

BREVE REVISIÓN DEL SARS-COV, MERS-COV Y SARS-COV-2. CONSIDERACIONES SOBRE LAS INVESTIGACIONES CLINICAS.

Autores: MsC. Liset Alvaré Morfa*, Dra C. Maria Acelia Marrero Miragaya**

*Universidad Central “Martha Abreu” de las Villas. Email: lamorfa@uclv.cu

**Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos. email: acelia@infomed.sld.cu

Antecedentes

Los miembros de la familia *Coronaviridae* son responsables de un amplio espectro de enfermedades en animales y humanos. Hasta el año 2003 atraían poco interés, pero esto cambio dramáticamente con el zoonótico SARS-CoV (coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo) y la aparición una década más tarde del MERS-CoV (coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio) ¹, los cuales han sido confirmados como causas importantes de enfermedades respiratorias graves y de provocar dos epidemias que acumularon cerca de 10.000 casos. En el caso del SARS-CoV, la epidemia duró siete meses, se detectó en 29 países, ocasionó más de 8.000 casos y tuvo una tasa de mortalidad del 10%. Por otro lado, el MERS-CoV sigue transmitiéndose en pequeños brotes desde el 2012 y ha sido detectado en 27 países, reportándose cerca de 2.500 casos, con una mortalidad del 37% ^{2,3}. Actualmente se ha reportado un nuevo coronavirus, el SARS-CoV-2 causante del brote de la enfermedad de Coronavirus 2019 (COVID-19), que más tarde fue anunciado como pandemia de COVID-19 por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta pandemia todavía se está extendiendo rápidamente en todo el mundo en más de 213 países con 1.918.138 casos confirmados y 123.126 muertes, al 10 de abril de 2020 ⁴.

Diversidad de coronavirus

Los coronavirus son miembros de la subfamilia *Coronavirinae* en la familia *Coronaviridae* y el orden *Nidovirales* (Comité Internacional de Taxonomía de virus). Esta subfamilia consta de cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* ¹. El SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 pertenecen a los *Betacoronavirus*, que son causantes de epidemias e infecciones respiratorias graves. Los *Betacoronavirus* a su vez se dividen en cuatro linajes (es decir, A – D). El linaje B, que incluye SARS-CoV y el nuevo SARSCoV-2, mientras que linaje C, incluye el MERS-CoV ⁵.

Estructura general de los coronavirus:

El genoma está formado por un ARN monocatenario de sentido positivo, su tamaño oscila de 26 a 32 kb, siendo el mayor ARN viral conocido. La cápside viral está formada por cuatro proteínas estructurales principales: la glucoproteína de la superficie de la espiga (S), la proteína de envoltura pequeña (E), la proteína de la

membrana (M) y la proteína de la nucleocápside (N) ^{6, 7}. La estructura del CoV se muestra en la figura 1.

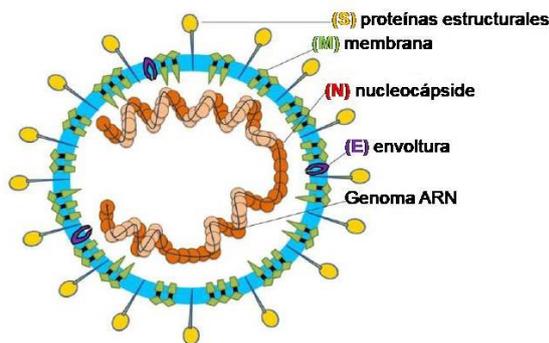


Figura 1: Partícula viral

Etapas de la replicación viral (Figura 2):

1- Unión de glucoproteína de la superficie de la espiga (S) viral al receptor de la célula huésped

La glucoproteína de la superficie de la espiga (S) se une a su receptor celular, para el SARS-CoV y SARS-CoV-2 es la enzima convertidora de angiotensina (ACE 2) y la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) para el MERS-CoV ^{8, 9}.

