



CIENCIAS BIOMÉDICAS

Premio Anual de la Academia de Ciencias de Cuba, 2020

Medidores inflamatorios en mucosa respiratoria superior durante la fase temprana de la infección por SARS-CoV-2

María Caridad Montalvo Villalba ¹ <https://orcid.org/0000-0001-7496-023X>
Odalys Valdés Ramírez ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9352-488X>
Mayra de la Caridad Muné Jiménez ¹ <https://orcid.org/0000-0002-1154-7568>
Javier Martínez Alonso ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9153-5665>
Guelsy Gonzalez Báez ¹ <https://orcid.org/0000-0002-1312-776X>
Amely Arencibia García ¹ <https://orcid.org/0000-0001-5328-130X>
Delmis Alvarez Gainza ¹ <https://orcid.org/0000-0002-0851-4167>
Sonia Resik Aguirre ¹ <https://orcid.org/0000-0001-7318-7206>
María Guadalupe Guzmán Tirado ¹ <https://orcid.org/0000-0003-3927-0844>

¹ Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. La Habana, Cuba

* Autor para la correspondencia: mcary@ipk.sld.cu

RESUMEN

Palabras Claves

SARS-CoV-2; COVID-19; Interferón gamma (IFN- γ); RANTES; Factor transformador del crecimiento beta 1 (TGF- β 1); Inmunopatogénesis

Introducción. El SARS-CoV-2, es el agente causal de la COVID-19. Este virus produce infecciones que oscilan desde formas asintomáticas a sintomáticas, con grados de severidad variable. La tormenta de citoquinas, caracterizada por la liberación descontrolada de mediadores inflamatorios influye en la inmunopatología de la COVID-19. El objetivo fue evaluar si el título viral y el desbalance de la respuesta inmune temprana influían en la presentación clínica de la infección por SARS-CoV-2. **Métodos.** Se empleó el PCR en tiempo real, para determinar el nivel de replicación del SARS-CoV-2 en muestras de exudados nasofaríngeos (ENF). La expresión de mediadores pro-inflamatorios con función antiviral (IFN- γ), quimiocina (RANTES) y antiinflamatorio (TGF β -1) fueron evaluados en células colectadas de los ENF. Se estudiaron individuos sintomáticos y sintomáticos infectados por SARS-CoV-2, en los primeros 10 días de diagnóstico o contacto con la fuente de contagio. Estos se compararon con un grupo control individuos negativos al virus. **Resultados.** El nivel de replicación viral fue similar en los individuos infectados por SARS-CoV-2, independientemente de la presencia de síntomas. Se identificó una expresión elevada de IFN- γ en los casos positivos al SARS-CoV-2, que fue significativamente mayor en los pacientes sintomáticos al compararla con los controles ($p = 0,0393$). La expresión de TGF- β 1 y RANTES fue baja en los individuos infectados por SARS-CoV-2. Se observó una correlación positiva y significativa entre el IFN- γ y TGF- β 1 en los individuos asintomáticos ($r = + 0,61$; $p = 0,0014$). Como conclusiones, los hallazgos sugieren que el desbalance entre los mediadores pro- y antiinflamatorios influyen en la presentación clínica de la infección por SARS-CoV-2.



Inflammatory mediators in mucosa of superior airway during early phase of SARS-CoV-2 infection

ABSTRACT

Keywords

SARS-CoV-2; COVID-19; Interferon gamma (IFN- γ); RANTES; Transformer growth factor beta 1 (TGF- β 1), Immunopathogenesis

