N.; ROCHE, N.; SZWEBEL, T.-A.; MERKLING, S. H.; ... TERRIER, B. (2020). Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*, 369(6504), 718-724. <https://doi.org/10.1126/science.abc6027>
- HENDERSON, L. A.; CANNA, S. W.; SCHULERT, G. S.; VOLPI, S.; LEE, P. Y.; KERNAN, K. F.; CARICCHIO, R.; MAHMUD, S.; HAZEN, M. M.; HALYABAR, O.; HOYT, K. J.; HAN, J.; GROM, A. A.; GATTORNO, M.; RAVELLI, A.; BENEDETTI, F.; BEHRENS, E. M.; CRON, R. Q. & NIGROVIC, P. A. (2020). On the Alert for Cytokine Storm: Immunopathology in COVID-19. *Arthritis & Rheumatology*, 72(7), 1059-1063. <https://doi.org/10.1002/art.41285>
- HU, B.; HUANG, S. & YIN, L. (2021). The cytokine storm and COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 93(1), 250-256. <https://doi.org/10.1002/jmv.26232>
- HUANG, I. & PRANATA, R. (2020). Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): Systematic review and meta-analysis. *Journal of Intensive Care*, 8(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-00453-4>
- IANNELLI, A.; FAVRE, G.; FREY, S.; ESNAULT, V.; GUGENHEIM, J.; BOUAM, S.; SCHIAVO, L.; TRAN, A. & ALIFANO, M. (2020). Obesity and COVID-19: ACE 2, the Missing Tile. *Obesity Surgery*, 30(11), 4615-4617. <https://doi.org/10.1007/s11695-020-04734-7>
- IBA, T.; LEVY, J. H.; CONNORS, J. M.; WARKENTIN, T. E.; THACHIL, J. & LEVI, M. (2020). The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Critical Care*, 24(1), 360. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03077-0>

- ISRAELOW, B.; SONG, E.; MAO, T.; LU, P.; MEIR, A.; LIU, F.; ALFAJARO, M. M.; WEI, J.; DONG, H.; HOMER, R. J.; RING, A.; WILEN, C. B. & IWASAKI, A. (2020). Mouse model of SARS-CoV-2 reveals inflammatory role of type I interferon signaling. *Journal of Experimental Medicine*, 217(12), e20201241. <https://doi.org/10.1084/jem.20201241>
- KIM, D.; LEE, J.-Y.; YANG, J.-S.; KIM, J. W.; KIM, V. N. & CHANG, H. (2020). The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*, 181(4), 914-921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>
- KOTLYAR, A. M.; GRECHUKHINA, O.; CHEN, A.; POPKHADZE, S.; GRIMSHAW, A.; TAL, O.; TAYLOR, H. S. & TAL, R. (2020). Vertical transmission of coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*, 22.
- KURI-CERVANTES, L.; PAMPENA, M. B.; MENG, W.; ROSENFELD, A. M.; ITTNER, C. A. G.; WEISMAN, A. R.; AGYEKUM, R.; MATHEW, D.; VELLA, L.; KUTHURU, O.; APOSTOLIDIS, S.; BERSHAW, L.; GREENPLATE, A. R.; PATTEKAR, A.; KIM, J.; HAN, N.; WEIRICK, M. E.; AREVALO, C. P.; BOLTON, M. J.; ... MEYER, N. J. (2020). *Immunologic perturbations in severe COVID-19/SARS-CoV-2 infection*. 62.
