



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA 2 COMO RECEPTOR DEL
SARS-COV-2**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA
MÉDICA**

**AUTORA: ANA REYES VALENZUELA
PROFESOR GUIA: Dr. BQ. DANIEL GONZÁLEZ REINOSO**

**TALCA-CHILE
2021**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022

Dedicatoria

A mi familia y en especial a los trabajadores de la salud y científicos que cada día luchan por evitar que esta pandemia cause más muertes a nivel mundial. A cada persona que lastimosamente perdió a un ser querido y por todos aquellos que luchan por su salud.

Agradecimientos

A mis docentes de la Escuela de Tecnología Médica, por haber compartido sus experiencias y conocimientos a lo largo de mi preparación profesional, de manera especial al Dr Bq. Daniel Gonzáles Reinoso, profesor guía de esta memoria. Por último, a mi familia que me apoya en mi preparación como Tecnóloga médica.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVOS	11
1. OBJETIVO GENERAL	11
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN	12
MARCO TEÓRICO	14
1. ORIGEN DE SARS-CoV-2 Y SU IMPORTANCIA CLÍNICA	14
1.1 Descripción histórica hasta SARS-CoV-2	14
2. ESTRUCTURA MOLECULAR DE ACE2 Y INTERACCIÓN CON EL VIRUS	19
2.1 Reconocimiento y función de ACE2	19
2.2 Estructura molecular de la ACE2	24
2.3 Reconocimiento del virus por ACE2	29
3. RESPUESTA INMUNE E INFECCIÓN DIFERENCIAL EN NIÑOS Y ADULTOS	46
3.1 Respuesta inmune del hospedero	46
3.2 Infección en niños	51
4. IMPLICACIONES DEL CONSUMO DE FÁRMACOS QUE ACTÚAN SOBRE EL SISTEMA RENINA -ANGIOTENSINA	54
4.1 Uso de IECA / ARAII y su posible implicancia con el COVID-19	54
CONCLUSIONES	61
REFERENCIAS	62

ÍNDICE DE FÍGURAS

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN	12
Figura 1. Diagrama de flujo con análisis de publicaciones	13
1. EL ORIGEN DE SARS-CoV- 2 Y SU IMPLICANCIA CLÍNICA	14
1.1 Descripción histórica hasta SARS-CoV-2	14
Figura 2. Presentación esquemática de la organización del genoma del SARS-CoV-2, los ARNm subgenómicos canónicos y la estructura del virión	18
2. ESTRUCTURA MOLECULAR DE ACE2 Y DE SU INTERACCIÓN CON EL VIRUS	19
2.1 Reconocimiento y función de ACE2	19
Figura 3. Representación esquemática del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS).	21
Figura 4. Estructura del dominio de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) somática y ACE -2	22
Figura 5. Consecuencias fisiopatológicas de la sobre-activación de ADAM17 en la infección por SARS-CoV-2.	23
2.2 Estructura molecular de la ACE2	24
Figura 6. Representación del modelo atómico del complejo ACE2-B0AT1	25
Figura 7. Interfaz de dimerización de ACE2	27
Figura 8. Representación molecular de la estructura secunaria de la metalopeptidasa	28
Figura 9. Representación lineal de ACE2, que consta de 805 aminoácidos	28
2.3 Reconocimiento del virus por ACE2	29
Figura 10. Proceso de penetración del virus en la célula del hospedero maquinaria de fusión.	30
Figura 11. Estructura de la glicoproteína S.	31
Figura 12. Estructura Crio-EM de la glicoproteína S de SARS-CoV-2	32

Figura 13. Comparación de secuencias de 2019-nCoV y SARS-CoV.	35
Figura 14. Estructura general de RBD de SARS-CoV-2	36
Figura 15. El interfaz de enlace SARS-CoV-2 en comparación con la SARS-CoV RBD/ACE2.	39
Figura 16. Comparaciones de interacciones en las interfaces SARS-CoV-2 RBD ACE2 y SARS-CoV RBD ACE2.	42
Figura 17. Interacciones entre HR1 y HR2 de SARS-CoV-2 y SARS-CoV	45
3. RESPUESTA INMUNE E INFECCIÓN DIFERENCIAL EN NIÑOS Y ADULTOS	46
3.1 Respuesta inmune del hospedero	46
Figura 18. Proceso de fusión de SARS-CoV-2 con la membrana celular del huésped	47
4. IMPLICACIONES DEL CONSUMO DE FÁRMACOS QUE ACTÚAN SOBRE EL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA	54
4.1 Uso de IECA/ARAII y su posible implicancia con el COVID- 19	54
Figura 19. Uso terapéutico de los IECA en pacientes con COVID-19	57
Figura 20. Efectos mediados por los IECA	59

ÍNDICE DE TABLAS

1. EL ORIGEN DE SARS-CoV- 2 Y SU IMPLICANCIA CLÍNICA	14
1.1 Descripción histórica hasta SARS-CoV-2	14
Tabla 1. Identidad de secuencia entre SARS-CoV-2 y genomas representativos de betacoronavirus	17
2. ESTRUCTURA MOLECULAR DE ACE2 Y DE SU INTERACCIÓN CON EL VIRUS	19
2.1 Reconocimiento y función de ACE2	29
Tabla 2. Receptores de los géneros α CoVs y β CoVs .	34
Tabla 3. Hipótesis que explicarían por qué los niños son menos susceptibles a la infección por SARS-CoV-2	43
3. RESPUESTA INMUNE E INFECCIÓN DIFERENCIAL EN NIÑOS Y ADULTOS	46
3.2 Infección en niños	51
Tabla 4. Hipótesis que explicarían por qué los niños son menos susceptibles a la infección por SARS-CoV-2	53

RESUMEN

Los coronavirus son virus ARN monocatenario que pertenecen a la familia Coronaviridae, subfamilia Orthocoronaviridae, dentro del orden de los Nidovirales. Según la clasificación taxonómica, la subfamilia se clasifica en cuatro géneros Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus siendo los primeros dos los que infectan a los humanos. Se habían descrito seis coronavirus que ocasionan patologías en humanos: 229-E, OC43, NL63, HKU1, MERS-CoV y SARS-CoV. Pero en el año 2019 un nuevo Betacoronavirus, SARS-CoV-2, sería descubierto como el causante de la enfermedad COVID-19, que ha creado la enfermedad pandémica mundial del año 2020. Aumentado el interés científico y los esfuerzos de entender la inmunopatología del COVID-19, por lo cual, en esta revisión se pretende explicar a través de revisiones narrativas los aspectos moleculares de cómo el virus ingresa al interior celular al reconocer a la enzima ACE2, glicoproteína transmembrana tipo I, que se distribuye y esta activa en la mayoría de los tejidos. Además, se pretende informar de cómo la interacción ACE2/SARS-CoV-2 actuaría en los mecanismos inmunológicos, explicando por qué los niños han presentado una baja tasa de enfermedad COVID-19. Adicionalmente, se busca determinar si el curso evolutivo desfavorable de la enfermedad en los adultos que sufren de hipertensión arterial puede o no ser por el consumo de fármacos que actúan sobre el sistema renina angiotensina aldosterona.

Palabras Claves: SARS-CoV-2, ACE 2, Glicoproteína S, Niños, IECA.

INTRODUCCIÓN

En el último mes del año 2019 en la localidad de Wuhan, capital de la provincia de Hubei, China comenzaron varios casos de neumonía atípica, que causa en cientos de pacientes dificultad respiratoria y muerte. Esto generó preocupación en la sociedad médica y científica china, puesto que se creía que los síntomas que presentaban los pacientes eran generados por el patógeno coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV) que surgió en el año 2002 en la provincia china de Cantón, y que generó el deceso de 916 personas y la infección de 8422 personas en una treintena de países (1). Pero tras intensas investigaciones, el 9 de enero del 2020, el Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades identificó que la enfermedad era causada por un nuevo virus de la familia de los coronavirus que fue nombrado provisionalmente como 2019-nCov, pero que más tarde sería nombrado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) (2). Este nuevo virus es el agente causal de un síndrome respiratorio ahora conocido como enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), cuyos síntomas comunes al inicio de la enfermedad son fiebre, fatiga, tos seca, mialgia y disnea. Además, ciertos pacientes tienen la posibilidad de padecer dolor de cabeza, mareos, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos. Finalmente puede progresar hacia una insuficiencia respiratoria progresiva e incluso la muerte debido al daño alveolar. No ha sido hasta el 30 de enero de 2020, con más de 9.700 casos confirmados en China y 106 casos confirmados en otros 19 países, que el Director General de la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que el brote era una emergencia de salud pública de interés internacional. Posteriormente el 11 de marzo de 2020 la OMS declara pandemia, al evaluar la expansión globalizada de este virus (3).