Introduction. SARS-CoV-2, is causal agent of COVID-19. This virus causes infections that range from asymptomatic to symptomatic infection, with variable grade of severity. Cytokine storm, characterized for uncontrolled releasing of inflammatory mediators, has effect in the immunopathology of COVID-19. The aim was to evaluate if viral titers and unbalance of early immune response determined the clinical presentation of SARS-CoV-2 infection. **Methods.** Real time PCR was used to identify the level of SARS-CoV-2 replication in nasopharyngeal swabs (NPS). Expression of pro-inflammatory mediators with antiviral (IFN- γ) and chemokine (RANTES) functions were evaluated. TGF β -1 anti-inflammatory cytokine was also determined. In cells collected from NPS. It was studied SARS-CoV-2 asymptomatic and symptomatic individuals; with 10 days or less of onset symptoms or contact with source of infection. A control group negative to virus was used to compare the results. **Results.** Level of viral replication was similar in individuals independently of their symptoms. It was identified a high expression of IFN- γ in SARS-CoV-2 infected subjects, which was significantly increased in symptomatic patients in comparison to controls ($p = 0,0393$). TGF- β 1 and RANTES expression were lower in SARS-CoV-2 positive cases. It was observed a positive and significant correlation between IFN- γ and TGF- β 1 in asymptomatic cases ($r = +0,61$, $p = 0,0014$). As a conclusion, the findings suggest an unbalance between pro-and anti-inflammatory mediators determinates the clinical presentation of SARS-CoV-2 infection.

INTRODUCCIÓN

Desde marzo del 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró como pandemia la infección por el Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2, del inglés: *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), agente causal de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19, del inglés: *Coronavirus Disease 2019*). El espectro clínico de la COVID-19, va desde una infección asintomática, infección respiratoria leve a moderada, hasta una dificultad respiratoria severa, con complicaciones que conducen a un fallo multiórgano. ⁽¹⁾

Las formas severas de la COVID-19 se observan con mayor frecuencia en personas de la tercera edad y en individuos con comorbilidades asociadas, como la diabetes mellitus, trastornos cardiovasculares, enfermedad renal y la obesidad. El SARS-CoV-2 tiene un nivel de replicación alto en las células epiteliales y del sistema inmune innato, de las vías respiratorias altas, que constituyen la primera línea de defensa contra este virus. El reclutamiento y la activación de células de la respuesta inmune, productoras de citoquinas inflamatorias y antiinflamatorias, es indispensable para la eliminación del virus y paradójicamente están relacionadas con la patogénesis de la enfermedad. Dentro de la fisiopatología de la enfermedad, se describe la respuesta inflamatoria descontrolada, conocida como *tormenta de citoquinas*, que se caracteriza

por la producción de citoquinas inflamatorias asociada con las formas graves de la infección por SARS-CoV-2. Varios investigadores observaron que en el contexto de la COVID-19, se produce una regulación alta de la interleuquina (IL)-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que provocan daño alveolar y en la microvasculatura pulmonar. ⁽²⁾

El SARS-CoV-2 se une al receptor 2 de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE2), localizado en la superficie de las células dianas. En el interior de las células infectadas el virus interactúa con receptores citosólicos de la inmunidad innata, estimulan la producción de citoquinas inflamatorias como los interferones (IFN), con actividad antiviral e inmunomoduladora, en particular el IFN gamma (IFN- γ). El factor transformador del crecimiento beta (TGF- β) modula la producción y los efectos del IFN en las infecciones respiratorias. Esta citocina tiene 3 isoformas, siendo el TGF- β 1 la que tiene el papel fundamental en regulación inmune. ⁽³⁾ Para mantener el reclutamiento y tráfico de células inmunes (neutrófilos, macrófagos, células asesinas naturales) es necesario que se produzcan quimioquinas. El RANTES es un quimiotáctico potente, ha sido empleado como marcador subrogado de la actividad del IFN. ⁽⁴⁾

Considerando el papel crucial de la respuesta inmune innata de mucosa en el control temprano de la infección, y por ende, en la presentación clínica de la COVID-19; en el

presente trabajo se emplearon los exudados nasofaríngeos, para evaluar los niveles de expresión de genes de mediadores inflamatorios tempranos. Además, se estimó si el título viral influía en la aparición de síntomas al inicio de la infección por SARS-CoV-2.