2- Fusión del virus a la membrana y liberación del ARN viral en el citoplasma

Este proceso ocurre ya sea directamente con la membrana de la célula huésped o con la membrana del endosoma ⁹.

3- Transducción

Transducción de ORF 1a y ORF 1ab para producir dos poliproteínas grandes (pp1a y pp1ab) ^{9, 10}.

4- Proteólisis

pp1a y pp1ab son escindidas por las proteasas codificadas por ORF1a para producir 16 proteínas no estructurales (nsps) que forman el complejo ARN replicasa-transcriptasa. Este complejo se localiza en las membranas intracelulares modificadas que se derivan del retículo endoplásmico rugoso (RE) en la región perinuclear, e impulsa la producción de ARN de sentido negativo (ARN (-)) a través de la replicación y la transcripción ^{9, 10, 11}.

5- Replicación

Durante la replicación, se producen copias de ARN de longitud completa (-) del genoma y se usan como plantillas para genomas de ARN de longitud completa (+) ^{9, 12}.

6- Transcripción

Durante la transcripción, se produce un subconjunto de 7 a 9 ARN subgenómicos, incluidos los que codifican todas las proteínas estructurales, a través de la

transcripción discontinua. En este proceso, los ARN (-) subgenómicos se sintetizan combinando longitudes variables del extremo 3' del genoma con la secuencia líder 5' necesaria para la traducción. Estos ARN subgenómicos (-) se transcriben en ARNm subgenómicos (+). Aunque los diferentes ARNm subgenómicos pueden contener varios ORF, solo se traduce el primer ORF (el más cercano al extremo 5')^{9, 12, 13}.

7- Transducción del primer ORF

Aunque los diferentes ARNm subgenómicos pueden contener varios ORF, solo se traduce el primer ORF (el más cercano al extremo 5') dando como resultado las proteínas estructurales resultantes se ensamblan en la nucleocápside^{9, 13}.

8- Ensamblaje

Las proteínas estructurales resultantes se ensamblan en la nucleocápside y las partículas virales brotan en el compartimento intermedio ER-Golgi (ERGIC)^{9, 11}.

9- Liberación

Las vesículas que contienen viriones se fusionan posteriormente con la membrana plasmática para liberar el virus nacido de la célula infectada⁹.