Con la pandemia ha aumentado el interés científico y los esfuerzos de entender la inmunopatología del COVID-19, identificando los mecanismos moleculares que median la entrada viral. Por lo que se realizó una revisión narrativa que integró artículos que

documentan los mecanismos moleculares de como el virus reconoce a su receptor ACE2 para ingresar al interior celular, demostrando las diferencias moleculares que existe con SARS-CoV en su interacción. Adicionalmente, se revisó información de los mecanismos inmunológicos que causa el ingreso del virus en las personas, para comprender por qué el virus causa síntomas más leves en niños que en adultos sanos o con comorbilidades. Señalando además que cómo en los primeros informes del brote en Wuhan, China, indicaron que una enorme cantidad de pacientes con COVID-19 grave tenían hipertensión, se busca determinar a través de la información disponible si el uso de inhibidores de la ECA (IECA) y los bloqueadores del receptor angiotensina II (ARA II) tienen la posibilidad de incrementar el riesgo de infección por este virus, por lo que determinar si su uso agrava la enfermedad nos posibilita comprender si la hipertensión es un factor de riesgo independiente o no de la infección(4).

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL:

1.1 Analizar de acuerdo con la literatura el papel de ACE 2 en el ingreso del virus SARS-CoV-2 a la célula, considerando aspectos moleculares para el reconocimiento

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

2.1 Analizar y comparar los aspectos moleculares entre el reconocimiento de ACE2 con SARS-CoV-2 y SARS-CoV.

2.2 Mencionar las posibles causas, que expliquen la baja tasa de infección por SARS-CoV-2 en niños.

2.3 Analizar a partir de la literatura reciente las posibles implicaciones del consumo de fármacos que actúan sobre el sistema renina-angiotensina, en la fisiopatología del Covid-19

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se realizó una revisión general de la información llevando a cabo un reconocimiento de los aspectos cualitativos de estudios primarios para resumir la información que existe sobre la enzima convertidora de angiotensina 2 como receptor celular del SARS-CoV-2, además de la información acerca de las diferencias patológicas entre niños y adultos y la utilización de fármacos que actúan sobre el sistema renina-angiotensina, la cual se analizó y comparó con la información obtenida de las bases de datos o fuentes de información en internet.

Se generó una búsqueda general en Google académico para ubicar los documentos académicos, así como los artículos publicados sobre los temas “ACE 2”, “RAAS”, “SARS-CoV-2”, “COVID-19”, “NIÑOS Y SARS-CoV-2” y “IECA/ARA y SARS-CoV-2”. Una vez obtenida la información que permitió orientar la búsqueda, se procedió a buscar artículos publicados en las bases de datos PubMed, Science direct, Dialnet, Scielo, entre otras, donde se procedió a realizar una búsqueda avanzada para correlacionar a la ACE 2 como receptor de SARS-CoV-2 con los aspectos moleculares implicados en la patogenicidad del virus, búsqueda que se realizó en idioma inglés y español. Acción que se repitió con los otros temas señalados.

Se utilizó como criterios de inclusión los años de publicación, considerando los años 2019-2020 a aquellos artículos con tema referencial a SARS-CoV-2 y su implicancia fisiológica y patológica así como su ingreso al interior celular al utilizar el receptor celular ACE 2, así como su efecto en niños y adultos, además se consideraron todos los artículos sin límite de años de publicación a aquellos cuya referencia de tema es sobre las implicancias fisiológicas del sistema renina-angiotensina y los aspectos fisiológicos de la enzima convertidora de angiotensina, además de los temas relacionados a los medicamentos que

actúan sobre el sistema. Finalmente, se considerará aquellos artículos investigación sobre los análisis moleculares, filogenéticos, y genéticos sobre el SARS-CoV-2.

Se utilizó como criterio de exclusión todo aquel artículo de investigación cuya información no se relaciona con la investigación entre la relación de ACE 2 con SARS-CoV-2 o las implicancias fisiológicas del sistema renina angiotensina. Una vez seleccionados los artículos a utilizar, se clasificaron según información en tres categorías, la primera relacionada a ACE 2, su función fisiológica, y su implicancia como receptor del virus. En la segunda categoría se clasificaron a los artículos que explicaban las diferencias fisiopatológicas del virus en niños. Finalmente, en la tercera categoría se clasificaron a los medicamentos que actúan sobre el sistema renina- angiotensina-aldosterona y su posible implicancia en el COVID-19.

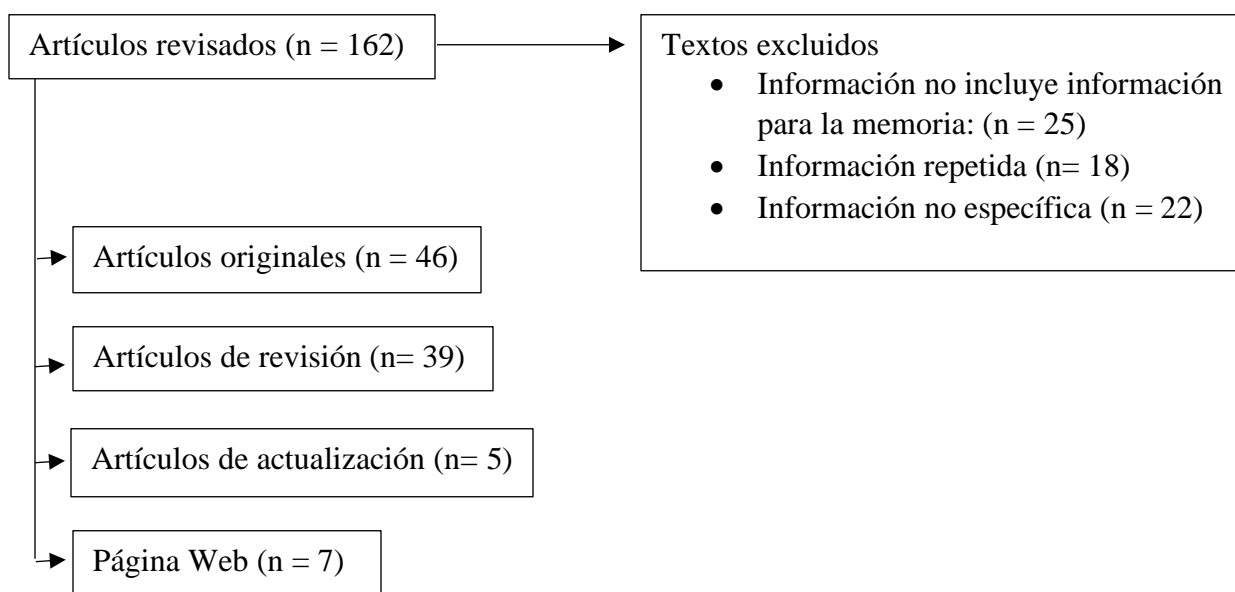


Figura 1: Diagrama de flujo con análisis de publicaciones. *Elaboración propia. Ana Reyes, 2021.*

MARCO TEÓRICO

1. ORIGEN E IMPLICANCIA CLÍNICA

1.1 Descripción histórica hasta SARS-CoV-2

Los coronavirus (CoVs) son virus ARN monocatenario (27 a 32 kb) pertenecientes a la familia Coronaviridae, subfamilia Orthocoronaviridae, dentro del orden de los Nidovirales(5). Los CoVs son virus esféricos y pleomórficos envueltos cuya característica estructural que le produce su nombre, son las proyecciones de espiga en forma de maza que emanan de la superficie del virión, que le brindan el aspecto de corona solar y pueden medir aproximadamente 120 a 160 nm (6). El primer coronavirus humano (HCoV) se aisló por primera vez de humanos en 1962, por Dorothy Hamre y John Procknow, en la Universidad de Chicago, descubriéndose que producía un resfrío común que no era letal y que se podía transmitir entre seres humanos (7). Posteriormente, en el año 1967 se descubre su estructura de corona a través de microscopía electrónica. Los coronavirus de acuerdo al grupo de Estudio de Coronavirus del Comité Internacional de Taxonomía de Virus, se clasifican en cuatro géneros, divididos por agrupamientos filogenéticos, Alfacoronavirus (α CoVs) y Betacoronavirus (β CoVs) (se divide en 4 linajes A,B,C,D) que infectan a los mamíferos, ocasionando patologías respiratorias en humanos y gastroenteritis en animales, así como los Gammacoronavirus (γ CoVs) que infecta a las aves al igual que Deltacoronavirus (δ CoVs), sin embargo, este último también puede infectar a los mamíferos (8).

Los CoVs son reconocidos como importantes agentes de infecciones respiratorias y entéricas de animales domésticos y de compañía, que ocasionan alrededor del 15% de todos los casos de resfrío común en humanos, pudiendo ocasionar enfermedades graves en los recién nacidos, los ancianos y las personas con patologías subyacentes. La transmisión

zoonótica ha generado la aparición de variantes altamente patológicas para los humanos. Las infecciones por este virus involucran principalmente las vías respiratorias superiores y el tracto gastrointestinal, pudiendo presentarse patologías leves y autolimitantes, como el resfriado común, a manifestaciones más graves, como bronquitis y neumonía con afectación renal (9).