MÉTODOS

Población de estudio

Muestras de exudado nasofaríngeos (ENF) fueron colectadas de 45 individuos diagnosticados con SARS-CoV-2 (18 mujeres, edad media igual a 39, 14 años y 27 varones, edad media igual a 40,22 años), de marzo a abril de 2020. Los individuos infectados fueron divididos en asintomáticos (24) y sintomáticos (21); y refirieron de 3 a 10 días de comienzo de los síntomas de COVID-19 o de contacto con casos confirmados. Los pacientes declararon síntomas como fiebre, tos seca, anorexia, fatiga, anosmia, dolor faríngeo y disnea. Ninguna enfermedad crónica fue identificada en los sujetos estudiados. La mayoría de los pacientes estudiados se recuperaron de la infección por SARS-CoV-2, excepto un paciente con síntomas que falleció. En el momento de coleccionar el ENF, ningún individuo tenía antecedentes de tratamiento antiviral o inmunomodulador. Como grupo control se incluyeron 20 individuos (13 mujeres y 7 varones, edad media igual a 45,31 años), negativos SARS-CoV-2, reclutados durante chequeos realizados a trabajadores de la salud. Todos los pacientes y controles que participaron en este estudio fueron tratados de forma anónima e identificados por códigos. Esta investigación fue aprobada por el Comité de Ética para las investigaciones del IPK.

Reverso transcripción PCR en tiempo real para el diagnóstico del SARS-CoV-2

Esta prueba de reverso de transcripción de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR), se realizó siguiendo el protocolo recomendado por la Organización Panamericana de la Salud. A partir de 140 μ L de muestra, el ARN fue extraído usando el estuche comercial de QIAamp Viral RNA Kit (QIAGEN, Alemania). En un volumen final de 25 μ L se realizó la RT-PCR, que contenía 5 μ L de ARN, 2X solución de reacción y enzimas del estuche One-Step RT rt-PCR (Invitrogen, Life Technologies). El programa de ciclaje empleado fue 55 °C por 10 min. para la transcripción reversa, seguida por 95 °C por 3 min. y 45 ciclos de 95 °C por 15 seg., 58 °C por 30 seg., con oligonucleótidos y sondas específicas para el gen de la envoltura. La RT-PCR para el gen de la polimerasa fue usada como prueba confirmatoria. Como control de calidad se incluyeron controles internos, negativos y positivos en cada ensayo. El título viral fue semicuantificado por el valor del ciclo umbral (Ct) detectado en la RT-PCR.

Cuantificación relativa de citoquinas y quimioquina

El ARNm fue extraído de las células precipitadas de los ENF usando el estuche RNA Easy kit (QIAGEN, Alemania), siguiendo estrictamente el protocolo del fabricante. Las muestras de ARN fueron tratadas con la solución que elimina ADN genómico (gDNA Wipeout). La RT-PCR para la cuantificación de IFN- γ se realizó con el sistema TaqMan Universal One-Step qRT-PCR (Invitrogen, Life Technologies), siguiendo el protocolo descrito por Kim et al. ⁽⁵⁾ El gen de la enzima glutaraldehído-3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH) se usó como gen de referencia. La expresión de RANTES y TGF- β 1 fue estimada según lo descrito por Ziklo et al.; ⁽⁶⁾ primeramente el ARNm fue reverso-transcrito usando cebadores random y la enzima SuperScript® Reverse Transcriptase Kit (Invitrogen, Life Technologies). El ADNc sintetizado fue empleado como molde en la reacción de PCR, usando QuantiFastTMSYBR® Green PCR Kit (QIAGEN, Alemania). El gen de la beta actina (β actin) fue empleado para normalizar la expresión de RANTES y TGF- β 1. Todos los PCR fueron corridos en triplicado en el equipo de Rotor Gene Q software 2.3.1.49. La concentración relativa del ARNm de las citoquinas fue controlada con los valores de Ct de los genes constitutivos, y transformada para cuantificar usando el método:

$$2^{-\Delta Ct} (\Delta Ct = Ct \text{ gen diana} - Ct \text{ gen constitutivo})$$

Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo, con una selección no aleatorizada de los individuos estudiados, el título viral de SARS-CoV-2 y los niveles de expresión de citoquinas fueron expresados en mediana y rango del intercuartil (m, RIC). Las diferencias y similitudes entre los casos sintomáticos y asintomáticos infectados por SARS-CoV-2 con el grupo control fueron realizadas con la prueba no paramétrica, Mann-Whitney U y Kruskal-Wallis con comparación múltiple Dunn's, para comparar 2 o 3 variables respectivamente. La correlación entre los niveles de expresión de IFN- γ y TGF- β 1 fue analizada con el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman's. La razón entre la mediana del IFN- γ :TGF- β 1 se calculó para estimar la relación entre ambos marcadores, según los grupos definidos en el estudio. Todos los datos fueron evaluados con GraphPad Prism 7 (GraphPad, La Jolla, CA) y los valores de $p < 0,05$ se consideraron como estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Teniendo en cuenta que el valor del Ct, guarda relación con el nivel de replicación viral presente en las muestras de ENF, se identificó que el título de SARS-CoV-2 fue similar en

los casos asintomáticos (33,00; 29,00-37,00) y sintomáticos (30; 27,00-37,00); por lo que la diferencia entre los grupos no fue significativa ($p = 0,4373$).

El IFN- γ se expresó significativamente en individuos infectados por SARS-CoV-2, al comparar con el grupo control (1,18; 0,32-4,64 vs. 0,44; 0,13-0,98; $p = 0,0393$). Esta citoquina tuvo una expresión mayor en los pacientes sintomáticos; en contraste con el grupo control (2,61; 0,39-4,87; $p = 0,0405$). Sin embargo, no se identificó diferencias en la expresión del IFN- γ entre los casos sintomáticos y asintomáticos (0,84; 0,16-4,07; $p = 0,2892$) (figura 1A).

Al analizar el TGF- β 1, se detectó que su expresión fue significativamente más baja en los individuos infectados con SARS-CoV-2, con respecto a los controles (0,05; 0,01-0,09 vs. 0,73; 0,22-2,35; $p < 0,0001$). Según los síntomas, la concentración relativa de ARNm de TGF- β 1 no difirió significativamente entre los grupos, aunque la expresión decreció en personas asintomáticas con respecto a los sintomáticos (0,03; 0,01-0,10 vs. 0,07; 0,04-0,09) (figura 1B).

Teniendo en cuenta que el balance entre citoquinas inflamatorias y antiinflamatorias, está relacionada con la expresión clínica e inmunopatogénesis de la infección por SARS-

CoV-2, se evaluó la correlación entre la expresión de IFN- γ y TGF- β 1. Se identificó una correlación positiva entre ambos biomarcadores en los controles ($r = + 0,2723$) y en los individuos asintomáticos infectados por SARS-CoV-2 ($r = + 0,6141$), la que resultó estadísticamente significativa ($p = 0,0014$) (Figura 2). Mientras que, se obtuvo una correlación negativa en los pacientes sintomáticos ($r = -0,0390$, $p = 0,8667$). Además, se empleó la razón IFN- γ :TGF- β 1 por grupos para estimar el balance entre el mediador inflamatorio (IFN- γ) y el antiinflamatorio (TGF- β 1). Estos valores fueron considerablemente menores en el grupo control (0,44/0,73 = 0,60), seguido por los asintomáticos (0,84/0,03 = 28,00), hasta alcanzar el valor más elevado en los pacientes sintomáticos infectados por SARS-CoV-2 (2,61/0,07 = 37,28).