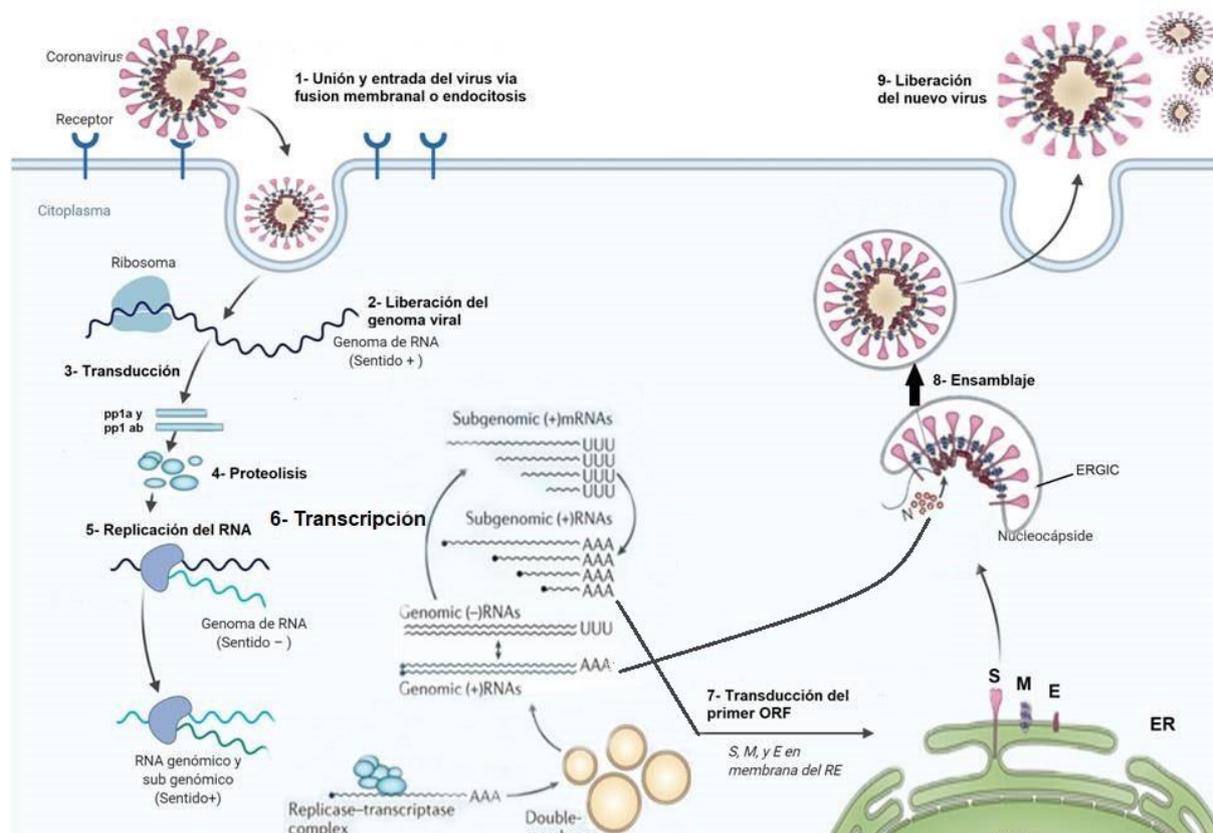


Figura 2. Etapas de la replicación viral

La patogenicidad de SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV2

Los cursos clínicos de SARS y MERS son notablemente similares, aunque hay diferencias sutiles¹⁵. Sin embargo el análisis netico del SARS-CoV-2 reveló que

está estrechamente relacionado con estos dos coronavirus en donde con el SARS-CoV comparte ~ 79% de similitud y del síndrome respiratorio Medio Oriente ~ 50% de similitud ¹⁶. La transmisión de persona a persona ocurre principalmente a través de la transmisión nosocomial. El predominio de la transmisión nosocomial se debe probablemente al hecho de que la eliminación sustancial del virus ocurre solo después del inicio de los síntomas ^{17, 18}, cuando la mayoría de los pacientes ya están buscando atención médica ¹⁹.

El SARS-CoV y el MERS-CoV tienen un período de incubación de ~5 días, y el 95% de los pacientes desarrollan la enfermedad dentro de los 13 días posteriores a la exposición ^{18, 20, 21}. A diferencia del COVID-19 que se le ha establecido un período de incubación de unos 3 días (intervalo 0-24 días) y los pacientes pueden pasar la enfermedad de forma asintomática ²². Los síntomas tempranos comunes son fiebre, escalofríos, tos, malestar general, mialgia y dolor de cabeza, y los menos comunes incluyen diarrea, vómitos y náuseas ^{19, 21, 23, 24, 25}. Las comorbilidades tienen un papel importante para estos virus. Varios factores de riesgo están asociados con un mal resultado de la enfermedad, especialmente la edad avanzada y el sexo masculino ^{19, 20, 21, 26, 27}. Para el MERS y el COVID-19 los factores de riesgo adicionales para un mal pronóstico incluyen diabetes mellitus, hipertensión, cáncer, enfermedad renal y pulmonar y coinfecciones ^{20, 21, 26, 27}.

Debido a la escasez actual de datos sobre infecciones humanas con COVID-19, la patogénesis de este virus es poco conocida; sin embargo, mecanismos similares pueden ser la base de la patogénesis de este como lo son el MERS y SARS.