Hasta previo a la enfermedad pandémica del 2019, provocada por SARS-CoV-2, se conocían seis cepas diferentes de CoVs, conocidas (OC43), SARS-CoV, HCoV-NL63 (NL63), HCoV-HKU1 (HKU1) y MERS-CoV (10). Estos virus tienen capacidad de infectar a las personas por infectar a los humanos HCoV-229E (229E), HCoV-OC43 debido a los saltos zoonóticos desde animales a humanos. El virus 229E α CoVs y OC43 β CoVs del linaje A, fueron aislados e identificados en los años 1962-1967, especulándose que su salto zoonótico fue de bovinos a humanos. Estos virus son identificados en humanos como causantes de síntomas de resfriado común, aunque en individuos infectados con 229E se observa que pueden presentar rinitis y pacientes con OC43 odinofagia (11). Por otra parte, el salto zoonótico que involucro al β CoVs del linaje B, desde murciélagos, civetas de palmeras y humanos, dio origen al SARS-CoV, virus responsable de la primera pandemia del siglo XXI, la cual fue controlada el año 2003, en China. (12,13). El linaje C involucra al MERS-CoV y HKU1 y que aparecieron en los años 2004 y 2005 respectivamente, junto al α CoVs NL63, que se cree que se originaron y son hospedados en los murciélagos (14).

El virus SARS-CoV-2 es un β CoVs del linaje B, subgénero Sarbecovirus. Virus ARN monocatenario de sentido positivo, que tiene una nucleocápside helicoidalmente simétrica (9,15). La membrana viral tiene la glucoproteína de membrana (M) de 20 a 35 kDa, proteína estructural más abundante en el virión, existente como un dímero y que puede adoptar dos conformaciones diferentes, lo que permite promover la curvatura de la membrana para unirse a la nucleocápside; y la glucoproteína espiga (S), de 180 a 220 kDa, proteína de fusión de clase I que media la unión al receptor del huésped y que utiliza una secuencia de señal amino-terminal (N-terminal) para obtener acceso al hospedero. Esta proteína constituye la

estructura de espiga distintiva en la superficie del virus (16,17). Se proyectan a unos 17 a 20 nanómetros de la superficie del virión, con una base delgada que se hincha hasta un ancho de aproximadamente 10 nanómetros en la extremidad distal (18), es escindida por una proteasa de la célula huésped en dos polipéptidos separados: S1 que constituye el gran dominio de unión al receptor y S2 que forma el tallo de la glicoproteína; se describe que esta proteína exhibe una amplia flexibilidad conformacional al modular la exposición de su sitio de unión a receptores y posteriormente someterse a un reordenamiento estructural completo para impulsar la fusión de las membranas virales y celulares. Además, se hallan en la superficie pequeñas cantidades de proteínas transmembranas (E), que facilita el ensamblaje de la liberación del virus, aunque poseen otras funciones. Finalmente, la proteínas de la nucleocápside (N), se une al genoma viral y se compone de dos dominios separados, un dominio N-terminal y un dominio Carboxi-terminal (C-terminal), ambos capaces de unirse al ácido ribonucleico in vitro (9) (Figura 2C).

El genoma de ARN monocatenario del SARS-CoV-2 tiene un tamaño de 29891 nucleótidos, que codificaba 9860 aminoácidos (19). Su material genético está relacionado en alrededor de un 80% con SARS-CoV (20) y un 50% de identidad con MERS-CoV, existiendo una mayor similitud genética con los virus bat-SL-CoVZC45 en un 99% y otro β CoV similar al SARS de origen murciélago, bat-SL-CoVZXC21 en un 98%. Al comparar las regiones de genes (E, M, 7, N y 14), cuya identidades de secuencia fueron superiores al 90%, siendo la más alta el 98,7% en el gen E (Tabla 1) (21). En general, el análisis comparativo de las secuencias genómicas virales ayuda a rastrear el origen de los coronavirus que infectan al humano determinando la relación que guardan con otros virus análogos (22). Aunque se ha determinado, que este nuevo coronavirus en comparación con los coronavirus similares al SARS de murciélagos, SARS-CoV y MERS-CoV codifica una glicoproteína S más larga (Figura 2A) donde el dominio N-terminal como el dominio C-terminal del dominio S1 pueden unirse a los receptores del huésped (21).

Tabla 1. Identidad de secuencia entre SARS-CoV-2 y genomas representativos de betacoronavirus. Tomado de Lu R y col., 2020 (21)

	Strain	Complete genome (%)	Gene region (%)												
			1ab	1a	1b	S	3	E	M	7	8	10b	N	13	14
Nucleotide sequences	Bat-SL-CoVZC45	87.6	88.9	90.7	86.0	75.2	87.8	98.7	93.4	95.2	88.8	88.5	91.1	89.1	96.7
	Bat-SL-CoVZXC21	87.5	88.7	90.3	86.1	74.7	88.9	98.7	93.4	95.2	89.1	88.5	91.2	89.5	96.7
	SARS-CoVGZ02	79.0	79.5	75.4	86.3	72.7	75.6	93.5	85.1	74.5	82.1	..	88.1
Amino acid sequences	Bat-SL-CoVZC45	..	95.6	95.6	95.8	80.2	90.9	100.0	98.6	93.4	87.6	94.2	94.3	73.2	92.9
	Bat-SL-CoVZXC21	..	95.2	95.1	95.5	79.6	92.0	100.0	98.6	93.4	88.4	94.2	94.3	73.2	92.9
	SARS-CoVGZ02	..	86.2	80.5	95.6	76.2	73.1	94.7	90.1	68.9	85.2	..	90.3

Identidades de secuencia para SARS-CoV-2 en comparación con SARS-CoV GZ02 y los coronavirus de murciélago similares al SARS bat-SL-CoVZC45 y bat-SL-CoVZXC21. Regiones codificantes 1ab, S, 3, E, M, 7, 8, 9, 10b, N, 13 y 1.

El ARN genómico no segmentado se traduce para generar 16 proteínas no estructurales (nsps) a partir de dos marcos de lectura abiertos (ORF), ORF1a y ORF1b. El ORF1a crea polipéptido 1a (pp1a, 440-500 kDa) que se divide en 11 nsps. El cambio de trama de -1 ribosoma se genera inmediatamente aguas arriba del código de parada ORF1a, que posibilita la traducción continua de ORF1b, produciendo un polipéptido grande (pp1ab, 740-810 kDa) que se divide en 15 nsps. La escisión proteolítica está mediada por proteasas virales nsp3 y nsp5 que guardan un dominio proteasa similar al papaína y un dominio proteasa similar a 3C, respectivamente. El genoma viral además se usa como la plantilla para la replicación y transcripción, que está mediada por nsp12 que aloja la actividad de ARN polimerasa dependiente del ARN (RdRP). Los intermedios de ARN de sentido negativo se crean para servir como las guías para la síntesis de ARN genómico de sentido positivo (gRNA) y ARN subgenomas (sgRNAs). El gRNA es empaquetado por las proteínas estructurales para ensamblar viriones de la progenie. Los sgRNAs más cortos codifican proteínas estructurales conservadas (S, M, E, N) y numerosas proteínas accesorias. Se conoce que el SARS-CoV-2 tiene por lo menos seis proteínas accesorias (3a, 6, 7a, 7b, 8 y 10) (23) (Figura 2C).

