

## Investigación

# COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento? Revisión Sistemática

**COVID-19: molecular aspects of the disease, diagnosis and treatment. What do we know so far?**

AUTORA

**DRA. CORINA VERÓNICA SASSO**

Centro de Investigaciones Odontológicas,  
Facultad de Odontología. Universidad Nacional  
de Cuyo.

AUTOR CORRESPONDIENTE

**DR. RODOLFO MATÍAS ORTIZ FLORES**

Cátedra de Microbiología,  
Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Cuyo.  
E-mail: rortiz@fodonto.uncu.edu.ar.

### RESUMEN

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es un tipo de neumonía viral originada en Wuhan, China, en diciembre de 2019, que es causada por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2). La aparición del SARS-CoV-2 se ha marcado como la tercera introducción de un coronavirus altamente patógeno en la población humana después del coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) en el siglo XXI. Hasta el momento el SARS-CoV-2 ha causado casi 63 millones de infectados a nivel mundial, y más de 1,5 millones de muertes, provocando una crisis global tanto sanitaria como económica. En esta revisión abordaremos las características moleculares del virus, de la patogenia, y discutiremos los tipos de diagnóstico y tratamiento de acuerdo a los reportes científicos disponibles hasta el momento.

Palabras Claves: COVID-19; SARS-CoV-2; Proteína S; ACE-2; RT-PCR

### ABSTRACT

*Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a type of viral pneumonia originating in Wuhan, China, in December 2019, which is caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). The emergence of SARS-CoV-2 has been marked as the third introduction of a highly pathogenic coronavirus to the human population after the severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) in the XXI century. The COVID-19 epidemic was declared by the World Health Organization (WHO) as a public health emergency of international concern on January 30, 2020. SARS-CoV-2 quickly began to spread globally, and on March 11, 2020, the WHO officially declared the disease a pandemic. So far SARS-CoV-2 has created around 63 million infected worldwide, and almost 1.5 million deaths. In this review we will address the molecular characteristics of the virus pathogenesis, and we will determine the types of diagnosis and treatment according to do to the scientific reports available so far.*

### INTRODUCCIÓN

La pandemia causada por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), ha representado una gran

amenaza a la salud mundial, siendo más severa que la causada por otros coronavirus tales como el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV)

y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV). Durante la epidemia en 2002, el SARS-CoV infectó más de 8000 personas en todo el mundo,

## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

causando 800 muertes, lo que representa una tasa de mortalidad del 10%. Mientras que el MERS-CoV en 2012 infectó a 857 personas y causó 334 muertes, provocando una tasa de mortalidad del 35%[1]. Hasta la fecha en que se ha redactado este artículo (21 de julio de 2020) se han reportado 14.729.037 de infectados en todo el mundo, abarcando 188 países. El total de muertes a nivel global asciende a 610.565, lo que representa una tasa de mortalidad del 4% [<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>]. En Argentina hasta la fecha hay 130.774 casos confirmados y 2426 muertes. Y particularmente en Mendoza, hasta el momento hay 517 casos confirmados, y 17 fallecidos [<https://www.argentina.gob.ar/coronavirus/informe-diario/julio2020>]. Actualmente los casos siguen en aumento, causando una crisis global tanto sanitaria como económica, y representando un gran desafío para los gobiernos y la sociedad. El SARS-CoV-2 fue aislado e identificado por primera vez en diciembre de 2019, en pacientes que habían sido expuestos en un mercado de mariscos en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China[2]. La epidemia de COVID-19 fue declarada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una emergencia de salud pública de preocupación internacional el 30 de enero de 2020. Rápidamente el SARS-CoV-2 comenzó su dispersión a nivel global, y el día 11 de marzo de 2020 la OMS declaró oficialmente a la enfermedad como pandemia. En esta revisión abordaremos las características moleculares del virus y la patogenia, y discutiremos los métodos de diagnóstico y los tratamientos de acuerdo a los reportes científicos disponibles hasta el momento.

### CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DEL SARS-COV-2

El SARS-CoV-2 pertenece al grupo de los coronavirus, que son un grupo altamente diverso de virus envueltos de ARN simple cadena[3]. Estos virus pertenecen a

la familia Coronaviridae, los viriones son pleomórficos y tienen un tamaño de 118-136 nm por lo que se los considera virus "grandes y pesados". La estructura de la partícula viral consiste en una nucleocápside formada por el genoma viral al que se encuentran unidas múltiples copias de la proteína N o proteína de nucleocápside. La nucleocápside adopta una estructura helicoidal y presenta forma de ovillo. Como puede verse en la figura 1, rodeando esta estructura se encuentra la envoltura compuesta de una bicapa lipídica en la que se insertan las proteínas virales: S (espícula), E (envoltura) y M (membrana), lo que hace que se trate de un virus envuelto. El virus posee un genoma ARN simple cadena de polaridad positiva, de 26-32 kb de longitud. A partir de esta molécula se sintetizan el total de proteínas necesarias para cumplir el ciclo de replicación completo. El genoma viral codifica al menos 27 proteínas, incluidas 16 proteínas no estructurales y 4 proteínas estructurales: S, E, M y N[4].

Estos virus causan diversas enfermedades que afectan a los sistemas respiratorio, digestivo y neurológico, con una severidad variable en humanos y animales. Las infecciones por coronavirus han causado tradicionalmente un bajo porcentaje de infecciones respiratorias anuales.

(Figura 1).

En las últimas dos décadas, han surgido dos novedosos coronavirus que han causado enfermedades severas en los humanos: el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV)[5,6]. La secuencia genética del SARS-CoV-2 muestra un 80% de similitud con el SARS-CoV y un 50% con el MERS-CoV[7,8], siendo el origen de estos últimos dos virus en murciélagos[9]. Por ello es probable que el SARS-CoV2 se haya originado en murciélagos, aunque aún se desconoce cuál fue el animal hospedador intermediario que causó la infección en humanos. Por

lo tanto, la evidencia del análisis filogenético indica que el SARS-CoV-2 pertenece al género de los betacoronavirus, que incluye al SARS-CoV, y que pueden infectar a humanos, murciélagos y animales salvajes[2].