La unión de la proteína espiga (S) a ACE2 y la posterior regulación negativa de este receptor contribuyen a la lesión pulmonar durante el SARS. Aunque parece contradictorio que la regulación negativa del receptor aumentaría la patología, se ha demostrado que ACE2 puede proteger contra la lesión pulmonar aguda. La regulación a la baja de ACE2 resulta en la producción excesiva de angiotensina II por la enzima ACE relacionada, y se ha sugerido que la estimulación del receptor de angiotensina II tipo 1a (AGTR1A) aumenta la permeabilidad vascular pulmonar, lo que podría explicar el aumento de la patología pulmonar cuando la expresión de ACE2 disminuye ²⁸.

Respuesta inmune

La respuesta inmune innata se activa mediante la detección de patrones moleculares asociados a patógenos virales (PAMP), como el ARN bicatenario (dsRNA) o el ARNm sin tapa. Esto ocurre a través de receptores de reconocimiento de patrones de huésped (PRR), como la proteína del gen I inducible por ácido retinoico (RIG-I) y la proteína 5 asociada a la diferenciación del melanoma (MDA5), potencialmente a través de socios de unión a dsRNA como dependiente de dsRNA inducible por IFN activador de proteína quinasa A (PRKRA). Después de la detección mediada por PRR de un PAMP, la interacción resultante de los PRR con

la proteína de señalización antiviral mitocondrial (MAVS) activa el factor nuclear κ B (NF- κ B) a través de una cascada de señalización que involucra varias quinasas. El NF- κ B activado se transloca al núcleo, donde induce la transcripción de citocinas proinflamatorias. Las quinasas también fosforilan (P) factor 3 regulador de IFN (IRF3) e IRF7, que forman homodímeros y heterodímeros y entran en el núcleo para iniciar la transcripción de interferones de tipo I (IFN de tipo I). La unión de los IFN de tipo I a su receptor dimérico, el receptor IFN α / β (IFNAR), activa el transductor de señal Janus quinasa (JAK) y el activador de la ruta de señalización de transcripción (STAT), en la que las quinasas JAK1 y TYK2 fosforilan STAT1 y STAT2, que forman complejos con IRF9. Estos complejos se mueven hacia el núcleo para iniciar la transcripción de genes estimulados por IFN (ISG) bajo el control de promotores que contienen un elemento de respuesta estimulada por IFN (ISRE). Colectivamente, la expresión de citocinas, IFN e ISG establece una respuesta inmune innata antiviral que limita la replicación viral en células infectadas y vecinas ^{29, 30}.

Evasión de la respuesta inmune

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) han desarrollado mecanismos para interferir con estas vías de señalización. Estas estrategias de subversión involucran tanto proteínas estructurales (membrana (M) y nucleocápside (N) como proteínas no estructurales (nsp1, nsp3b, nsp4a, nsp4b, nsp5, nsp6 y proteasa tipo papaína (PLpro). Nuevamente, se ha demostrado que las proteínas virales inhiben estas vías de señalización del huésped para evadir esta respuesta inmune. I κ B α , NF- κ B inhibidor- α ⁹.

Inmunopatología

La respuesta inmune es esencial para la resolución de una infección, pero también puede provocar inmunopatogénesis. Una indicación de que la inmunopatogénesis puede contribuir al SRAS fue la observación de que las cargas virales disminuyeron mientras que la gravedad de la enfermedad aumentó ^{19,31}. No está claro si una tendencia similar se aplica a MERS ^{32, 33}. Además, la progresión al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) se asocia con la regulación positiva de las citocinas y quimiocinas proinflamatorias, particularmente interleucina-1 β (IL-1 β), IL-8, IL-6, ligando de quimiocina CXC 10 (CXCL10) y CC-quimiocina ligando 2 (CCL2) ^{34,35}; se han detectado niveles plasmáticos aumentados de estas moléculas en pacientes con SARS ^{36, 37, 38, 39}. Los estudios longitudinales retrospectivos en pacientes que se recuperaron del SARS versus aquellos que sucumbieron a la enfermedad han mostrado una expresión temprana de interferón- α (IFN α), IFN γ , CXCL10, CCL2 y proteínas codificadas por genes estimulados por IFN (ISG) en todos los pacientes, pero solo los pacientes que sobrevivieron tenían perfiles de expresión génica que son indicativos del desarrollo de una respuesta inmune adaptativa. Por el contrario, los pacientes que sucumbieron mantuvieron altos niveles de proteínas codificadas por CXCL10, CCL2 e ISG, mientras que los