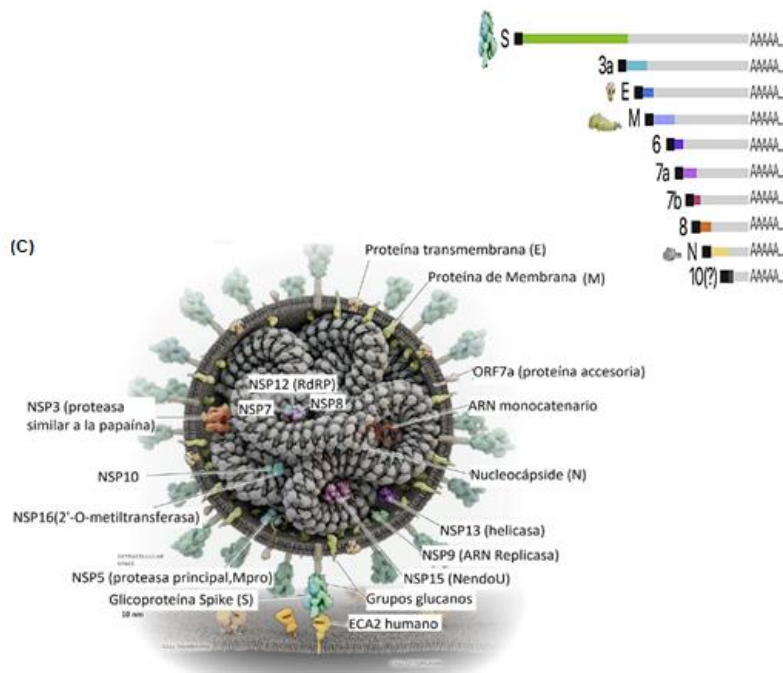
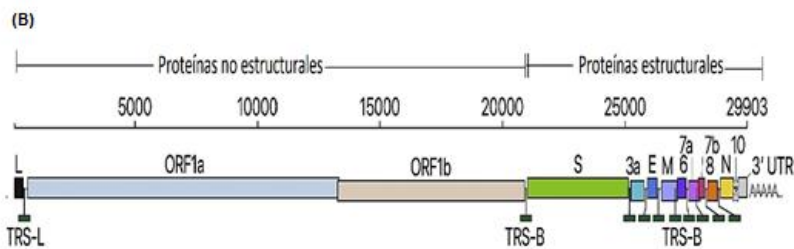
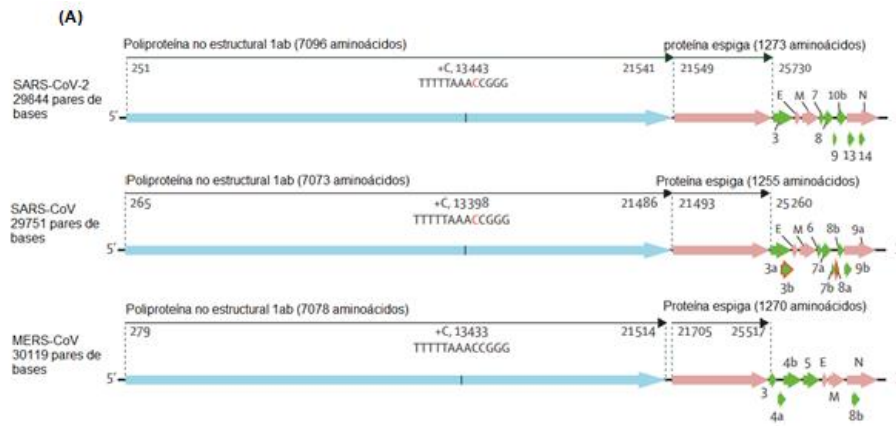


Figura 2. Presentación esquemática de la organización del genoma del SARS-CoV-2, los ARNm subgenómicos canónicos y la estructura del virión. Adaptado de Lu R, y col. 2020, Kim D y col., 2020 y Parks JM., 2020 (21,24,25)

2. ESTRUCTURA MOLECULAR DE ACE 2 Y DE SU INTERACCIÓN CON EL VIRUS

2.1 Reconocimiento y función de ACE 2

Letko y Munster (26) desarrollaron un enfoque para detectar rápidamente los β CoV del linaje B, tal como el SARS-CoV y SARS-CoV-2, durante la invasión del receptor y su capacidad de infectar células de diferentes tipos de especies. El estudio evidencio que la entrada de coronavirus es un proceso de varios pasos que involucra varios dominios distintos; la glicoproteína S que median la unión del virus a la superficie celular, la participación del receptor, el procesamiento de proteasas y la fusión de membranas, confirmando que la ACE 2 humana es el receptor del SARS-CoV-2, al sintetizar, clonar y probar el dominio de unión al receptor (RBD en sus siglas en inglés) con los receptores conocidos para los β CoVs, no pudiendo este virus ingresar a la célula por ninguno de los otros receptores probados. Descubrimiento que fue apoyado por el estudio integrado genómico de Guzzi y cols. (27) al integrar información de red complementaria de todo el genoma y del transcriptoma sobre la interacción SARS-CoV-2/humano para proporcionar un mapa de las proteínas del huésped afectadas por la infección viral.

La ACE 2 es el primer homólogo humano conocido de la ACE, enzima que actúa en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS, sigla en inglés), un sistema importante de regulación de la homeostasis de la fisiología humana. Está formado por dos ejes que generan efectos fisiológicos opuestos, el eje clásico constituido por angiotensinógeno-renina-Ang I-ACE -Ang II-receptor de Ang II tipo 1 (AT1)-aldosterona ejecuta una acción permisiva y potenciadora del sistema nervioso simpático, ocasionando vasoconstricción, aumento de la presión arterial y promoción de la inflamación, fibrosis e hipertrofia miocárdica. Dichos efectos son regulados por el eje regulador negativo constituido por angiotensinógeno-renina-AngI- ACE -AngII- ACE 2-Ang-(1-7)-receptor del protooncogén MAS, que antagonizan los

efectos antes mencionados. Por lo cual, estas vías flexibilizan la respuesta del organismo para responder de forma inmediata y coordinada a estímulos específicos (28). Este sistema es una cascada hormonal que se inicia por medio de la síntesis de renina en el aparato yuxtaglomerular (Figura 3). La renina convierte al precursor angiotensinógeno en angiotensina I que es un decapeptido inactivo al que la ACE convierte en angiotensina II, péptido biológicamente activo. La angiotensina II ejerce la mayoría de sus funciones, como la vasoconstricción y la reabsorción de sodio en el túbulo renal, por medio del receptor de la angiotensina II tipo 1. En contraste, al receptor de la angiotensina II tipo 2 se le atribuyen los efectos opuestos, entre ellos, vasodilatadores y antiproliferativos. En el año 2002, el hallazgo de un mecanismo de degradación de la angiotensina II por ACE 2, permite entender otro aspecto de la regulación llevada a cabo por este sistema. La angiotensina II puede degradarse por lo menos en 3 metabolitos: desaspartil-angiotensina II (angiotensina III), con funcionalidades semejantes a la angiotensina II pero menos eficaz por su acelerado metabolismo in vivo; la angiotensina IV, que puede provocar vasodilatación y natriuresis, o la angiotensina 1-7, que puede formarse de manera directa a partir de la angiotensina II por la acción de la ACE 2. La angiotensina 1-7 tiene funciones opuestas a la angiotensina II, de tipo vasodilatador y antiproliferativo. La ACE 2 ,además, degrada la angiotensina I a angiotensina 1-9, un péptido inactivo (29).

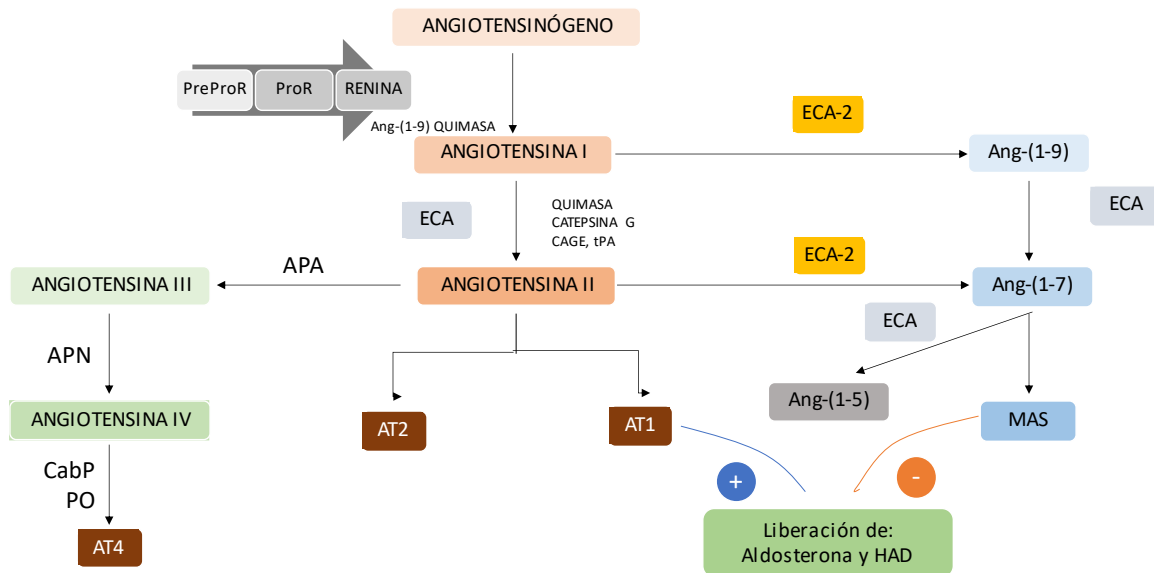


Figura 3. Representación esquemática del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS). ACE: enzima convertidora de angiotensina. ACE -2: enzima convertidora de angiotensina 2.. APA: aminopeptidasa A. APN: aminopeptidasa N. PreProR: preprorenina. ProR: prorenina. AT4: receptor de angiotensina tipo 4. AT1: receptor de angiotensina tipo 1. AT2: receptor de angiotensina tipo 2. Mas: receptor de Ang-(1-7). CarbP: carboxipeptidasa. PO: prolil-oligopeptidasa. HAD: Hormona antidiurética. *Tomado y adaptado de Bevacqua RJ y Col., 2020.* (28).