La proteína de envoltura spike o espícula (S) es una glicoproteína presente en la membrana del virus, y es la responsable de la entrada a las células. La unión de esta proteína a un receptor presente en las células hospedadoras es el primer paso para una infección viral, seguido por la fusión con la membrana celular. La proteína S se proyecta en forma de espículas y es la responsable de la apariencia en forma de corona. En el caso de SARS-CoV-2 es de mayor longitud, ya que tiene entre 16 a 21 nm. Se ha descrito que en el caso de SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 la proteína tiene entre 1104 a 1273 aminoácidos y comprende una subunidad (N)-terminal denominada S1 y una subunidad C-terminal denominada S2. El dominio S1 es responsable de la unión al receptor; y el dominio S2, provoca la fusión con la membrana celular[10]. Se ha reportado que la transmisión en los humanos del SARS-CoV-2 ocurre por la unión entre la proteína S y el receptor denominado enzima convertidora de angiotensina tipo 2 (ACE-2). Esta enzima es una aminopeptidasa que puede estar unida a la membrana celular o en forma soluble que representa la ACE-2 circulante en sangre, y tiene un papel vital en los sistemas cardiovascular e inmune[11]. ACE-2 está involucrado particularmente en la función cardíaca y el desarrollo de hipertensión y diabetes mellitus. Este receptor está altamente expresado en el tracto respiratorio, especialmente en las células alveolares tipo II (AT2) del pulmón, células del esófago y células epiteliales estratificadas, además de otras células, tales como los enterocitos, células de miocardio, células de túbulo proximal de riñón y células uroteliales de la vejiga[12]. Por lo tanto, los pacientes infectados con

## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

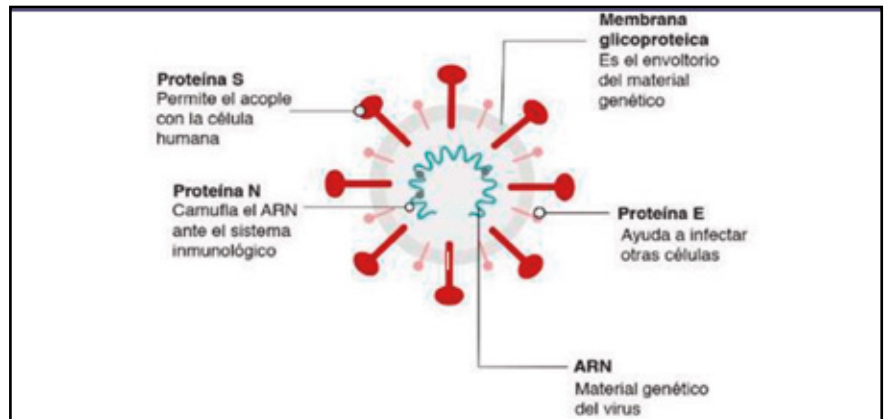
Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

este virus no sólo experimentan problemas del tracto respiratorio, si no que presentan también desórdenes en corazón, riñones y tracto digestivo.

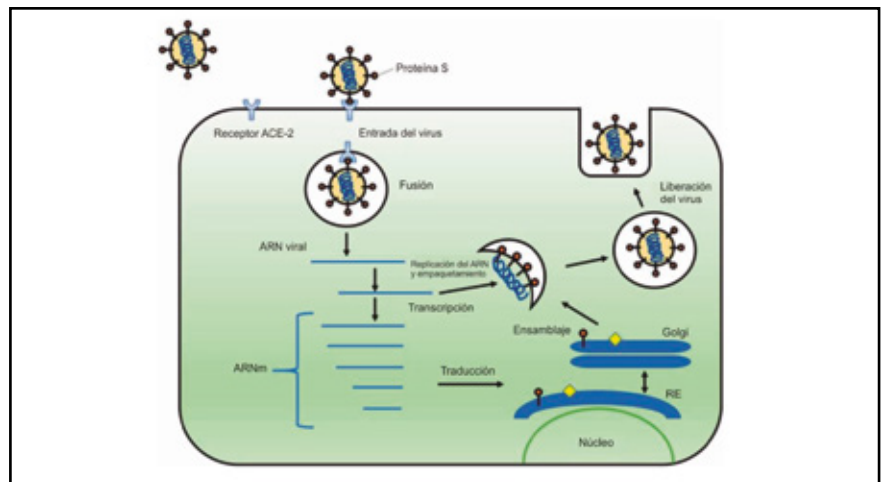
Como se muestra en la figura 2, una vez que ocurre la fusión con la membrana celular, se produce la activación de la proteína S y los consecuentes cambios conformacionales, lo que permite la entrada del virus a las células. El material genético liberado por este virus es el ARN mensajero (ARNm), que está listo para ser traducido a una variedad de proteínas, tanto estructurales como no estructurales que juegan un importante rol en su supervivencia, así como en su poder de virulencia[13]. Finalmente, las proteínas son ensambladas junto con el genoma replicado en el retículo endoplasmático (RE) y en el complejo de Golgi, formando pequeñas vesículas que serán exportadas fuera de la célula por exocitosis.

Los análisis estructurales y biofísicos han demostrado que el SARS-CoV-2 se une a ACE-2 con aproximadamente una afinidad de entre 10 a 20 veces mayor que la proteína S del SARS-CoV. La alta afinidad de la proteína S al receptor ACE-2 humano podría facilitar la propagación del virus en la población humana[14].

La comprensión de la estructura genética y fenotípica de COVID-19 en la patogénesis es importante para la producción de medicamentos y vacunas. Y muchos estudios se centran en aquellas proteínas estructurales que son las que interactúan (como ya se mencionó) con la célula a la que el SARS-CoV-2, infecta. Aun así, poca información se encuentra de aquellas proteínas que también favorecen a la infectividad y patogenia del virus pero que se clasifican como proteínas no estructurales del virus. Angeletti y col. (2020) propone un segmento dentro de regiones no estructurales del genoma de SARS-CoV-2, que no tiene homología con otros coronavirus y sugieren que esa mutación podría explicar la capacidad de contagio de SARS-CoV-2[15,16].



**Figura 1:** Estructura del SARS-CoV-2. Se señalan las principales estructuras del SARS-CoV-2, simplificadas[61].



**Figura 2:** Modelo esquemático del ciclo de vida del virus SARS-CoV-2. La proteína S se une al receptor celular ACE-2 (enzima convertidora de angiotensina) para facilitar la entrada del virus. Luego de la fusión de la membrana plasmática y viral, el ARN del virus se replica y se transcribe, para producir sus proteínas. Finalmente, las proteínas virales y el nuevo ARN son ensamblados en el retículo endoplasmático (RE) y el complejo de Golgi, dando origen al nuevo virus[1].