- LEI, X.; DONG, X.; MA, R.; WANG, W.; XIAO, X.; TIAN, Z.; WANG, C.; WANG, Y.; LI, L.; REN, L.; GUO, F.; ZHAO, Z.; ZHOU, Z.; XIANG, Z. & WANG, J. (2020). Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. *Nature Communications*, 11(1), 3810. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17665-9>
- LEVIN, M. (2006). Anti-Interferon Auto-Antibodies in Autoimmune Polyendocrinopathy Syndrome Type 1. *PLoS Medicine*, 3(7), e292. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030292>
- LI, C.; YE, J.; CHEN, Q.; HU, W.; WANG, L.; FAN, Y.; LU, Z.; CHEN, J.; CHEN, Z.; CHEN, S.; TONG, J.; XIAO, W.; MEI, J. & LU, H. (2020). Elevated Lactate Dehydrogenase (LDH) level as an independent risk factor for the severity and mortality of COVID-19. *Aging*, 12(15), 15670-15681. <https://doi.org/10.18632/aging.103770>
- LI, YANWEI, ZHOU, W.; YANG, L. & YOU, R. (2020). Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacological Research*, 157, 104833. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104833>
- LI, YUANYUAN, SONG, Y.; ZHU, L.; WANG, X.; YANG, B.; LU, P.; CHEN, Q.; BIN, L. & DENG, L. (2019). Interferon Kappa Is Up-Regulated in Psoriasis and It Up-Regulates Psoriasis-Associated Cytokines in vivo. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, Volume 12*, 865-873. <https://doi.org/10.2147/CCID.S218243>
- LIU, B. C.; SARHAN, J. & POLTORAK, A. (2018). Host-Intrinsic Interferon Status in Infection and Immunity. *Trends in Molecular Medicine*, 24(8), 658-668. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.06.004>
- LIU, B.; HAN, J.; CHENG, X.; YU, L.; ZHANG, L.; WANG, W.; NI, L.; WEI, C.; HUANG, Y. & CHENG, Z. (2020). Reduced numbers of T cells and B cells correlates with persistent SARS-CoV-2 presence in non-severe COVID-19 patients. *Scientific Reports*, 10(1), 17718. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73955-8>
- LIU, J.; LI, S.; LIU, J.; LIANG, B.; WANG, X.; WANG, H.; LI, W.; TONG, Q.; YI, J.; ZHAO, L.; XIONG, L.; GUO, C.; TIAN, J.; LUO, J.; YAO, J.; PANG, R.; SHEN, H.; PENG, C.; LIU, T.; ... ZHENG, X.

- (2020). Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*, 55, 102763. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102763>
- LIU, Z.; XIAO, X.; WEI, X.; LI, J.; YANG, J.; TAN, H.; ZHU, J.; ZHANG, Q.; WU, J. & LIU, L. (2020). Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *Journal of Medical Virology*, 92(6), 595-601. <https://doi.org/10.1002/jmv.25726>
- Lymphocytopenia* | NHLBI, NIH. (s. f.). Recuperado 14 de abril de 2021, de <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/lymphocytopenia>
- MAGGI, E.; CANONICA, G. W. & MORETTA, L. (2020). COVID-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 146(1), 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.001>
- MÄRTEN, A.; ZISKE, C.; SCHÖTTKER, B.; RENOTH, S.; WEINECK, S.; BUTTGEREIT, P.; SCHAKOWSKI, F.; VON RÜCKER, A.; SAUERBRUCH, T. & SCHMIDT-WOLF, I. G. H. (2001). Interactions Between Dendritic Cells and Cytokine-Induced Killer Cells Lead to an Activation of Both Populations: *Journal of Immunotherapy*, 24(6), 502-510. <https://doi.org/10.1097/00002371-200111000-00007>
- MARTIN, A.; MARKHVIDA, M.; HALLEGATTE, S. & WALSH, B. (2020). Socio-Economic Impacts of COVID-19 on Household Consumption and Poverty. *Economics of Disasters and Climate Change*, 4(3), 453-479. <https://doi.org/10.1007/s41885-020-00070-3>
- MCNAB, F.; MAYER-BARBER, K.; SHER, A.; WACK, A. & O'GARRA, A. (2015). Type I interferons in infectious disease. *Nature Reviews Immunology*, 15(2), 87-103. <https://doi.org/10.1038/nri3787>
- MEHTA, P.; MCAULEY, D. F.; BROWN, M.; SANCHEZ, E.; TATTERSALL, R. S. & MANSON, J. J. (2020). COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 395(10229), 1033-1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- MITTAL, R.; NI, R. & SEO, J.-H. (2020). The flow physics of COVID-19. *Journal of Fluid Mechanics*, 894, F2. <https://doi.org/10.1017/jfm.2020.330>