La ACE 2, se identificó simultáneamente por Donoghue y Tipnis en el año 2000 (30) a partir de la secuenciación 5' de una biblioteca de ADNc de ventrículo de insuficiencia cardíaca humana y en una biblioteca de ADNc de linfoma humano (31,32). La identificación de la secuencia genómica de esta enzima demostró que su gen tiene 18 exones, intercalados con 17 intrones, abarcando alrededor de 40 kb y está situado en el cromosoma X, posición p22 (33). Al analizar el ADNc del ACE 2 humano, se codifica una proteína de 805 aminoácidos que tiene una homología del 42% con el dominio catalítico N-terminal del ACE, y una zona hidrofóbica cercana al extremo C-terminal, que posiblemente ancla la enzima a la membrana y que, igualmente, muestra un 48% de homología con la colectrina, una glucoproteína enzimáticamente inactiva que se presenta de forma exclusiva en el riñón y cuya función se desconoce (32).

Las enzimas convertidoras de angiotensina son metaloproteasas de zinc. La ACE 2 es una glicoproteína transmembranaria tipo I, primera carboxipeptidasa de mamíferos identificada que tiene en el sitio de unión, una secuencia canónica HEXXH (His-Glu-Xaa-Xaa-His) (aminoácidos 374-378), donde Xaa puede ser cualquier aminoácido con carga, excepto prolina (29). Además, a diferencia de la ACE, esta metaloproteasa tiene solo un sitio enzimático activo, por lo que funciona como una carboxipeptidasa en vez de una dipeptidil-carboxipeptidasa (32) (Figura 4). Se ha definido que esta enzima es activa en la mayoría de los tejidos y se distribuye ampliamente en el corazón, riñones, pulmones, testículos, células epiteliales alveolares pulmonares (células epiteliales tipo II). en células epiteliales del intestino delgado, así como en células endoteliales arteriales y venosas. La capa de células basales epidérmicas de la piel y la capa basal del epitelio escamoso no queratinizado de la mucosa nasal, oral y nasofaríngea tienen, también, expresión de ACE 2, al igual que las células sanguíneas plaquetas y macrófagos (28). Por su presencia a nivel pulmonar se ha podido relacionar a esta enzima en la patogenia de infecciones respiratorias como VRS, influenza A (H1N1), SARS-CoV y recientemente SARS-CoV-2 (30).

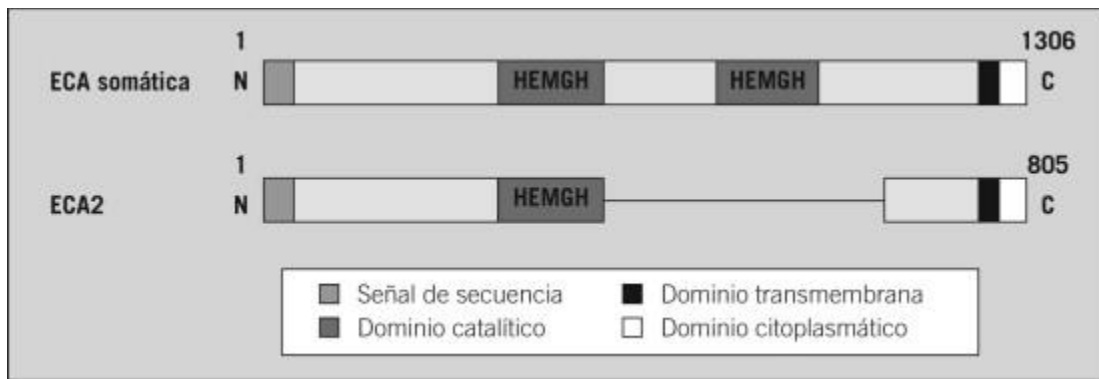


Figura 4. Estructura del dominio de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) somática y ACE -2. Proteínas integrales tipo 1, con un péptido señal (blanco) y un dominio transmembranario (negro). La proteína de unión del Zinc (HEMGH) se repiten 2 veces en ACE y solo aparece una sola vez el ACE 2 (región homóloga de color gris). Los aminoácidos de cada cadena se representan por los números. *Tomado de Soler, M y col., 2008 (29)*

Es importante señalar que funcionalmente hay 2 formas de ACE 2 (Figura 5), una enzima de secuencia aminoacídica completa con un dominio extracelular que funciona como receptor de la glicoproteína S, y una forma soluble existente en pequeñas cantidades circulantes ya que surge del desprendimiento desde la membrana celular por medio de la proteína transmembrana desintegrina y metaloproteasa 17 (ADAM17), que se expresa en varios tejidos, como músculo, pulmones, placenta, ovarios, testículos, páncreas, riñón, intestino delgado, timo y corazón. (34,35) De hecho, el eje Ang II-AT1R activa ADAM17 que a su vez libera la forma madura de receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, sigla en inglés), la forma soluble de IL-6Ra (sIL-6Ra) y TNF- α (36). Se describe que la forma soluble puede actuar como un competidor-interceptor del virus, previniendo la fijación de la glicoproteína S a las membranas celulares (30,37).

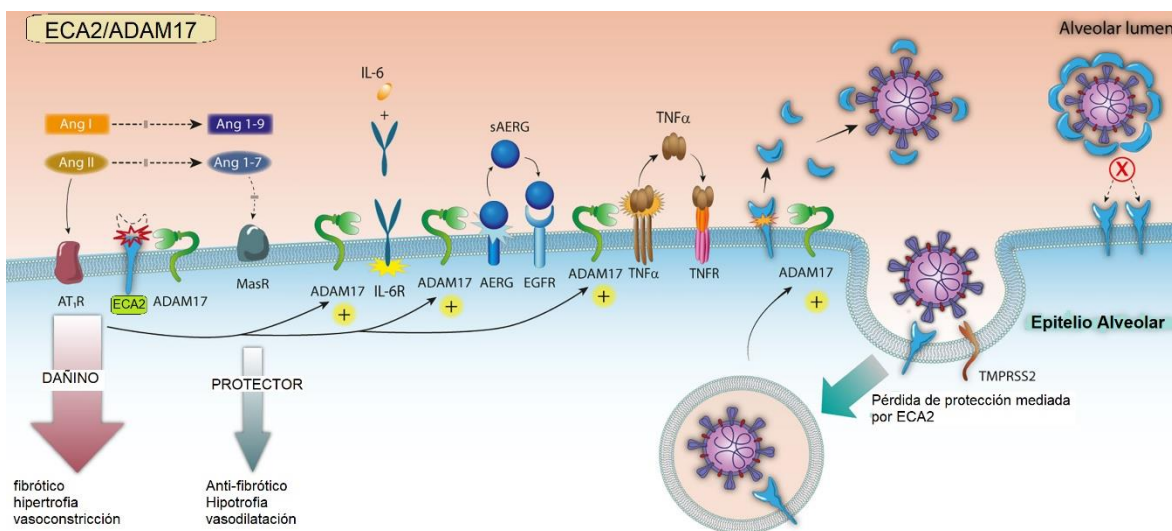


Figura 5. Consecuencias fisiopatológicas de la sobre-activación de ADAM17 en la infección por SARS-CoV-2. Después de la unión del virus a ACE 2, la glicoproteína S sufre una escisión proteolítica por TMPRSS2, y el virus entra en la célula huésped. La unión de la proteína S a ACE 2 desencadena la activación de ADAM17, aumentando la modulación descendente de la enzima a nivel de membrana. La activación creciente de ADAM17 mediante ACE 2 exacerba el desequilibrio de RAAS, aumenta la inflamación por TNF- α el receptor del citoquina IL6 (IL6R) y la hendidura de la anfirregulina del factor de crecimiento (AREG). Finalmente, la liberación de ACE 2 soluble por ADAM17 podría bloquear la entrada de partículas virales. *Tomado de Zipeto D y col., 2020 (36)*

2.2 Estructura molecular de la ACE 2

La ACE 2 de longitud completa consta de dos dominios (Figura 6A), un dominio peptidasa N-terminal (PD, sigla en inglés) que escinde a la angiotensina-II y que corresponde al dominio de la metalopeptidasa de zinc (Zn^{2+}) que se divide paralelamente en dos subdominios (I y II), y un dominio tipo C-terminal de tipo colectrina (CLD, sigla en inglés), la cual termina en una hélice transmembrana única y un segmento intracelular de alrededor de 40 residuos (38). Además, PD, proporciona un sitio de unión directa para las glicoproteínas S de los coronavirus (39). Por medio de estudios de reconstrucción en 3D con la unión al transportador de aminoácidos neutros dependientes de sodio (B0AT1), se ha asignado las cadenas laterales a los residuos 19-768 que tienen dentro la PD (residuos 19-615) y el CLD (residuos 616 a 768) que consiste en un pequeño dominio extracelular; un vinculator largo y un único dominio transmembrana (TM). En CLD existe un dominio de cuello que presenta un pliegue similar a la ferredoxina (residuos 616 a 726) (Figura 6B). La región extracelular está altamente glicosilada (siete sitios de glicosilación en cada monómero) (40).