### PATOGENIA

El período de incubación (infección inicial hasta la aparición de los síntomas) de COVID-19 puede ser entre 0 y 24 días, con un promedio de 5-7 días[17,18]. El 95% de los pacientes experimentan síntomas dentro de los 12.5 días de contacto. Esta información sugiere los 14 días de observación médica o cuarentena para aquellas personas que han sido expuestas al virus o que han tenido contacto estrecho con

un paciente positivo. Los principales síntomas incluyen fiebre, tos seca y fatiga. Otros síntomas no comunes pueden ser pérdida del gusto y olfato, producción de esputo, dolor de cabeza, diarrea, disnea y linfopenia[14]. También hay algunos reportes de pacientes que presentan cuadros gastrointestinales, incluyendo dolor abdominal, y diarrea[19]. Las personas de todas las edades son susceptibles a la enfermedad, incluyendo recién nacidos y

## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

embarazadas. La mayoría de los pacientes presentan síntomas de manera leve a moderada. Sin embargo, hay creciente evidencia de que muchas personas cursan la enfermedad de manera asintomática. Estos pacientes Figura 2. Modelo esquemático del ciclo de vida del virus SARS-CoV-2. La proteína S se une al receptor celular ACE-2 (enzima convertidora de angiotensina) para facilitar la entrada del virus. Luego de la fusión de la membrana plasmática y viral, el ARN del virus se replica y se transcribe, para producir sus proteínas. Finalmente, las proteínas virales y el nuevo ARN son ensamblados en el retículo endoplasmático (RE) y el complejo de Golgi, dando origen al nuevo virus[1]. presentan detección positiva del virus por PCR, pero no presentan signos o síntomas clínicos[20]. Esto representa un alto riesgo, ya que igualmente pueden transmitir el virus a otras personas y puede contribuir a la rápida propagación de COVID-19. Por lo tanto, es un gran desafío prevenir y controlar este tipo de pacientes globalmente. Aproximadamente el 20% de los pacientes con COVID-19 desarrollan enfermedad respiratoria severa. Los pacientes con enfermedad grave típicamente presentan fiebre, tos seca, disnea e infiltrado pulmonar bilateral en imágenes de tórax. Las complicaciones incluyen insuficiencia respiratoria, lesión hepática, lesión miocárdica aguda, lesión aguda de riñón, shock séptico e incluso falla orgánica múltiple. Los factores de riesgo para la progresión de la enfermedad son la mayor edad de los pacientes, el sexo masculino y en aquellos con comorbilidades subyacentes.

### DIAGNÓSTICO

Durante una infección, el virus se multiplica activamente. Cuando comienza, el virus se puede detectar en muestras biológicas (frotis faríngeo o nasofaríngeo, aspirado traqueal o lavado broncoalveolar). En un período de latencia, no es posible detectar la respuesta del sistema inmune,

pero después de unos días, comienza la producción de anticuerpos. Se producen primero anticuerpos del tipo IgM hasta alcanzar un máximo a los 7-10 días para, más tarde, casi desaparecer[21]. Esta respuesta primaria es indicativa de una infección aguda. Posteriormente se producirá la respuesta inmune secundaria, más rápida, intensa y prolongada. Se producirán anticuerpos de tipo IgG y durarán más tiempo en la sangre. Últimos estudios demuestran que estos anticuerpos disminuyen su cantidad luego de 90 días[22]. Además, a nivel de las secreciones mucosas, como las respiratorias, juega un papel predominante la IgA[23]. Para detectar la presencia del virus (detección directa) se emplean dos tipos de test: la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que detecta el genoma del virus o los test inmunológicos que detectan las proteínas (antígenos) del virus. El tercer tipo de test es el que detecta los anticuerpos que se producen como respuesta a la infección, son los test serológicos de detección indirecta del virus. Aquí se expone el proceso general de cada test. | a) RT-PCR b) DETECCIÓN DE ANTÍGENOS c) DETECCIÓN DE ANTICUERPOS (Figura 3).

### Retro-Transcripción-PCR (RT-PCR)

El genoma del coronavirus SARS-CoV-2 es una molécula de ARN monocadena de unos 30 kb. Una vez tomada la muestra mediante un kit de extracción de ácidos nucleicos, se obtiene ARN viral. A continuación, se realiza la retro-transcripción desde el ARN hacia ADN, mediante un kit que emplea una enzima que se denomina transcriptasa reversa o Retro Transcriptasa (de ahí el "RT", del nombre RT-PCR). Luego, el genoma del virus en forma de ADN se amplifica mediante PCR. Esta amplificación consiste en hacer millones de copias de un fragmento del ADN, de forma que podamos "visualizarlo" o detectarlo mediante un sistema concreto. El sistema de PCR a tiempo real permite in-

cluso cuantificar la muestra, es decir, saber cuántas copias del virus tenemos por cantidad. Si la reacción es positiva, demuestra que había ARN del virus, es decir que la persona estaba infectada. Como lo primero que obtuvimos del virus fue su genoma, este tipo de pruebas son las primeras que se desarrollaron. De hecho, desde el 13 de enero, la OMS ya publicó el primer protocolo[24]. Normalmente, se suelen realizar dos ensayos: uno de cribado o screening y un segundo confirmatorio. Incluso se puede hacer un tercero adicional de confirmación. Estos tres ensayos de RT-PCR se diseñan para detectar tres genes distintos del virus. Estos test de PCR son muy específicos y sensibles. Suelen tardar en realizarse unas cuantas horas. Requieren un equipamiento y un personal técnico especializado. Pueden dar resultado positivo en personas antes de que manifiesten síntomas, pero que ya tengan el virus. A lo largo de la enfermedad pueden permitir hacer un seguimiento de cómo va la infección, porque cuando la persona ya se ha curado y no tiene el virus activo, en principio debería dar negativo. Es importante destacar que NO se puede descartar que pacientes convalecientes "sin síntomas" puedan dar positivo en la RT-PCR y seguir siendo portadores del virus.