- MONTANGUTELLI, X.; PROT, M.; LEVILLAYER, L.; SALAZAR, E. B.; JOUVION, G.; CONQUET, L.; DONATI, F.; ALBERT, M.; GAMBARO, F.; BEHILLIL, S.; ENOUF, V.; ROUSSET, D.; JAUBERT, J.; REY, F.; VAN DER WERF, S. & SIMON-LORIERE, E. (2021). *The B1.351 and P.1 variants extend SARS-CoV-2 host range to mice* [Preprint]. *Microbiology*. <https://doi.org/10.1101/2021.03.18.436013>
- MOORE, J. B. & JUNE, C. H. (2020). Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 368(6490), 473-474. <https://doi.org/10.1126/science.abb8925>
- NIENHOLD, R.; CIANI, Y.; KOELZER, V. H.; TZANKOV, A.; HASLBAUER, J. D.; MENTER, T.; SCHWAB, N.; HENKEL, M.; FRANK, A.; ZSIKLA, V.; WILLI, N.; KEMPF, W.; HOYLER, T.; BARBARESCHI, M.; MOCH, H.; TOLNAY, M.; CATHOMAS, G.; DEMICHELIS, F.; JUNT, T. & MERTZ, K. D. (2020). Two distinct immunopathological profiles in autopsy lungs of COVID-19. *Nature Communications*, 11(1), 5086. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18854-2>

- NILE, S. H.; NILE, A.; QIU, J.; LI, L.; JIA, X. & KAI, G. (2020). COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 53, 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.002>
- PACES, J.; STRIZOVA, Z.; SMRZ, D. & CERNY, J. (2020). COVID-19 and the Immune System. *Physiological Research*, 379-388. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934492>
- PAN, M.; KALIE, E.; SCAGLIONE, B. J.; RAVECHE, E. S.; SCHREIBER, G. & LANGER, J. A. (2008). Mutation of the IFNAR-1 Receptor Binding Site of Human IFN- $\alpha$ 2 Generates Type I IFN Competitive Antagonists<sup>†</sup>. *Biochemistry*, 47(46), 12018-12027. <https://doi.org/10.1021/bi801588g>
- PARK, A. & IWASAKI, A. (2020). Type I and Type III Interferons – Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host & Microbe*, 27(6), 870-878. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.008>
- PASRIJA, R. & NAIME, M. (2020). The Deregulated Immune Reaction and Cytokines Release Storm (CRS) in COVID-19 disease. *International Immunopharmacology*, 107225. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107225>
- PIROFSKI, L. & CASADEVALL, A. (2020). Pathogenesis of COVID-19 from the Perspective of the Damage-Response Framework. *MBio*, 11(4), e01175-20, /mbio/11/4/mBio.01175-20.atom. <https://doi.org/10.1128/mBio.01175-20>
- PROKUNINA-OLSSON, L. (2019). Genetics of the Human Interferon Lambda Region. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 39(10), 599-608. <https://doi.org/10.1089/jir.2019.0043>
- PUEL, A.; CYPOWYJ, S.; BUSTAMANTE, J.; WRIGHT, J. F.; LIU, L.; LIM, H. K.; MIGAUD, M.; ISRAEL, L.; CHRABIEH, M.; AUDRY, M.; GUMBLETON, M.; TOULON, A.; BODEMER, C.; EL-BAGHDADI, J.; WHITTERS, M.; PARADIS, T.; BROOKS, J.; COLLINS, M.; WOLFMAN, N. M.; ... CASANOVA, J.-L. (2011). Chronic Mucocutaneous Candidiasis in Humans with Inborn Errors of Interleukin-17 Immunity. *Science*, 332(6025), 65-68. <https://doi.org/10.1126/science.1200439>
- PUJADAS, E.; CHAUDHRY, F.; MCBRIDE, R.; RICHTER, F.; ZHAO, S.; WAJNBERG, A.; NADKARNI, G.; GLICKSBERG, B. S.; HOULDSWORTH, J. & CORDON-CARDO, C. (2020). SARS-CoV-2 viral load predicts COVID-19 mortality. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(9), e70. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30354-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30354-4)
- ROSENBERG, H. F. & FOSTER, P. S. (2021). Eosinophils and COVID-19: Diagnosis, prognosis, and vaccination strategies. *Seminars in Immunopathology*. <https://doi.org/10.1007/s00281-021-00850-3>
- RUCH, T. R. & MACHAMER, C. E. (2012). The Coronavirus E Protein: Assembly and Beyond. *Viruses*, 4(3), 363-382. <https://doi.org/10.3390/v4030363>