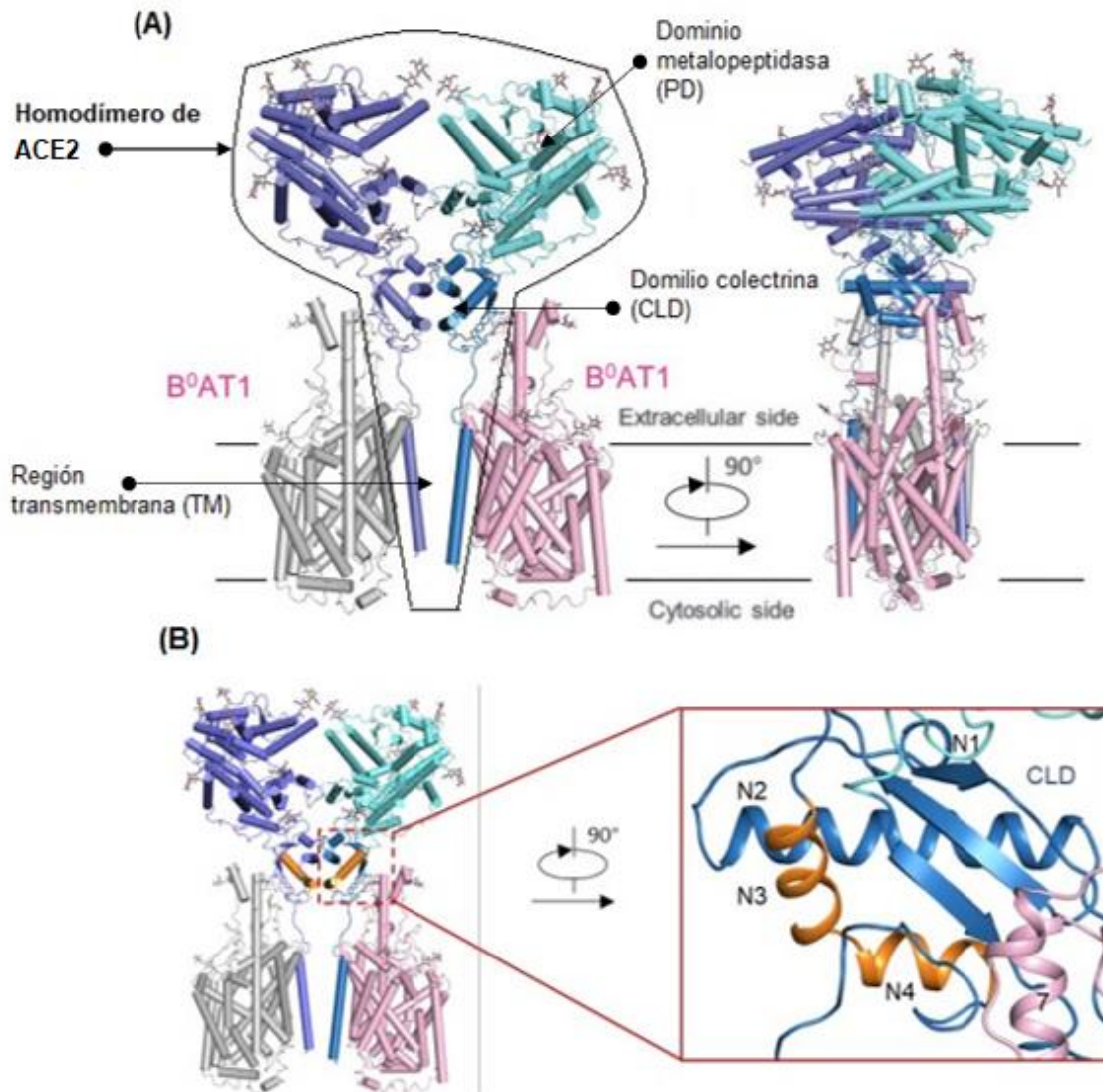


Figura 6. Representación del modelo atómico del complejo ACE 2-B0AT1. (A) El complejo está coloreado por subunidades donde se muestran el PD (cian), CLD (azul), el protómero A de B0AT1 (rosa) y el protómero B de B0AT1 (gris) (B) Estructura del dominio de cuello en CLD. Las cuatro α -hélices están etiquetadas como N1-N4. El segmento que contiene el sitio de escisión proteolítica es de color naranja (residuos 697 a 716). *Tomado y adaptado de Renhong, Y y col., 2020 (40).*

Renhong Yan y colaboradores, a través de la criomicroscopía electrónica, definieron que la homodimerización está mediada por el dominio de cuello y PD, esta última contribuyendo con enlaces solo en el suelo de hendidura del sitio activo (Figura 7A). Se observó que ambos protómeros de ACE 2 que denominaron en lo sucesivo A y B, con residuos en el protómero B seguidos de un símbolo primo, generaban una vasta red de interacciones polares que sugiere la formación estable de dímeros, puesto que se asignan a la interfaz entre la segunda (residuos 636 a 658) y la cuarta (residuos 708 a 717) de las hélices del dominio del cuello. Arginina 652 (R652) y Arginina 710 (R710) en ACE 2-A (protómero A) forman interacción catión- π con Tirosina 641' (Y641') y Tirosina 633' (Y633') de ACE 2-B (protómero B), respectivamente. Mientras tanto, Arginina 652 (R652) y Arginina 710 (R710) están respectivamente unidos por hidrógeno (enlace H) a Asparagina 638' (N638') y Ácido glutámico 639' (E639'), que interactúan simultáneamente con Glutamina 653 (Q653), además de Asparagina 636' (N636'). Serina 709 (S709) y Ácido aspártico (D713) (41) de ACE 2-A están unidos por enlace de hidrógenos a Arginina 716' (R716') (Figura 7B). Aunque se presentan interacciones débiles en la interfaz del dímero PD, con solo un par de interacciones entre Glutamina 139 (Q139) y Glutamina 175' (Q175'). Q139 está en un bucle que se estabiliza mediante un enlace disulfuro entre Cisteína 133 (C133) y Cisteína 141 (C141), así como múltiples interacciones polares dentro del bucle (Figura 7C), dando a ACE 2 una capacidad de transición a una conformación abierta, donde los dominios PD se encuentran separados por ~ 25 Å (Figura 7D), por lo que la proteína ACE 2 tiene dos conformaciones, una abierta y otra cerrada (Figura 6A) (40).

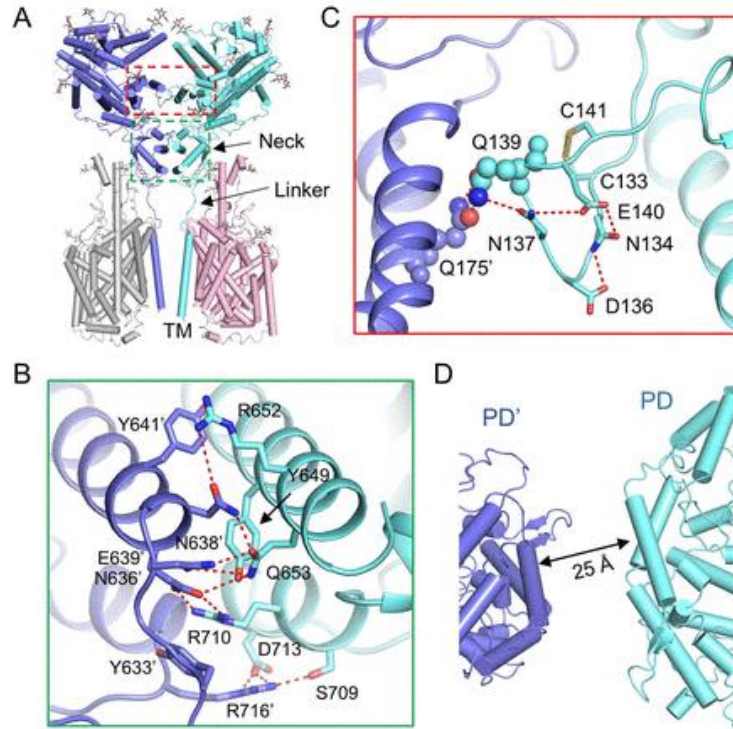


Figura 7. Interfaz de dimerización de ACE 2. (A) ACE 2 se dimeriza a través de dos interfaces, la PD (cuadro rojo) y el dominio del cuello (cuadro cyan) (B) La interfaz dimérica primaria es a través del dominio del cuello en ACE 2. Las interacciones polares están representadas por líneas rojas discontinuas. (C) Una interfaz más débil entre los PD de ACE 2. La única interacción es entre Glutamina 139 (Q139) y Glutamina (Q175'), que se destacan como esferas. Los residuos polares que pueden contribuir a la estabilización de Glutamina 139 (Q139) se muestran como barras. (D) Los PD ya no se contactan entre sí en estado abierto. *Tomado de Renhong, Y y col., 2020 (40).*

Los dos subdominios I (residuos 19-102, 290-397 y 417-430) y II (residuos 103-289, 398-416 y 431-615) de PD forman los dos lados de la hendidura larga y profunda del sitio activo, tienen dimensiones de ~ 40 Å larga por ~ 15 Å ancha por ~ 25 Å profunda, que se conectan por una α -hélice prominente (hélice 17, residuos 511-531), y que forma la base del dominio del cuello. Se definen como N-terminal para el subdominio I y C-terminal para el subdominio II (40). La estructura secundaria de PD se compone de 20 segmentos α -helicoidales y nueve hélices 3_{10} que juntos constituyen aproximadamente el 62% de la estructura. Esto contrasta con solo seis segmentos cortos de hélice β que conforman $\sim 3.5\%$ de la estructura (39) (Figura 8).