### Test antigénico

Otra forma de confirmar la presencia del virus es detectar sus proteínas o antígenos. La técnica más común aquí se denomina ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) basados en la proteína nucleocápside (N) y la proteína de espiga (S) del SARS-CoV-2. Sobre un soporte se fijan anticuerpos específicos que reaccionarán contra alguna proteína del virus [25]. Si en la muestra (las mismas que para la RT-PCR) hay partículas virales, éstas quedarán fijadas al anticuerpo. Es como si el virus hubiera sido capturado por el anticuerpo[26]. A continuación, se añade un segundo anticuerpo contra el

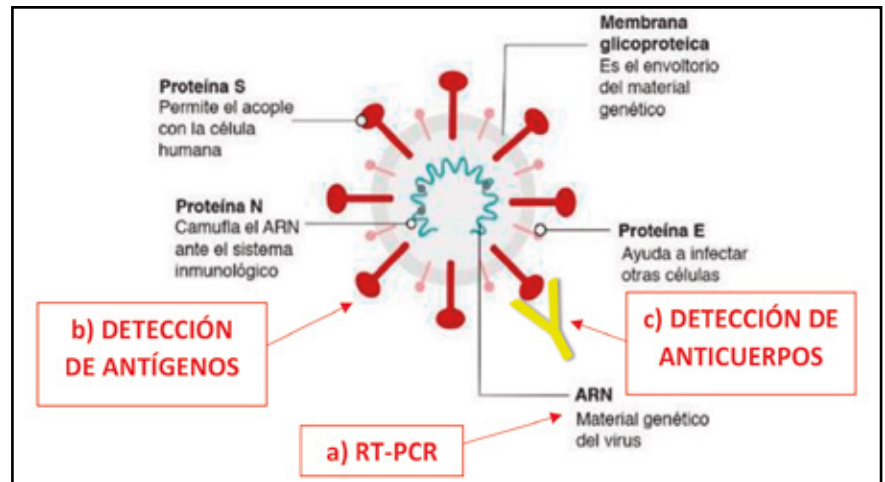
## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

virus de manera que se forme un emparejado o "sándwich": anticuerpo-virus-anticuerpo. Este segundo anticuerpo estará marcado o señalado de alguna manera para poner de manifiesto la reacción. Si la reacción es positiva, demuestra que había proteínas del virus, es decir que la persona estaba infectada. Este tipo de test basado en la detección de moléculas es muy habitual en diagnóstico clínico. Su fundamento es el mismo que las tradicionales pruebas de detección de drogas o los test de embarazo. La ventaja es que son mucho más rápidos, no necesitan un equipamiento específico ni un personal técnico altamente cualificado. La desventaja es que son menos específicos y menos sensibles que la RT-PCR, por lo que un método ELISA específico para COVID-19, se puede usar como método complementario para la RT-PCR de detección de SARS-CoV-2[27]. Un comentario adicional es que si bien la reacción sea positiva no implica que el virus esté activo y sea infectivo. Podemos detectar su genoma o sus proteínas, pero que el virus no esté completo, es decir, podemos estar detectando "restos" del virus.

### Test serológicos

La tercera aproximación consiste en detectar la respuesta inmune frente al virus, los anticuerpos. Es una detección indirecta, es decir que no se detecta el virus, sino que ponemos de manifiesto la respuesta inmune frente a él[28]. En este caso la muestra que vamos a emplear es una gota de sangre, porque vamos a detectar los anticuerpos que se han generado contra el virus. En este caso, sobre el soporte se fijan proteínas del virus, normalmente las proteínas más expuestas hacia el exterior, como la proteína S de la envoltura. Si en la muestra hay anticuerpos contra el virus, se pegarán y quedarán fijados a las proteínas del virus. A continuación, se añade un segundo anticuerpo contra el anticuerpo humano. Este segundo anticuerpo estará marcado



**Figura 3:** Objetivos moleculares del diagnóstico de COVID-19. Para detectar la presencia del virus se emplea la Retro-Transcripción y Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR) (a) que detecta el genoma del virus o los test inmunológicos (b) que detectan las proteínas (antígenos) del virus. También se emplean test para detectar los anticuerpos (c) que se producen como respuesta a la infección.

o señalado de alguna manera para poner de manifiesto la reacción. Si la reacción es positiva, demuestra que había anticuerpos contra el virus, es decir, que la persona en algún momento ha estado en contacto con el virus y su sistema inmune ha reaccionado produciendo anticuerpos. Esto no implica necesariamente que esté infectado, quizá se ha curado, o simplemente ha estado en contacto con el virus y no ha tenido síntomas[29,30]. La ventaja es que son mucho más rápidos que la PCR, y según el tipo de soporte, se pueden realizar en menos de pocos minutos, así como no necesitan un equipamiento específico ni un personal técnico altamente cualificado. La desventaja es que son mucho menos específicos que la RT-PCR, además de que este tipo de test requiere que nuestro organismo produzca anticuerpos en cantidad detectables. Es decir, que una persona puede estar infectada, pero durante los primeros días no dar positivo en este tipo de test. Algunos test de anticuerpos pueden distinguir el tipo de inmunoglobulina: si es IgM, indi-

cativo de una infección reciente, o IgG, indicativo de una respuesta secundaria, y, por tanto, más prolongada. Sin embargo, últimos estudios han demostrado que luego de 90 días, los anticuerpos generados contra el SARS-CoV-2, disminuyen su cantidad retornando a los niveles iniciales de la infección[22].

### En Argentina

En Argentina se han producido dos test de relevancia para ayudar al diagnóstico de COVID-19, detectando o bien partes del SARS-CoV-2, o bien su genoma. El test "COVIDAR IgG" detecta en sangre y suero anticuerpos anti SARS-CoV-2 mediante la técnica de ELISA, la misma que se utiliza, por ejemplo, para la detección de la infección por VIH y hepatitis B. El test "NEOKITCOVID-19" permite testear muestras de ARN y obtener resultados en menos de dos horas (con similar sensibilidad que las técnicas actuales de RT-PCR) y no requiere equipamiento completo (termocicladores en tiempo real). Cualitativamente determina una prueba positiva



## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

o negativa para SARS-CoV-2. Su variante es el ELA-CHEMSTRIP el cual acompaña al kit, un equipo para incubar a 60° [https://www.conicet.gov.ar/los-test-de-diagnostico-rapido-neokit-covid-19-y-ela-chemstripempezaron-a-distribuirse-en-los-hospitales-publicos/].