- SALLARD, E.; LESCURE, F.-X.; YAZDANPANA, Y.; MENTRE, F. & PEIFFER-SMADJA, N. (2020). Type 1 interferons as a potential treatment against COVID-19. *Antiviral Research*, 178, 104791. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104791>
- SALLUSTO, F. (2016). Heterogeneity of Human CD4<sup>+</sup> T Cells Against Microbes. *Annual Review of Immunology*, 34(1), 317-334. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112056>

- SAMUI, P.; MONDAL, J. & KHAJANCHI, S. (2020). A mathematical model for COVID-19 transmission dynamics with a case study of India. *Chaos, Solitons & Fractals*, 140, 110173. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110173>
- SHEREEN, M. A.; KHAN, S.; KAZMI, A.; BASHIR, N. & SIDDIQUE, R. (2020). COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*, 24, 91-98. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>
- SHIONO, H. (2003). Spontaneous production of anti-IFN- and anti-IL-12 autoantibodies by thymoma cells from myasthenia gravis patients suggests autoimmunization in the tumor. *International Immunology*, 15(8), 903-913. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxg088>
- SIMMONS, G.; ZMORA, P.; GIERER, S.; HEURICH, A. & PÖHLMANN, S. (2013). Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: Cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. *Antiviral research*, 100(3), 605-614. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.09.028>
- SNIJDER, E. J.; DECROLY, E. & ZIEBUHR, J. (2016). The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. En *Advances in Virus Research* (Vol. 96, pp. 59-126). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.008>
- SONG, J.-W.; ZHANG, C.; FAN, X.; MENG, F.-P.; XU, Z.; XIA, P.; CAO, W.-J.; YANG, T.; DAI, X.-P.; WANG, S.-Y.; XU, R.-N.; JIANG, T.-J.; LI, W.-G.; ZHANG, D.-W.; ZHAO, P.; SHI, M.; AGRATI, C.; IPPOLITO, G.; MAEURER, M.; ... ZHANG, J.-Y. (2020). Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19. *Nature Communications*, 11(1), 3410. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17240-2>
- SØREIDE, K.; HALLET, J.; MATTHEWS, J. B.; SCHNITZBAUER, A. A.; LINE, P. D.; LAI, P. B. S.; OTERO, J.; CALLEGARO, D.; WARNER, S. G.; BAXTER, N. N.; TEH, C. S. C.; NG-KAMSTRA, J.; MEARA, J. G.; HAGANDER, L. & LORENZON, L. (2020). Immediate and long-term impact of the COVID-19 pandemic on delivery of surgical services: Impact of COVID-19 pandemic on delivery of surgical services. *British Journal of Surgery*. <https://doi.org/10.1002/bjs.11670>
- STEINMAN, R. M. & BANCHEREAU, J. (2007). Taking dendritic cells into medicine. *Nature*, 449(7161), 419-426. <https://doi.org/10.1038/nature06175>
- TAN, Y.; ZHOU, J.; ZHOU, Q.; HU, L. & LONG, Y. (2021). Role of eosinophils in the diagnosis and prognostic evaluation of COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 93(2), 1105-1110. <https://doi.org/10.1002/jmv.26506>
- TANG, S.; MAO, Y.; JONES, R. M.; TAN, Q.; JI, J. S.; LI, N.; SHEN, J.; LV, Y.; PAN, L.; DING, P.; WANG, X.; WANG, Y.; MACINTYRE, C. R. & SHI, X. (2020). Aerosol transmission of SARS-CoV-2? Evidence, prevention and control. *Environment International*, 144, 106039. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106039>
- TENNENT, G. A.; BRENNAN, S. O.; STANGOU, A. J.; O'GRADY, J.; HAWKINS, P. N. & PEPYS, M. B. (2007). Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver. *Blood*, 109(5), 1971-1974. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-08-040956>



- THE COVID TEAM, ZHANG, S.-Y.; ZHANG, Q.; CASANOVA, J.-L. & SU, H. C. (2020). Severe COVID-19 in the young and healthy: Monogenic inborn errors of immunity? *Nature Reviews Immunology*, 20(8), 455-456. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0373-7>
- TUFAN, A.; GÜLER, A. A. & MATUCCI-CERINIC, M. (2020). COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. *Turk J Med Sci*, 13.