anticuerpos específicos de espiga estaban presentes en niveles bajos o estaban ausentes ⁴⁰, lo que sugiere que la enfermedad grave está relacionada con la falta de un cambio de un sistema inmune innato respuesta a una respuesta inmune adaptativa.

La participación de la respuesta inmune del huésped en la patogénesis del SARS, y muy probablemente también la del COVID-19, sugiere que los medicamentos que inhiben la replicación viral deberán combinarse con tratamientos que controlen las respuestas inmunes perjudiciales.

Investigaciones clínicas

No hay evidencia actual de ensayos clínicos para recomendar un tratamiento específico para pacientes con infección sospechada o confirmada de COVID-19, lo más importante es asegurar un tratamiento de soporte precoz, administrar antimicrobianos para tratar los posibles agentes etiológicos del síndrome de distrés respiratorio agudo, no administrar corticoides de forma rutinaria y adaptar el tratamiento a las condiciones de cada persona y sus comorbilidades ⁴¹.

Aunque muchos medicamentos tienen actividad *in vitro* contra diferentes coronavirus, actualmente no hay evidencia clínica que respalde la eficacia y seguridad de ninguno contra cualquier coronavirus en humanos, incluido el SARS-CoV-2 ⁴².

Se están publicando los ensayos realizados al inicio de la epidemia en Wuhan. El tratamiento con lopinavir-ritonavir no se asoció con una mejoría clínica ni con una disminución de la mortalidad a los 28 días. A pesar de estos resultados nada alentadores, se necesitan más estudios sobre este tratamiento ⁴³.

También se están evaluando otros medicamentos como la cloroquina, el arbidol, el remdesivir, tocilizumab, interferón y el favipiravir, en algunos casos con resultados prometedores aunque todavía con estudios iniciales y no controlados ⁴⁴.

Hasta la fecha hay muchos ensayos clínicos de COVID-19 registrados en todo el mundo y los números están aumentando a diario. La Sociedad Cubana de Farmacología en su **sección de clínica** quisiera recordar algunos puntos clave al realizar investigaciones clínicas sobre medicamentos:

- Cuidado al interpretar los datos *in vitro* al uso *in vivo*. Los ejemplos son relacionados a la cloroquina e hidroxiclороquina, ivermectina (las concentraciones utilizadas en muchos estudios *in vitro* no son compatibles con la dosificación en humanos) y en algunos casos los datos del metabolismo / excreción no se consideran adecuadamente. Los datos *in vitro* pueden decir de una eficacia antiviral de la hidroxiclороquina pero no siempre reflejan la eficacia clínica como ya fue demostrado en el caso del ARN del virus chikungunya.

- No quiera acelerar resultados y mantenga el diseño adecuado a cada estudio, sea cual sea la emergencia. Se necesitan ensayos clínicos con potencia adecuada en humanos, en particular ensayos controlados, aleatorizados, doble ciego comparado con estándar para evitar sesgos y reconocer la importancia de un grupo de control para evitar el sesgo del curso normal de la enfermedad. La oportunidad debe buscarse con el uso de diseños adaptativos, en estudios grandes y con la potencia adecuada, para eliminar los tratamientos que son claramente ineficaces y agregar nuevos candidatos potenciales.