El RANTES es un quimioatrayente bien conocido de monocitos, células NK y linfocitos T, y constituye un enlace importante entre la respuesta inmune innata y adaptativa. El RANTES decreció significativamente en personas infectadas con SARS-CoV-2 (100,50; 43,38-124,00 vs. 50,91; 27,11-70,11; $p = 0,0011$), al compararla con el grupo control. A la par, la diferencia entre los controles y los casos sintomáticos fue relevante (31,73; 13,50-61,42; $p = 0,0003$). Sin embargo, la media-

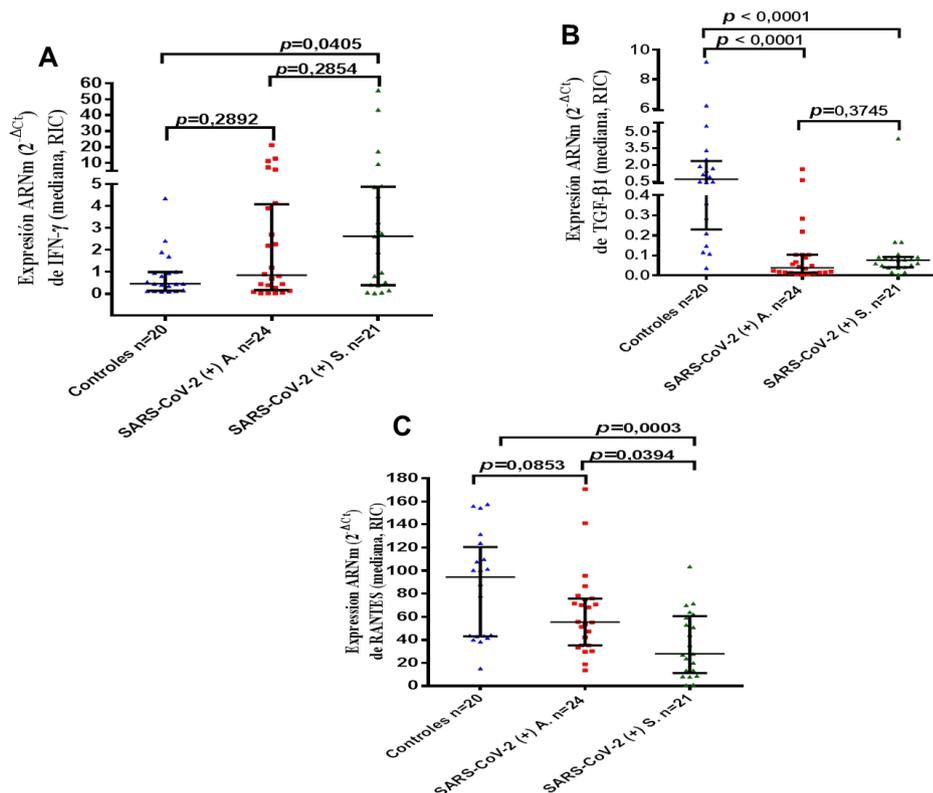


Fig. 1 Expresión relativa de mediadores inflamatorios en células colectadas del ENF. Las comparaciones se realizaron entre el grupo control ($n = 20$) e individuos asintomáticos (SARS-CoV-2 (+) A, $n = 24$) y sintomáticos (SARS-CoV-2 (+) S, $n = 21$). A: expresión de ARNm de IFN- γ ; B: expresión de ARNm de TGF- β 1 y C: expresión de ARNm de RANTES. ⁽⁷⁾