- VAN EEDEN, C.; KHAN, L.; OSMAN, M. S. & COHEN TERVAERT, J. W. (2020). Natural Killer Cell Dysfunction and Its Role in COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6351. <https://doi.org/10.3390/ijms21176351>
- WANG, C.; HORBY, P. W.; HAYDEN, F. G. & GAO, G. F. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*, 395(10223), 470-473. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9)
- WANG, F.; NIE, J.; WANG, H.; ZHAO, Q.; XIONG, Y.; DENG, L.; SONG, S.; MA, Z.; MO, P. & ZHANG, Y. (2020). Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *The Journal of Infectious Diseases*, 221(11), 1762-1769.
- WEBER, A.; WASILIEW, P. & KRACHT, M. (2010). Interleukin-1 (IL-1) Pathway. *Science Signaling*, 3(105), cm1-cm1. <https://doi.org/10.1126/scisignal.3105cm1>
- WEERD, N. A.; VIVIAN, J. P.; LIM, S. S.; HUANG, S. U. & HERTZOG, P. J. (2020). Structural integrity with functional plasticity: What type I IFN receptor polymorphisms reveal. *Journal of Leukocyte Biology*, 108(3), 909-924. <https://doi.org/10.1002/JLB.2MR0420-152R>
- WHO CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19) DASHBOARD. (s. f.). Recuperado 18 de febrero de 2021, de <https://covid19.who.int>
- WHO CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19) DASHBOARD. (s. f.). Recuperado 20 de abril de 2021, de <https://covid19.who.int>
- WILK, A. J.; RUSTAGI, A.; ZHAO, N. Q.; ROQUE, J.; MARTÍNEZ-COLÓN, G. J.; MCKECHNIE, J. L.; IVISON, G. T.; RANGANATH, T.; VERGARA, R.; HOLLIS, T.; SIMPSON, L. J.; GRANT, P.; SUBRAMANIAN, A.; ROGERS, A. J. & BLISH, C. A. (2020). A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19. *Nature Medicine*, 26(7), 1070-1076. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0944-y>
- XI, Y.; DAY, S. L.; JACKSON, R. J. & RANASINGHE, C. (2012). Role of novel type I interferon epsilon in viral infection and mucosal immunity. *Mucosal Immunology*, 5(6), 610-622. <https://doi.org/10.1038/mi.2012.35>
- XIA, H.; CAO, Z.; XIE, X.; ZHANG, X.; CHEN, J. Y.-C.; WANG, H.; MENACHERY, V. D.; RAJSBAUM, R. & SHI, P.-Y. (2020). Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. *Cell Reports*, 33(1), 108234. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108234>
- YALE IMPACT TEAM, LUCAS, C.; WONG, P.; KLEIN, J.; CASTRO, T. B. R.; SILVA, J.; SUNDARAM, M.; ELLINGSON, M. K.; MAO, T.; OH, J. E.; ISRAELOW, B.; TAKAHASHI, T.; TOKUYAMA, M.; LU, P.; VENKATARAMAN, A.; PARK, A.; MOHANTY, S.; WANG, H.; WYLLIE, A. L.; ... IWASAKI, A. (2020). Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*, 584(7821), 463-469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2588-y>

- YE, Q.; WANG, B. & MAO, J. (2020). The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *Journal of Infection*, 80(6), 607-613. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>
- YOSHIMOTO, F. K. (2020). *The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19*. 19.