- Los estudios de uso racional del medicamento necesitan del conocimiento de farmacocinética y farmacodinamia (PK / PD), interacciones, contraindicaciones, farmacogenómica y farmacovigilancia clara. Por ejemplo, la hidroxicloroquina tiene una vida media larga y requiere una dosis de carga.

- Los criterios de inclusión / exclusión del paciente deben estar claramente definidos y metodológicamente estandarizados. Los criterios diagnósticos deben tener una definición clara de la enfermedad y su gravedad (por ejemplo, método para COVID-19 confirmación: ¿RT-PCR, clínica, radiológica? ¿Definición clínica o radiológica de gravedad? ¿O2 suplementario o requerimiento de ventilación?). Las comorbilidades subyacentes y los tratamientos concomitantes deben estar claramente en la lista, y se necesita un protocolo único de actuación.

- Las variables de respuestas primarias y secundarias deben estar claramente definidas y estandarizadas, y ser clínicamente relevante para evaluar la eficacia y la seguridad de los productos en estudio. Ejemplos de variables de respuesta clínicamente relevantes son: mortalidad, duración de la estancia en unidad de cuidados intensivos / período de ventilación, duración media de la estancia hospitalaria. La negativización de la carga viral no se considera resultado clínicamente relevante.

- Garantizar una adecuada revisión regulatoria y por pares, incluida la revisión ética por los comités institucionales y haber realizado el pre-registro del ensayo. Cada estudio con el correspondiente proceso del consentimiento informado de los pacientes, uso de herramientas de gestión de datos, monitoreo de datos, publicación en revistas revisadas por pares, acceso a datos primarios y difundir los resultados en inglés.

- Los comités de ética deben ser conscientes de la urgencia de los estudios, especialmente los observacionales que tienen riesgo mínimo o nulo de revisión, pero siempre teniendo en cuenta las orientaciones necesarias y preservando la seguridad del paciente en primer lugar.

-Se debe garantizar el acceso a los medicamentos necesarios para los distintos grupos de intervención.

-La futilidad de los ensayos clínicos debe evaluarse, por ejemplo, actualmente hay muchos ensayos de hidroxiclороquina, algunas de las cuales están mal diseñadas y se debe tener buena información disponible antes de que muchos de estos puedan finalizar y confeccionar el informe final. Esta actuación nos parece poco ética.

- Se deben aplicar los mismos estándares de buenas prácticas clínicas (siglas en inglés GCP) a los estudios clínicos con medicamentos / drogas a base de hierbas similar a los estudios tradicionales. El uso de un producto estandarizado es esencial (según farmacopea) y debe garantizarse.

Quisiéramos terminar la reflexión con los resultados actuales publicados como un artículo original en la revista The New England Journal of Medicine titulado: Observational Study of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19. Ellos comienzan con el planteamiento que la hidroxiclороquina se ha administrado ampliamente a pacientes con Covid-19 sin evidencia sólida que respalde su uso. Evaluaron la asociación entre el uso de hidroxiclороquina y la intubación o fallecimiento en un centro médico en la ciudad de Nueva York. De 1446 pacientes consecutivos, 70 fueron excluidos del análisis por haber sido intubados/fallecidos o dados de alta dentro de las 24 horas posteriores al ingreso hospitalario. Se comparó los resultados de los pacientes que recibieron hidroxiclороquina con aquellos en pacientes que no lo hicieron, utilizando un modelo de Cox multivariable con ponderación de probabilidad inversa de acuerdo con el puntaje de propensión. De los 1376 pacientes analizados, con una mediana de seguimiento de 22.5 días, 811 (58.9%) recibieron hidroxiclороquina (600 mg dos veces el primer día, luego 400 mg diarios durante una mediana de 5 días); El 45,8% de los pacientes fueron tratados dentro de las 24 horas posteriores a la presentación en el servicio de urgencias, y el 85,9% dentro de las primeras 48 horas. Los pacientes tratados con hidroxiclороquina estaban más gravemente enfermos al inicio del estudio que aquellos que no recibieron hidroxiclороquina. En el análisis de la variable principal, no hubo asociación significativa entre el uso de hidroxiclороquina y la intubación o la muerte (razón de riesgo, 1.04, intervalo de confianza del 95%, 0.82 a 1.32). Se demuestra que no hay cambios en la asociación entre el uso de hidroxiclороquina y la intubación o fallecimiento. Se necesitan ensayos controlados aleatorios de hidroxiclороquina en pacientes con Covid-19 ⁴⁵.