### TRATAMIENTO

No existen tratamientos específicos para COVID-19 en este momento. Sin embargo, las terapias que se están investigando incluyen medicamentos que se han utilizado para tratar la malaria y las enfermedades autoinmunes; medicamentos antivirales que se desarrollaron para otros virus y anticuerpos de personas que se han recuperado de COVID-19.

### Plasma de convaleciente

Cuando las personas se recuperan de COVID-19, su sangre contiene anticuerpos que sus cuerpos produjeron para combatir el coronavirus y ayudarlos a recuperarse. Los anticuerpos se encuentran en el plasma, que es la fracción acelular de la sangre. El plasma convaleciente, literalmente plasma de pacientes recuperados, se ha utilizado durante más de 100 años para tratar una variedad de enfermedades, desde enfermedades bacterianas, cáncer, hasta sarampión hasta polio, varicela y SARS[31,32]. En la situación actual, el plasma que contiene anticuerpos de un paciente recuperado se administra por transfusión a un paciente que padece COVID-19. Los anticuerpos del donante parecerían ayudar al paciente a combatir la enfermedad, posiblemente acortando la duración o reduciendo la gravedad de la enfermedad, además de proporcionar otros componentes de sangre que el propio paciente no puede producir en su estado convaleciente. Aunque el plasma convaleciente se ha usado durante muchos años, y con un éxito variable, no se sabe mucho sobre cuán efectivo es para tratar el COVID-19, ya que, por ejemplo, los expertos tampoco conocen el mejor

momento durante el curso de la enfermedad para administrar plasma, o bien si la hiperinmunidad no afecta otros procesos del organismo[33].

### Inmunomoduladores

De acuerdo con los datos recopilados por hospitales, alrededor del 20% de sus pacientes con coronavirus desarrollan esta tormenta de citoquinas (inmunomoduladores), en especial de la Interleuquina-1 (IL-1) e IL-6, entre otras, que consiste en una respuesta excesiva y descontrolada del sistema inmune con una hiperinflamación, confinada, en el caso de la COVID-19, sobre todo en el pulmón. Esto provoca neumonías severas que pueden causar insuficiencia respiratoria aguda, descrita como la principal causa de mortalidad de esta enfermedad[34,35]. Anakinra es un antagonista del receptor de IL-1 humano recombinante, es decir, compite con mayor afinidad sobre los receptores específicos de IL-1 de células que van a participar en dicha inflamación. Anakinra se aprobó para tratar la artritis reumatoide y los síndromes periódicos asociados a la criopirina, específicamente la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal[36], sin embargo hay muy pocos datos de ensayos clínicos sobre el uso de inhibidores de IL-1 en pacientes con COVID-19. Por otro lado, se ha explorado el bloqueo selectivo de IL-6 con anticuerpos dirigidos al receptor de IL-6, tal es el caso de Tocilizumab y Sarilumab, o bien dirigidos hacia la misma IL-6, como Siltuximab, y así lograr inhibir la cascada de señalización inflamatoria disparada por esta interleuquina[37]. Una vez más, existen muy pocos datos de ensayos clínicos sobre el uso de inhibidores de IL-6 en pacientes con COVID-19. Finalmente, no hay datos suficientes para recomendar a favor o en contra del uso de inhibidores de interleuquinas[38].

### Fármacos antirretrovirales

Los fármacos antirretrovirales son medi-

camentos antivirales específicos para el tratamiento de infecciones por retrovirus. Actualmente no existe un tratamiento antirretroviral específico para COVID-19. Sin embargo, los medicamentos previamente desarrollados para tratar otras infecciones virales se encuentran en fase de prueba siendo que podrían ser efectivos contra el SARS-CoV-2. Remdesivir es un profármaco que pertenece al grupo de los análogos de nucleótidos, específicamente de la adenosina. Ha demostrado actividad in vitro contra SARS-CoV2[39], y actividad in vitro e in vivo (basada en estudios en animales) contra el SARS y el MERS[40– 42]. Remdesivir se une a la ARN polimerasa dependiente de ARN viral, inhibiendo la replicación viral a través de la terminación prematura de la transcripción de ARN. Un estudio interesante que surgió específicamente para SARS-CoV-2, fue aquel que, en un modelo de macaco rhesus infectados por SARS-CoV-2, el tratamiento con Remdesivir se inició poco después de la inoculación del virus. Los animales tratados con Remdesivir tenían niveles más bajos de virus pulmonar y menos daño pulmonar que los animales control[43]. El Remdesivir es uno de los pocos fármacos antirretrovirales recomendando para el tratamiento de COVID-19 en pacientes hospitalizados que requieren oxígeno suplementario, es decir, de carácter grave, pero no hay datos suficientes sobre la duración óptima de la terapia, ni que recomiende a favor o en contra de Remdesivir para el tratamiento de pacientes con COVID-19 de carácter leve o moderado[44]. La Cloroquina/Hidroxiclороquina ha sido uno de los medicamentos más estudiados contra el SARS, pero se ha concluido no ser recomendados para tratamiento contra el SARS-CoV-2[45,46]. Incluso la combinación de hidroxiclороquina más azitromicina no se recomienda debido al potencial de toxicidad[47]. Así, la acción molecular tanto de la cloroquina como de la hidroxiclороquina se ha demostrado en

## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

varios ensayos, demostrando que ambos compuestos aumentan el pH endosómico, inhibiendo la fusión del SARS-CoV-2 y las membranas de la célula huésped[48]; que la cloroquina inhibe la glucosilación del receptor celular de la enzima convertidora de angiotensina 2, que puede interferir con unión del SARS-CoV-2 al receptor celular[49]; y por último, que in vitro, tanto la cloroquina como la hidroxiclороquina pueden bloquear el transporte del SARS-CoV-2 desde los endosomas tempranos a los endolisosomas, lo que puede ser necesario para la liberación del genoma viral[50]. Sin embargo, los datos clínicos disponibles sobre el uso de cloroquina e hidroxiclороquina para tratar COVID-19 provienen principalmente de pacientes con enfermedad leve. Los datos clínicos sobre el uso de estos medicamentos en pacientes con COVID-19 grave y crítico son muy limitados y al parecer, las dosis a utilizar son tóxicas. La replicación de SARS-CoV-2 depende de la escisión de poliproteínas en una ARN polimerasa dependiente de ARN y una helicasa.<sup>1</sup> Las enzimas responsables de esta escisión son dos proteasas, proteasa tipo 3-quimotripsina (3CLpro) y proteasa tipo papaína (PLpro). Los medicamentos antivirales como la Lopinavir/Ritonavir son inhibidores de la 3CLpro de los coronavirus, in vitro, y esta proteasa parece altamente conservada en SARS-CoV-2[51,52]. Aun así, la Lopinavir/Ritonavir tiene actividad in vitro contra los coronavirus, y se cree que tiene un índice de selectividad pobre, lo que indica que se pueden requerir niveles más altos que los tolerables del medicamento para lograr una inhibición significativa[53]. Al parecer, la Lopinavir/Ritonavir u otros inhibidores de la proteasa del VIH no han demostrado ser favorables, debido a la farmacodinámica desfavorable de estos. Lopinavir se excreta en el