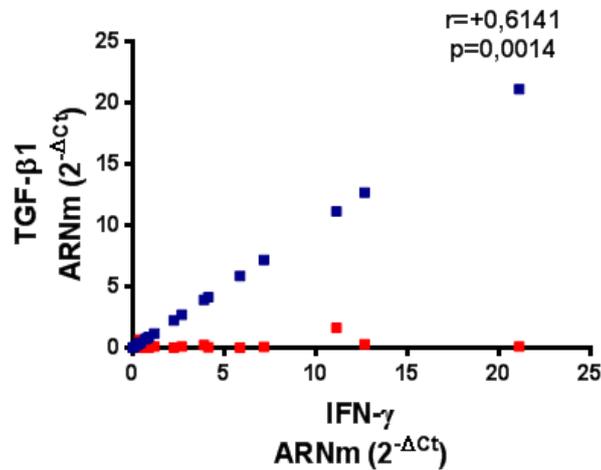


Fig. 2 Correlación entre el TGF-β1 e IFN-γ en pacientes sintomáticos infectados por SARS-CoV-2 (n= 21). ⁽⁷⁾

na y el RIC (55,15; 35,16-75,94; $p = 0,0853$) no difirió entre los pacientes asintomáticos con los individuos controles (Figura 1C), aunque la más baja expresión de RANTES se detectó en pacientes con síntomas de la infección por SARS-CoV-2.

DISCUSIÓN

Con respecto a los niveles de replicación de SARS-CoV-2, los hallazgos no difieren de lo obtenido por Zhou *et al.*, lo que demuestra que en los individuos infectados por SARS-CoV-2, los títulos virales no determinan la presencia de síntomas de COVID-19, al momento del diagnóstico de la infección. ⁽⁸⁾ Sin embargo, se describió que la sintomatología de esta infección puede estar relacionada con cargas virales altas a nivel de la faringe al compararla con la nasal. ⁽⁹⁾ Por tanto, aunque no existe un tratamiento antiviral específico contra el SARS-CoV-2, es importante controlar y reducir la multiplicación viral, por lo que se recomienda independientemente de la sintomatología, administrar antivirales con probada eficacia contra otros virus (remdesivir), para evitar que personas infectadas actúen como reservorios y diseminen potencialmente el virus en la comunidad. ⁽¹⁰⁾ Además, al reducir el título viral se restringe la propagación del virus al pulmón y sitios extrapulmonares. ⁽¹¹⁾

La expresión elevada de IFN-γ en células de vías aéreas superiores de los pacientes sintomáticos, sugiere que esta citocina contribuye a la patogenia de la infección por SARS-CoV-2. El IFN-γ es una citocina crucial en la inmunidad mediada por células contra las enfermedades ocasionadas por virus. El papel del IFN-γ en la infección por coronavirus ha sido documentado, dado que puede inducir proteínas antivirales, que restringen la pérdida de la cubierta viral, la entrada del vi-

rus en la célula del hospedero e interfiere con el acceso al citoplasma de los viriones fagocitados en endosomas. ⁽¹²⁾ Esta citoquina tiene actividad antiviral e inmunomoduladora, pero al mismo tiempo su acción requiere ser regulada. La hiperproducción de IFN-γ conduce a una respuesta inflamatoria excesiva, contribuyendo a la patogénesis de la COVID-19. ⁽¹³⁾

Jamilloux *et al.* describieron que un desbalance entre citoquinas pro- y antiinflamatoria, puede determinar la aparición de síntomas en la etapa temprana de la infección por SARS-CoV-2. ⁽¹⁴⁾ En la presente investigación se identificó que el balance en la expresión de mediadores pro- y antiinflamatorio, tiene impacto en la presentación clínica de la infección, lo que avala el uso de inmunomoduladores en el manejo terapéutico de la enfermedad. Se identificó que una correlación positiva entre el IFN-γ y el TGF-β1, evidencia que el control de la respuesta inmune podría determinar la ausencia de síntomas en la presentación de la infección por SARS-CoV-2. Los individuos asintomáticos no estaban inactivos desde el punto de vista inmunológico, sin embargo, ellos tenían un control temprano de la respuesta inflamatoria en el sitio primario de infección.