- ZAIM, S. (2020). COVID-19 and Multiorgan Response. *Curr Probl Cardiol*, 21.
- ZHANG, J.-M. & AN, J. (2007). Cytokines, Inflammation, and Pain. *International Anesthesiology Clinics*, 45(2), 27-37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
- ZHANG, L.; LONG, Y.; XIAO, H.; YANG, J.; TOULON, P. & ZHANG, Z. (2018). Use of D-dimer in oral anticoagulation therapy. *International Journal of Laboratory Hematology*, 40(5), 503-507. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12864>
- ZHANG, P.; GAO, Q.; WANG, T.; KE, Y.; MO, F.; JIA, R.; LIU, W.; LIU, L.; ZHENG, S.; LIU, Y.; LI, L.; WANG, Y.; XU, L.; HAO, K.; YANG, R.; LI, S.; LIN, C. & ZHAO, Y. (2020). *Evaluation of recombinant nucleocapsid and spike proteins for serological diagnosis of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)*. 28.
- ZHANG, Q. (2020). Human genetics of life-threatening influenza pneumonitis. *Human Genetics*, 139(6-7), 941-948. <https://doi.org/10.1007/s00439-019-02108-3>
- ZHANG, Q.; BASTARD, P.; LIU, Z.; LE PEN, J.; MONCADA-VELEZ, M.; CHEN, J.; OGISHI, M.; SABL, I. K. D.; HODEIB, S.; KOROL, C.; ROSAIN, J.; BILGUVAR, K.; YE, J.; BOLZE, A.; BIGIO, B.; YANG, R.; ARIAS, A. A.; ZHOU, Q.; ZHANG, Y.; ... CASANOVA, J.-L. (2020). Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science*, 370(6515), eabd4570. <https://doi.org/10.1126/science.abd4570>
- ZHENG, Z.; PENG, F.; XU, B.; ZHAO, J.; LIU, H.; PENG, J.; LI, Q.; JIANG, C.; ZHOU, Y.; LIU, S.; YE, C.; ZHANG, P.; XING, Y.; GUO, H. & TANG, W. (2020). Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *Journal of Infection*, 10.
- ZHOU, M.-Y.; XIE, X.-L.; PENG, Y.-G.; WU, M.-J.; DENG, X.-Z.; WU, Y.; XIONG, L.-J. & SHANG, L.-H. (2020). From SARS to COVID-19: What we have learned about children infected with COVID-19. *International Journal of Infectious Diseases*, 96, 710-714. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.090>
- ZHOU, Y.; FU, B.; ZHENG, X.; WANG, D.; ZHAO, C.; QI, Y.; SUN, R.; TIAN, Z.; XU, X. & WEI, H. (2020). Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. *National Science Review*, 7(6), 998-1002. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa041>
- ZHOU, Z.; REN, L.; ZHANG, L.; ZHONG, J.; XIAO, Y.; JIA, Z.; GUO, L.; YANG, J.; WANG, C.; JIANG, S.; YANG, D.; ZHANG, G.; LI, H.; CHEN, F.; XU, Y.; CHEN, M.; GAO, Z.; YANG, J.; DONG, J.; ... WANG, J. (2020). Overly Exuberant Innate Immune Response to SARS-CoV-2 Infection. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3551623>
- ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; LI, X.; YANG, B.; SONG, J.; ZHAO, X.; HUANG, B.; SHI, W.; LU, R.; NIU, P.; ZHAN, F.; MA, X.; WANG, D.; XU, W.; WU, G.; GAO, G. F. & TAN, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727-733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>