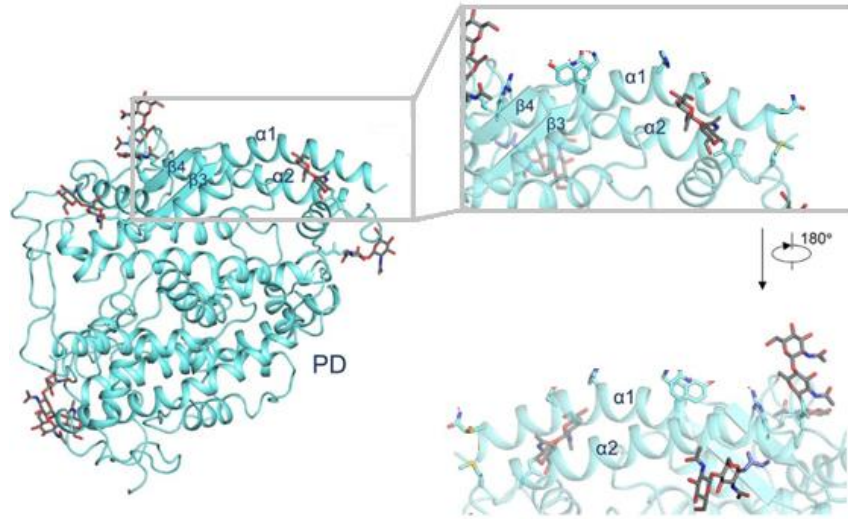


Figura 8. Representación molecular de la estructura secundaria de la metalopeptidasa (PD), donde se puede observar las estructuras β y α -helicoidales, además de las estructuras 3_{10} hélice (color gris) *Tomado de Renhong, Y y col., 2020* (40)

El único sitio de unión de zinc HEXXH, se encuentra ubicado cerca de la parte inferior del subdominio I. El Zinc es coordinado por Histidina 374 (H374), Histidina 378 (H378), Ác. Glutámico 402 (E402) y una molécula de agua (estructura nativa) (42). Existe una dependencia a los aniones monovalentes, específicamente a los iones de cloruro (Cl) para la actividad catalítica, el cual se encuentra unido al ACE 2 nativo, coordinado por Arginina 169 (R169), triptófano 477 (W 477) y Lisina 481 (K481) en el subdominio II (Figura 9)(39).

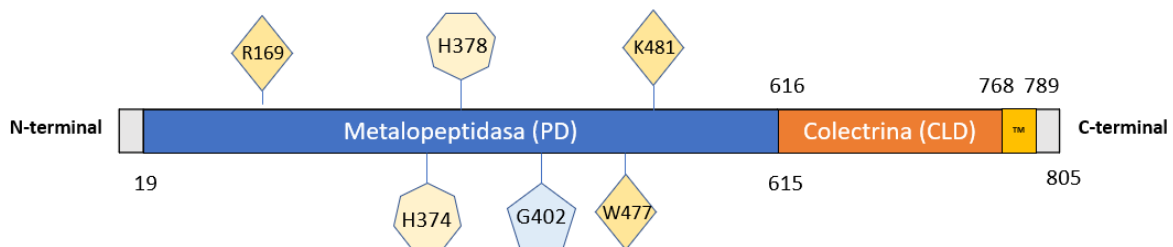


Figura 9. Representación lineal de ACE 2 que consta de 805 aminoácidos.

Muestra la región extracelular en la que se encuentran dos dominios PD donde contiene los sitios activos de unión a Zn^{2+} en H374, H378 y G402, además de los sitios de unión de cloro (rombos amarillos) y el dominio colectrina. *Autoria propia Ana Reyes, 2021*

2.3 Reconocimiento del virus por ACE 2

Para la unión al receptor, la glicoproteína S trímero altamente glicosilado (21 a 35 sitios de adición a carbohidratos) media el reconocimiento del receptor y la fusión a la membrana. Durante la infección viral, la glicoproteína S es escindida en los puntos S1/S2 por la proteasa transmembrana de serina tipo 2 (TMPRSS2) ubicada en la membrana de células epiteliales de las vías respiratorias (35). El sitio de escisión de la furina incluye cuatro residuos (P681, R682, R683 y A684) y se encuentra en el límite entre las subunidades S1 y S2. Funcionalmente, R682, R683, A684 y R685 constituyen el sitio de escisión de furina polibásica mínima, RXYR, donde X o Y es una arginina o lisina cargada positivamente. También se produce una segunda escisión por el punto S2' (sitio de escisión secundario en S2) motivo difásico con residuo de arginina y lisina, después del reconocimiento al receptor y así libera el péptido de fusión viral para insertarlo en las membranas del huésped (43) (Figura 10). Además, se ha determinado que dichos sitios de escisión polibásica están presentes en las proteínas S de los coronavirus humanos de baja patogenicidad OC43 y HKU1, y en la proteína S del coronavirus humano de alta patogenicidad MERS-CoV, pero no están presentes en los β CoV del grupo b relacionados con el SARS-CoV que se encuentran en los seres humanos, por lo que esto puede contribuir a la alta virulencia del SARS-CoV-2 debido a que las serinas proteasas necesarias para la activación proteolítica de S son expresadas ubicuamente en humanos, proporcionando tropismo tisular expandido y patogénesis (44).

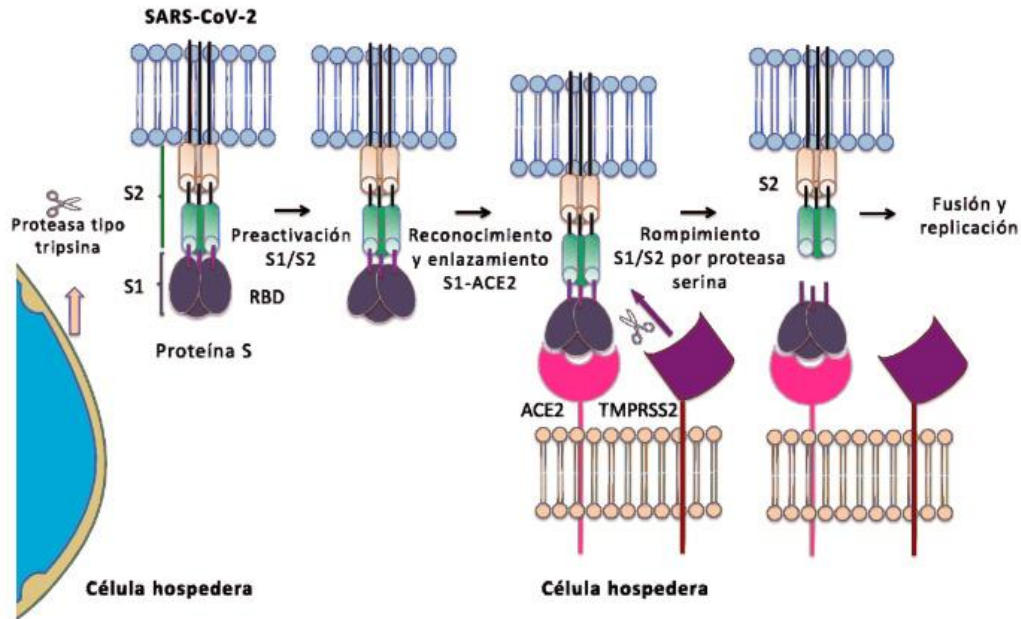


Figura 10. Proceso de penetración del virus en la célula del hospedero. La ACE 2 y la TMPRSS2 son esenciales en la células respiratorias para la infección por SARS-CoV-2 *Tomado de Santos-Sánchez, NF y col., 2020 (45)*

S1, trómero de ectodominio de 160 Å de largo que contiene al dominio N-terminal (NTD, sigla en inglés de *N-terminal domain*) y al dominio de unión al receptor (RBD, sigla en inglés de *Receptor Binding Domain*) (Figura 11B) que incluye el motivo de unión con el receptor (RBM, sigla en inglés *receptor-binding motif*), superficie cóncava que aloja la hélice N-terminal de la ACE2 (46), mientras que S2 es responsable de la fusión con la membrana, a través del péptido de fusión (FP). Además contiene al dominio repetición de héptada 1 (HR1), hélice central (CH), dominio del conector (CD), dominio repetición de héptada 2 (HR2), dominio transmembrana (TM) y la cola citoplasmática (TC) (Figura 11C) (44), lo que le permite cumplir su función y con ello generar la internalización viral por endocitosis mediada por receptores de partículas de virión por proteasa serina unida a membrana TMPRSS2 y L-cathepsina lisosomal con ACE 2 en el epitelio pulmonar (34).