Aunque, varias quimioquinas (MCP1, MIP1α, MIP1β, IP-10) son producidas durante la infección por SARSCoV-2 y diferentes células son reclutadas y activadas por la interacción quimioquina/quimioquina receptor. ⁽¹⁵⁾ El reclutamiento de células inmunes dependiente de RANTES, decrece en la fase inicial de la infección, ya que disminuye la síntesis de *novo*, por tanto la quimiotaxis de células inmunes productoras de citoquinas se reduce. Sin embargo, la cinética del RANTES es bastante diferente en la fase tardía de la COVID-19, amplificando la cascada inflamatoria en los casos severos de infección por SARS-CoV-2. ⁽¹⁶⁾

Al finalizar, cabe destacar el valor añadido de la muestra del ENF, ya que es una muestra mínimamente invasiva y necesaria para el diagnóstico de SARS-CoV-2, que puede ser útil para la detección temprana de mediadores inmunológicos para determinar el curso clínico de la COVID-19.

Conclusiones

Teniendo en cuenta los resultados se concluye que, la infección por SARS CoV-2 incrementa la expresión de novo del IFN- γ en las células residentes del epitelio del tracto respiratorio superior, para tratar de controlar la replicación y diseminación viral del sitio inicial de infección. Por el contrario, estas células reducen su capacidad de producción de TGF- β 1 y RANTES, en respuesta a la estimulación con IFN- γ . En los individuos con ausencia de síntomas en la etapa temprana de la infección pudiera estar justificada por la expresión de TGF- β 1 y RANTES, que atenuaron el efecto inflamatorio del IFN- γ , y preservaron el flujo de células mononucleares, con actividad virucida, lo que reduce el daño inflamatorio de la mucosa respiratoria. Los autores sugieren que la evaluación del eje IFN- γ :TGF- β 1 en el sitio primario de multiplicación viral, podría ser un biomarcador importante para predecir el curso clínico y evolución de la COVID-19, en la fase inicial de la infección por SARS-CoV-2.

Agradecimientos

Los autores le agradecen a la Dr.C. Magilé Fonseca Quintana por su apoyo material. Igualmente, se les agradece a todos los profesionales y técnicos del Centro de Investigaciones Diagnóstico y Referencia del IPK, que contribuyeron al diagnóstico de la infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Liu NN, Tan JC, Li J, Li S, Cai Y, Wang H. COVID-19 Pandemic: Experiences in China and implications for its prevention and treatment worldwide. *Curr Cancer Drug Targets*. 2020;20(6):410-6. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.2174/1568009620666200414151419>
2. Henderson LA, Canna SW, Schulert GS, Volpi S, Lee PY, Kernan KF, et al. On the alert for cytokine storm: Immunopathology in COVID-19. *Arthritis & rheumatology*. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(7):1059-63. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1002/art.41285>
3. Saito A HM, Nagase T. TGF- Signaling in Lung Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19:2460. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.3390/ijms19082460>
4. Konno S GK, Lee WM, Schroth MK, Mosser AG, Brockman-Schneider RA, Busse WW, Gern JE. Am. Interferon-gamma enhances rhi594-601novirus-induced RANTES secretion by airway epithelial cells. *J Respir Cell Mol Biol* 2002;26(5):594-601. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1165/ajrcmb.26.5.4438>
5. Kim S. KYK, Lee H, Cho J.-E., Kim H. Y. Interferon gamma mRNA quantitative real-time polymerase chain reaction for the diagnosis