tracto gastrointestinal y, por lo tanto, los enterocitos infectados con coronavirus pueden estar expuestos a concentraciones más altas del medicamento[54]. Simplemente estos medicamentos antivirales no han demostrado un beneficio clínico en pacientes COVID-19. Interferones Los interferones, una familia de citocinas con propiedades antivirales, se han sugerido como un tratamiento potencial para COVID-19 debido a sus propiedades antivirales in vitro e in vivo. Sin embargo, los estudios hasta el momento han demostrado que no hubo ningún beneficio cuando se usaron interferones en pacientes con otras infecciones por coronavirus y las toxicidades significativas de los interferones superan la posibilidad de beneficio. Además, faltan resultados de ensayos clínicos para pacientes con COVID-19. El interferón beta utilizado solo y en combinación con ribavirina en pacientes con SARS y MERS no ha logrado mostrar un efecto positivo significativo en los resultados clínicos[55–57]. Durante la infección por el SARS-CoV-2, los pacientes con presentación clínica grave tienen una actividad de IFN tipos I y III sumamente disminuida[58]. Por otro lado, la administración de IFN- $\gamma$  (de tipo III) a monos infectados les confiere protección parcial frente al SARS-CoV-1[59]. Pero un último estudio sobre el ACE-2, que es el receptor que utiliza el SARS-CoV-2 como vía de entrada a la célula, ha demostrado que el gen ACE-2 es modulado por IFN, es decir que los niveles de los receptores ACE-2 que “abren las puertas al virus” podrían aumentar en presencia de interferones, y eso facilitaría su entrada[60].

### En Argentina

El Ministerio de Salud de la Nación aclara, en su última modificación, que no hay datos clínicos suficientes para recomendar a favor o en contra del uso

de terapias inmunomoduladoras, cloroquina o hidroxiclороquina, Remdesivir, Lopinavir/Ritonavir, ni inmunomoduladores o interferón para el tratamiento de COVID-19, siendo que estas recomendaciones se encuentran en revisión permanente y están sujetas a actualización según la evolución de la pandemia a nivel local e internacional y la evidencia científica disponible [<https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/abordaje-terapeutico>].

**CONSIDERACIONES FINALES** Existen varios ensayos clínicos en curso a nivel mundial (algunos de ellos con participación activa de hospitales de nuestro país), pero por el momento los resultados no son concluyentes y los casos de éxito se refieren a ensayos a pequeña escala, sin validez estadística. También están en proceso más de cien vacunas, en distintas fases de desarrollo y etapas clínicas. Debemos ser optimistas, pero pacientes. En estas circunstancias las investigaciones se realizan bajo una gran presión y basada casi exclusivamente en el concepto de prueba y error que en ocasiones han sido usados anteriormente frente a otros virus. Esta pandemia debe servirnos para que definitivamente los gobiernos mundiales se den cuenta de la imperiosa necesidad de invertir en la generación de conocimiento, y que la inversión en Ciencia, Educación y Sanidad deben ser la base sobre la que se construye una sociedad justa, igualitaria y próspera. No podemos olvidar que, según un estudio de investigadores de la Escuela de Salud Pública de Boston publicado recientemente en la revista Science, aún en el caso de la eliminación aparente de la pandemia en los próximos meses, las estimaciones para los períodos pospandemia prevén rebrotes ocasionales hasta 2024 y no nos queda otra opción que estar preparados.

## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

## BIBLIOGRAFÍA

1. HE F, DENG Y, LI W. *Coronavirus disease 2019: What we know?* *J Med Virol. John Wiley and Sons Inc.*; 2020;92: 719–725. doi:10.1002/jmv.25766
2. ZHU N, ZHANG D, WANG W, LI X, YANG B, SONG J, ET AL. *A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019.* *N Engl J Med.* 2020; doi:10.1056/NEJMoa2001017
3. ZUMLA A, CHAN JFW, AZHAR EI, HUI DSC, YUEN KY. *Coronaviruses-drug discovery and therapeutic options.* *Nature Reviews Drug Discovery.* 2016. doi:10.1038/nrd.2015.37
4. KANDEEL M, IBRAHIM A, FAYEZ M, ALNAZAWI M. *From SARS and MERS CoVs to SARS-CoV-2: Moving toward more biased codon usage in viral structural and nonstructural genes.* *J Med Virol.* 2020; doi:10.1002/jmv.25754
5. CHAN JFW, LAU SKP, TO KKW, CHENG VCC, WOO PCY, YUE KY. *Middle East Respiratory syndrome coronavirus: Another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease.* *Clin Microbiol Rev.* 2015; doi:10.1128/CMR.00102-14
6. CHENG VCC, LAU SKP, WOO PCY, KWOK YY. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection.* *Clinical Microbiology Reviews.* 2007. doi:10.1128/CMR.00023-07
7. REN LL, WANG YM, WU ZQ, XIANG ZC, GUO L, XU T, ET AL. *Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study.* *Chin Med J (Engl).* 2020; doi:10.1097/CM9.0000000000000722
8. LU R, ZHAO X, LI J, NIU P, YANG B, WU H, ET AL. *Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding.* *Lancet.* 2020; doi:10.1016/S0140-6736(20)30251-8
9. CUI J, LI F, SHI ZL. *Origin and evolution of pathogenic coronaviruses.* *Nature Reviews Microbiology.* 2019. doi:10.1038/s41579-018-0118-9
10. HE Y, ZHOU Y, LIU S, KOU Z, LI W, FARZAN M, ET AL. *Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein induces highly potent neutralizing antibodies: Implication for developing subunit vaccine.* *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; doi:10.1016/j.bbrc.2004.09.106
11. TURNER AJ, HISCOX JA, HOOPER NM. *ACE2: From vasopeptidase to SARS virus receptor.* *Trends in Pharmacological Sciences.* 2004. doi:10.1016/j.tips.2004.04.001
12. XU H, ZHONG L, DENG J, PENG J, DAN H, ZENG X, ET AL. *High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa.* *Int J Oral Sci.* 2020; doi:10.1038/s41368-020-0074-x
13. ASTUTI I, YSRAFIL. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response.* *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev. Elsevier Ltd;* 2020;14: 407–412. doi:10.1016/j.dsx.2020.04.020
14. ROTHAN HA, BYRAREDDY SN. *The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak.* *Journal of Autoimmuni-*
- ty. 2020. doi:10.1016/j.jaut.2020.102433
15. BENVENUTO D, ANGELETTI S, GIOVANETTI M, BIANCHI M, PASCARELLA S, CAUDA R, ET AL. *Evolutionary analysis of SARS-CoV-2: how mutation of Non-Structural Protein 6 (NSP6) could affect viral autophagy.* *J Infect. W.B. Saunders Ltd;* 2020;81: e24– e27. doi:10.1016/j.jinf.2020.03.058
16. ANGELETTI S, BENVENUTO D, BIANCHI M, GIOVANETTI M, PASCARELLA S, CICOZZI M. *COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis.* *J Med Virol. John Wiley and Sons Inc.*; 2020;92: 584–588. doi:10.1002/jmv.25719
17. SHI Y, WANG G, CAI X PENG, DENG J WEN, ZHENG L, ZHU H HONG, ET AL. *An overview of COVID-19.* *Journal of Zhejiang University: Science B.* 2020. doi:10.1631/jzus.B2000083
18. LI Q, GUAN X, WU P, WANG X, ZHOU L, TONG Y, ET AL. *Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia.* *New England Journal of Medicine.* 2020. doi:10.1056/NEJMoa2001316
19. XU Z, SHI L, WANG Y, ZHANG J, HUANG L, ZHANG C, ET AL. *Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome.* *Lancet Respir Med.* 2020; doi:10.1016/S2213-2600(20)30076-X
20. GAO Z, XU Y, SUN C, WANG X, GUO Y, QIU S, ET AL. *A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19.* *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* 2020. doi:10.1016/j.jmii.2020.05.001
21. VAN DER HEIDE V. *Neutralizing antibody response in mild COVID-19.* *Nat Rev Immunol. Nature Research;* 2020;20: 352. doi:10.1038/s41577-020-0325-2
22. SEOW J, GRAHAM C, MERRICK B, ACORS S, STEEL KJ, KOUPHOU N, ET AL. *Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection 1 2.* doi:10.1101/2020.07.09.20148429
23. PADOAN A, SCIACOVELLI L, BASSO D, NEGRINI D, ZUIN S, COSMA C, ET AL. *IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study.* *Clin Chim Acta. Elsevier B.V.;* 2020;507: 164–166. doi:10.1016/j.cca.2020.04.026
24. CORMAN V, BLEICKER T, BRÜNK S, DROSTEN C, LANDT O, KOOPMANS M, ET AL. *Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RTPCR [Internet].* 2020. Available: <https://virologie-cm.charite.de/en/>
25. CHEN S, LU D, ZHANG M, CHE J, YIN Z, ZHANG S, ET AL. *Double-antigen sandwich ELISA for detection of antibodies to SARS-associated coronavirus in human serum.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24: 549–553. doi:10.1007/s10096-005-1378-7
26. WOO PCY, LAU SKP, WONG BHL, TSOI HW, FUNG AMY, KAO RYT, ET AL. *Differential sensitivities of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus spike polypeptide enzyme-linked immunosor-*



## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matias Ortiz Flores

### BIBLIOGRAFÍA

- bent assay (ELISA) and SARS coronavirus nucleocapsid protein ELISA for serodiagnosis of SARS coronavirus pneumonia. *J Clin Microbiol.* 2005;43: 3054–3058. doi:10.1128/JCM.43.7.3054-3058.2005
27. LIU W, LIU L, KOU G, ZHENG Y, DING Y, NI W, ET AL. Evaluation of nucleocapsid and spike protein-based enzyme-linked immunosorbent assays for detecting antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol. American Society for Microbiology;* 2020;58. doi:10.1128/JCM.00461-20
28. WU F, WANG A, LIU M, WANG Q, CHEN J, XIA S, ET AL. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *medRxiv.* 2020;
29. LONG QX, TANG XJ, SHI QL, LI Q, DENG HJ, YUAN J, ET AL. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med. Nature Research;* 2020; 1–5. doi:10.1038/s41591-020-0965-6
30. CAO WC, LIU W, ZHANG PH, ZHANG F, RICHARDUS JH. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. [Internet]. *New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society;* 2007. pp. 1162–1163. doi:10.1056/NEJMc070348
31. RAJAM G, SAMPSON J, M. CARLONE G, W. Ades E. *An Augmented Passive Immune Therapy to Treat Fulminant Bacterial Infections. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. Bentham Science Publishers Ltd.;* 2010;5: 157–167. doi:10.2174/157489110791233496
32. VIRDI V, DEPICKER A. Role of plant expression systems in antibody production for passive immunization. *Int J Dev Biol. Int J Dev Biol;* 2013;57: 587–593. doi:10.1387/ijdb.130266ad
33. PIECHOTTA V, CHAI KL, VALK SJ, DOREE C, MONSEF I, WOOD EM, ET AL. Convalescent plasma or hyperimmune immunoglobulin for people with COVID-19: a living systematic review. *Cochrane Database Syst Rev. John Wiley & Sons, Ltd;* 2020; doi:10.1002/14651858.CD013600.pub2
34. YOSHIKAWA T, HILL T, LI K, PETERS CJ, TSENG C-TK. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus-Induced Lung Epithelial Cytokines Exacerbate SARS Pathogenesis by Modulating Intrinsic Functions of Monocyte-Derived Macrophages and Dendritic Cells. *J Virol.* 2009; doi:10.1128/jvi.01792-08
35. ONG EZ, CHAN YFZ, LEONG WY, LEE NMY, KALIMUDDIN S, HAJA MOHIDEEN SM, ET AL. A Dynamic Immune Response Shapes COVID-19 Progression. *Cell Host Microbe.* 2020; doi:10.1016/j.chom.2020.03.021
36. WAUGH J, PERRY CM. Anakinra: A review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *BioDrugs.* 2005. doi:10.2165/00063030-200519030-00005
37. ATAL S, FATIMA Z. IL-6 Inhibitors in the Treatment of Serious COVID-19: A Promising Therapy? *Pharmaceut Med. Adis;* 2020; 1–9. doi:10.1007/s40290-020-00342-z
38. KHAN F, FABBRI L, STEWART I, ROBINSON K, SMYTH AR, JENKINS G. A systematic review of Anakinra, Tocilizumab, Sarilumab and Siltuximab for coronavirus-related infections. *medRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.04.23.20076612
39. WANG M, CAO R, ZHANG L, YANG X, LIU J, XU M, ET AL. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Research.* 2020. doi:10.1038/s41422-020-0282-0
40. SHEAHAN TP, SIMS AC, GRAHAM RL, MENACHERY VD, GRALINSKI LE, CASE JB, ET AL. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci Transl Med.* 2017; doi:10.1126/scitranslmed.aal3653
41. DE WIT E, FELDMANN F, CRONIN J, JORDAN R, OKUMURA A, THOMAS T, ET AL. Prophylactic and therapeutic remdesivir (GS-5734) treatment in the rhesus macaque model of MERS-CoV infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; doi:10.1073/pnas.1922083117
42. SHEAHAN TP, SIMS AC, LEIST SR, SCHÄFER A, WON J, BROWN AJ, ET AL. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat Commun.* 2020; doi:10.1038/s41467-019-13940-6
43. WILLIAMSON BN, FELDMANN F, SCHWARZ B, MEADE-WHITE K, PORTER DP, SCHULZ J, ET AL. Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. *Nature.* 2020; doi:10.1038/s41586-020-2423-5
44. GREIN J, OHMAGARI N, SHIN D, DIAZ G, ASPERGES E, CASTAGNA A, ET AL. Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *N Engl J Med. Massachusetts Medical Society;* 2020;382: 2327–2336. doi:10.1056/NEJMoa2007016
45. M H, T T, P P, M L, R M, J L, ET AL. Treating COVID-19 with Chloroquine. *J Mol Cell Biol. J Mol Cell Biol;* 2020;12. doi:10.1093/JMBC/MJAA014
46. BORBA MGS, VAL FFA, SAMPAIO VS, ALEXANDRE MAA, MELO GC, BRITO M, ET AL. Effect of High vs Low Doses of Chloroquine Diphosphate as Adjunctive Therapy for Patients Hospitalized With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw open. NLM (Medline);* 2020;3: e208857. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.8857
47. GAUTRET P, LAGIER J-C, PAROLA P, HOANG VT, MEDDEB L, MAILHE M, ET AL. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents. Elsevier BV;* 2020; 105949. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105949
48. WANG M, CAO R, ZHANG L, YANG X, LIU J, XU M, ET AL. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro [Internet]. *Cell Research. Springer Nature;* 2020. pp. 269–271. doi:10.1038/s41422-020-0282-0
49. VINCENT MJ, BERGERON E, BENJANNET S, ERICK-

## COVID-19: aspectos moleculares de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento. ¿Qué sabemos hasta el momento?

Dra. Corina Verónica Sasso; Dr. Rodolfo Matías Ortiz Flores

## BIBLIOGRAFÍA

- SON BR, ROLLIN PE, KSIAZEK TG, ET AL. *Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. Virol J. Virol J*; 2005;2. doi:10.1186/1743-422X2-69
50. LIU J, CAO R, XU M, WANG X, ZHANG H, HU H, ET AL. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro [Internet]. *Cell Discovery. Springer Nature*; 2020. pp. 1–4. doi:10.1038/s41421-020-0156-0
51. LIU X, WANG XJ. Potential inhibitors against 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *Journal of Genetics and Genomics*. 2020. doi:10.1016/j.jgg.2020.02.001
52. TAHIR UL QAMAR M, ALQAHTANI SM, ALAMRI MA, CHEN LL. Structural basis of SARSCoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J Pharm Anal*. 2020; doi:10.1016/j.jpba.2020.03.009
53. CHEN F, CHAN KH, JIANG Y, KAO RYT, LU HT, FAN KW, ET AL. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds. *J Clin Virol*. 2004; doi:10.1016/j.jcv.2004.03.003 5
54. CHU CM, CHENG VCC, HUNG IFN, WONG MML, CHAN KH, CHAN KS, ET AL. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: Initial virological and clinical findings. *Thorax. Thorax*; 2004;59: 252– 256. doi:10.1136/thorax.2003.012658
55. AL-TAWFIQ JA, MOMATTIN H, DIB J, MEMISH ZA. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: An observational study. *Int J Infect Dis*. 2014; doi:10.1016/j.ijid.2013.12.003
56. OMRANI AS, SAAD MM, BAIG K, BAHLOUL A, ABDUL-MATIN M, ALAIDAROOS AY, ET AL. Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: A retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2014; doi:10.1016/S1473-3099(14)70920-X
57. SHALHOUB S, FARAHAT F, AL-JIFFRI A, SIMHAIRI R, SHAMMA O, SIDDIQI N, ET AL. IFN- $\alpha$ 2a or IFN- $\beta$ 1a in combination with ribavirin to treat Middle East respiratory syndrome coronavirus pneumonia: A retrospective study. *J Antimicrob Chemother*. 2015; doi:10.1093/jac/kev085
58. HADJADJ J, YATIM N, BARNABEI L, CORNEAU A, BOUSSIER J, PERE H, ET AL. Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe Covid19 patients. *medRxiv*. 2020; doi:10.1101/2020.04.19.20068015
59. PROKUNINA-OLSSON L, ALPHONSE N, DICKENSON RE, DURBIN JE, GLENN JS, HARTMANN R, ET AL. COVID-19 and emerging viral infections: The case for interferon lambda. *Journal of Experimental Medicine*. 2020. doi:10.1084/jem.20200653
60. ZIEGLER CGK, ALLON SJ, NYQUIST SK, MBANO IM, MIAO VN, TZOUANAS CN, ET AL. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*. 2020; doi:10.1016/j.cell.2020.04.035
61. CASCELLA M, RAJNIK M, CUOMO A, DULEBOHN SC, DI NAPOLI R. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19). *StatPearls*. 2020.