Referencias bibliográficas

- 1- Jie Cui, Fang Li y Zheng- Li Shi. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nature Reviews, volumen 17, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- 2- WHO Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). WHO. <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>.
- 3- WHO Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. WHO.2015; https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/.

- 4- WHO. 2019. *Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic* [Online]. World Health Organization. Available: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> [Accessed 15/04 2020].
- 5- Michael Letko, Andrea Marzi y Vincent Munster. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology* , volumen 5, 2020 pag 562–569. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0688-y>
- 6- Peña-López B.O. y Rincón-Orozco B. Generalidades de la pandemia por COVID-19 y su asociación genética con el virus del SARS. *Salud UIS*; 2020; 52(2): 83-86. doi: <http://dx.doi.org/10.18273/revsal.v52n2-2020001>
- 7- Pasternak, A. O., Spaan, W. J. y Snijder, E. J. Nidovirus transcription: how to make sense...? *J. Gen. Virol.* **87**, 1403–1421 (2006).
- 8- Raj, V. S. et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. The demonstration that DPP4 is the receptor for MERS-CoV. *Nature* **495**, 251–254 (2013).
- 9- Emmie de Wit, Neeltje van Doremalen, Darryl Falzarano y Vincent J. Munster. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology* volume 14, pages 523–534(2016)
- 10- Perlman, S. y Netland, J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 439–450 (2009).
- 11- Knoops, K. et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol.* **6**, e226 (2008).
- 12- Sevajol, M., Subissi, L., Decroly, E., Canard, B. y Imbert, I. Insights into RNA synthesis, capping, and proofreading mechanisms of SARS-coronavirus. *Virus Res.* **194**, 90–99 (2014).
- 13- Eckerle, L. D. et al. Infidelity of SARS-CoV nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog.* **6**, e1000896 (2010).
- 14- Snijder, E. J. et al. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *J. Mol. Biol.* **331**, 991–1004 (2003).
- 15- Ng, D. L. et al. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am. J. Pathol.* **186**, 652–658 (2016).
- 16- Chih-Cheng Lai , Tzu-Ping Shih, Wen-Chien Ko, Hung-Jen Tang y Po-Ren Hsueh. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2020.
- 17- Anderson, R. M. et al. Epidemiology, transmission dynamics and control of SARS: the 2002–2003 epidemic. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **359**, 1091–1105 (2004).
- 18- Cowling, B. J. et al. Preliminary epidemiological assessment of MERS-CoV outbreak in South Korea, May to June 2015. *Euro Surveill.* **20**, 7–13 (2015).
- 19- Peiris, J. S. et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet* **361**, 1767–1772 (2003).