- of latent tuberculosis: a novel interferon gamma release assay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2013;75:68-72.
6. Ziklo N, Huston WM, Taing K, Timms P. High expression of IDO1 and TGF-beta1 during recurrence and post infection clearance with Chlamydia trachomatis, are independent of host IFN-gamma response. *BMC infectious diseases*. 2019;19(1):218.
 7. Montalvo Villalba MC, Valdés Ramírez O, Muné Jiménez M, Arencibia García A, Martínez Alfonso J, González Baéz G, et al. Interferon gamma, TGF- β 1 and RANTES expression in upper airway samples from SARS-CoV-2 infected patients. *Clinical immunology (Orlando, Fla)*. 2020;220:108576.
 8. Zou L RF, Huang M, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *New Engl J Med*. 2020;382(12):1177-9.
 9. Kam K-Q YC, Cui L, Lin RTP, Mak TM, Maiwald M, Li J, Chong CY, Nadua K, Tan NWH, Thoon KC. 28 February 2020. A well infant with coronavirus disease 2019 with high viral load. *Clin Infect Dis* 2020;71(15):847-849is. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1093/cid/ciaa201>
 10. Dube T, Ghosh A, Mishra J, Kompella UB, Panda JJ. Repurposed Drugs, Molecular Vaccines, Immune-Modulators, and Nanotherapeutics to Treat and Prevent COVID-19 Associated with SARS-CoV-2, a Deadly Nanovector. *Adv Ther (Weinh)*. 2020;2000172. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1002/adtp.202000172>
 11. Kalker R, Goebel S, Sharma GD. SARS-CoV-2 Shedding from Asymptomatic Patients: Contribution of Potential Extrapulmonary Tissue Reservoirs. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103(1):18-21.
 12. Kak G, Raza M, Tiwari B. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomolecular Concepts*. 2018;9:64-79.
 13. Yao Z, Zheng Z, Wu K, Junhua Z. Immune environment modulation in pneumonia patients caused by coronavirus: SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2. *Aging*. 2020;12(9):7639-7651. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.18632/aging.103101>
 14. Jamilloux Y, Henry T, Belot A, Viel S, Fauter M, El Jammal T, et al. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. *Autoimmunity reviews*. 2020;19(7):102567. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1016/j.autrev.2020.102567>
 15. Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2020;53:66-70. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1016/j.cytogfr.2020.05.002>
 16. Patterson BK, Seethamraju H, Dhody K, Corley MJ, Kazempour K, Lalezari JP, et al. Disruption of the CCL5/RANTES-CCR5 Pathway Restores Immune Homeostasis and Reduces Plasma Viral Load in Critical COVID-19. *medRxiv*. 2020. Disponible en: <https://doi.org/doi.10.1101/2020.05.02.20084673>

Recibido: 10/02/2022

Aprobado: 12/04/2022

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de interés.

Contribución de los autores

Conceptualización: María Caridad Montalvo Villalba, Odalys Valdés Ramírez

Curación de datos: María Caridad Montalvo Villalba, Odalys Valdés Ramírez, Javier Martínez Alfonso, Guelsy González Baéz
Análisis formal: María Caridad Montalvo Villalba, Odalys Valdés Ramírez, Mayra Muné Jiménez
Investigación: María Caridad Montalvo Villalba, Odalys Valdés Ramírez
Metodología: María Caridad Montalvo Villalba, Javier Martínez Alfonso
Software: Delmis Álvarez Gainza
Supervisión: Sonia Resik Aguirre, María Guadalupe Guzmán Tirado
Visualización: María Guadalupe Guzmán Tirado
Redacción-borrador original: María Caridad Montalvo Villalba, Odalys Valdés Ramírez

Redacción-revisión y edición: María Caridad Montalvo Villalba, Odalys Valdés Ramírez, Mayra Muné Jiménez

Financiación

El Ministerio de Salud Pública de Cuba contribuyó al financiamiento de la presente investigación.

Cómo citar este artículo

Montalvo Villalba MC, Valdés Ramírez O, Muné Jiménez MC, Martínez Alonso J, et al. Medidores inflamatorios en mucosa respiratoria superior durante la fase temprana de la infección por SARS-CoV-2. AnAcadCiencCuba [internet] 2022 [citado en día, mes y año];12(2):e1207. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1207>