- 20-Korea Centers for Disease Control and Prevention. Middle East respiratory syndrome coronavirus outbreak in the Republic of Korea, 2015. *Osong Public Health Res. Perspect.* **6**, 269–278 (2015).
- 21-Assiri, A. et al. Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus disease from Saudi Arabia: a descriptive study. *Lancet Infect. Dis.* **13**, 752–761 (2013).
- 22-J. Reina. El SARS-CoV-2, una nueva zoonosis pandémica que amenaza al mundo. VACUNAS-144; No. of Pages 6, 2020.
- 23-Peiris, J. S. et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* **361**, 1319–1325 (2003).
- 24-Booth, C. M. et al. Clinical features and short-term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area. *JAMA* **289**, 2801–2809 (2003).
- 25-Poutanen, S. M. et al. Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. *N. Engl. J. Med.* **348**, 1995–2005 (2003).
- 26-Feikin, D. R. et al. Association of higher MERS-CoV virus load with severe disease and death, Saudi Arabia, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* **21**, 2029–2035 (2015).
- 27-Majumder, M. S., Kluberg, S. A., Mekaru, S. R. y Brownstein, J. S. Mortality risk factors for Middle East respiratory syndrome outbreak, South Korea, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* **21**, 2088–2090 (2015).
- 28-Kuba, K. et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat. Med.* **11**, 875–879 (2005).
- 29-Jensen, S. y Thomsen, A. R. Sensing of RNA viruses: a review of innate immune receptors involved in recognizing RNA virus invasion. *J. Virol.* **86**, 2900–2910 (2012).
- 30-Ge, X. Y. et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature* **503**, 535–538 (2013).
- 31-Wang, W. K. et al. Temporal relationship of viral load, ribavirin, interleukin (IL)-6, IL-8, and clinical progression in patients with severe acute respiratory syndrome. *Clin. Infect. Dis.* **39**, 1071–1075 (2004).
- 32-Drosten, C. et al. Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Lancet Infect. Dis.* **13**, 745–751 (2013).
- 33-Poissy, J. et al. Kinetics and pattern of viral excretion in biological specimens of two MERS-CoV cases. *J. Clin. Virol.* **61**, 275–278 (2014).
- 34-Binnie, A., Tsang, J. L. y dos Santos, C. C. Biomarkers in acute respiratory distress syndrome. *Curr. Opin. Crit. Care* **20**, 47–55 (2014).
- 35-Williams, A. E. & Chambers, R. C. The mercurial nature of neutrophils: still an enigma in ARDS? *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **306**, L217–L230 (2014).
- 36-Baas, T., Taubenberger, J. K., Chong, P. Y., Chui, P. y Katze, M. G. SARS-CoV virus–host interactions and comparative etiologies of acute respiratory distress syndrome as determined by transcriptional and cytokine profiling of formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *J. Interferon Cytokine Res.* **26**, 309–317 (2006).
- 37-Faure, E. et al. Distinct immune response in two MERS-CoV-infected patients: can we go from bench to bedside? *PLoS ONE* **9**, e88716 (2014).
- 38-Kong, S. L., Chui, P., Lim, B. y Salto-Tellez, M. Elucidating the molecular physiopathology of acute respiratory distress syndrome in severe acute respiratory syndrome patients. *Virus Res.* **145**, 260–269 (2009).
- 39-Tang, N. L. et al. Early enhanced expression of interferon-inducible protein-10 (CXCL-10) and other chemokines predicts adverse outcome in severe acute respiratory syndrome. *Clin. Chem.* **51**, 2333–2340 (2005).

- 40- Cameron, M. J. et al. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *J. Virol.* **81**, 8692–8706 (2007).
- 41- Díez Izquierdo L, Gamarra Villaverde M, García-San Miguel Rodríguez-Alarcón L, Latasa Zamalloa P, Monge Corella S, Parra Ramírez L, et al. Nuevo coronavirus 2019-nCoV. Ministerio de Sanidad; Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias; 2020. [Texto completo](#)
- 42- Kalil AC. Treating COVID-19—Off-Label Drug Use, Compassionate Use, and Randomized Clinical Trials During Pandemics. *JAMA*. Published online March 24, 2020. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2763802>
- 43- Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Mar 18. PubMed [PMID: 32187464](#)
- 44- Dong L, Hu S, Gao J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discov Ther.* 2020;14(1):58-60. PubMed [PMID: 32147628](#). [Texto completo](#)
- 45- J. Geleris and Others. Observational Study of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19. *The New England Journal of Medicine*. May 7, 2020 https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2012410?query=C19&cid=DM91569_NEJM_Registered_Users_and_InActive&bid=193036112