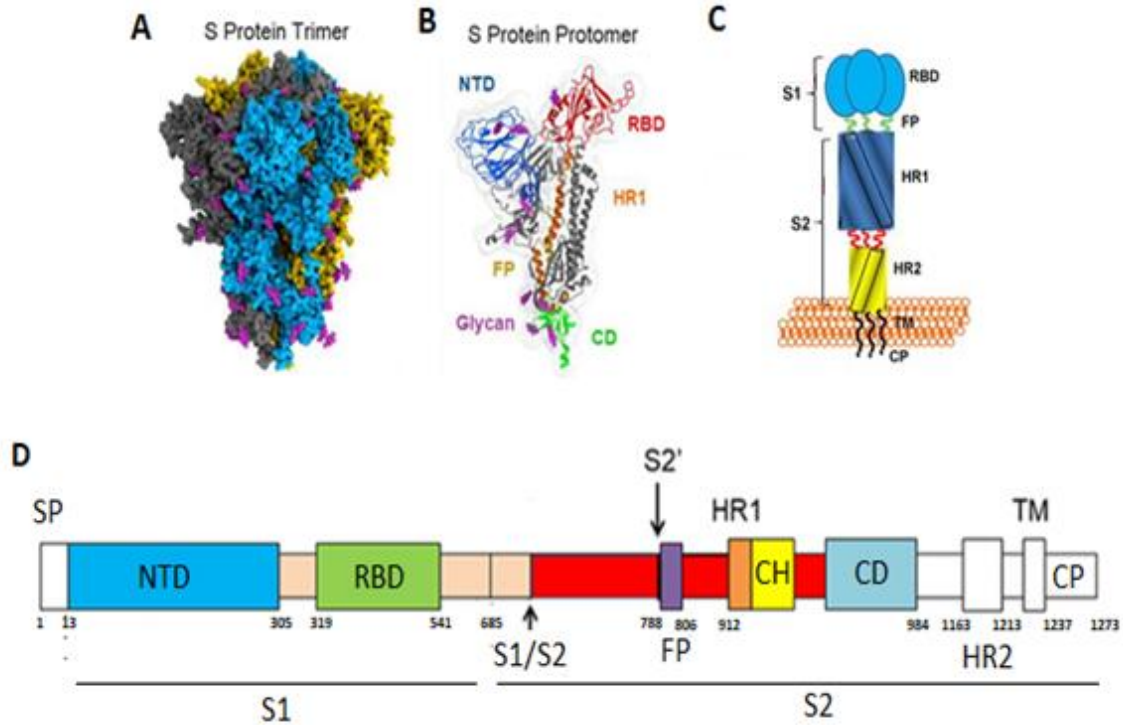


Figura 11. Estructura de la glicoproteína S. (A) Estructura cristalina de la glicoproteína S (PBD ID: 6VXX). La glicoproteína S es una proteína trimérica grande decorada con glucanos (violeta). Los protómeros de la glicoproteína S, todos los cuales están en conformación descendente, se muestran en amarillo, azul y gris. (B) Se muestra la estructura del protómero de la glicoproteína en su conformación hacia abajo. Dominios de un protómero S; NTD, RBD, FP y HR1, CD y glucanos se muestran en azul, rojo, mostaza, naranja, verde y morado, respectivamente. (C) Figura representativa de dominios funcionales en la proteína S SP, péptido señal; NTD, dominio N-terminal; RBD, dominio de unión al receptor; FP, péptido de fusión, HR1, repetición 1 de heptada; HR2, repetición 2 de heptada; TM, dominio transmembrana; CP, dominio citoplasmático, además, se muestra los sitios de corte S1/S2: sitio de escote proteasa; S2': sitio de escote proteasa y los sitios de destino para el desarrollo de vacunas, anticuerpos e inhibidores de fusión / entrada. (D) Esquema representativo de los dominios funcionales en la glicoproteína S de SARS-CoV-2. *Adaptado de Gur M y col., 2020, Mendes SC., 2020, Huang Y y col., 2020.* (47–49)

Los trímeros de prefusión S en la superficie del virus pueden estar predominantemente en la conformación cerrada inaccesible al receptor o abierta inducida o estabilizada solo con la unión al receptor. En el estado cerrado todos los RBD están en la posición hacia abajo cubriendo las subunidades S2; mientras que, en el estado abierto, al menos un RBD está en una posición hacia arriba y se gira hacia afuera desde S2, exponiendo así su superficie de unión al receptor, por lo tanto, el sitio de unión al receptor está

estocásticamente expuesto (Figura 12A) (50). Con respecto a su distribución, estas glicoproteínas están repartidas aleatoriamente en la superficie viral, existiendo aproximadamente un trímero por cada 1.000 nm² de la superficie de la membrana, y se encuentran inclinados hasta un 90° hacia la membrana (Figura 12B) ya que las estructuras analizadas revelan que la región membrana-tallo proximal actúa como una bisagra con suficiente flexibilidad para permitir la inclinación en todas las direcciones (43).

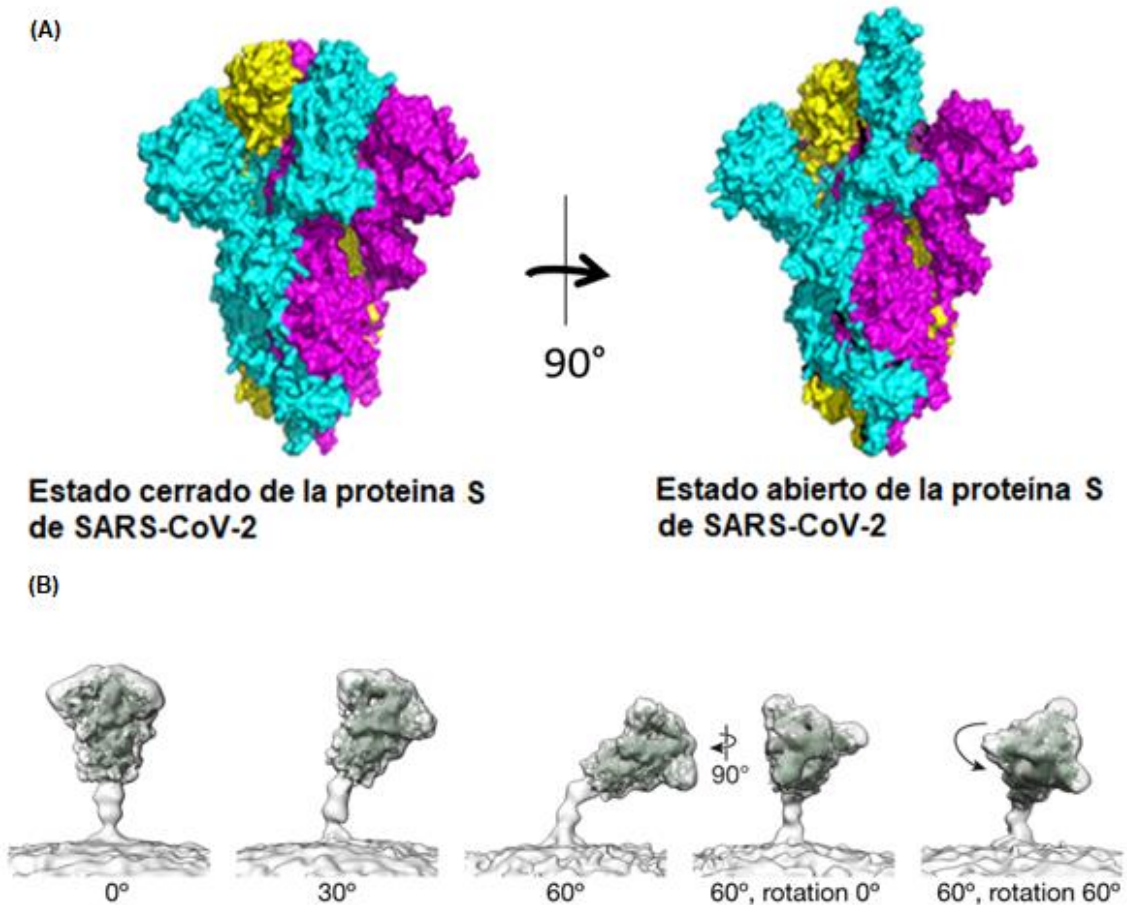


Figura 12. Estructura Crio-EM de la glicoproteína S de SARS-CoV-2. (A) El estado cerrado (PDB: 6VXX) de la glicoproteína SARS-CoV-2 S (izquierda) del estado abierto (PDB: 6VYB) de la glicoproteína SARS-CoV-2 S (derecha) (B) Tres conformaciones del trímero de prefusión observadas en viriones intactos. *Tomado de Wang MY y Col., 2020 y Kirchdoerfer RN y col., 2020* (43,44)

La entrada celular es un componente esencial de la transmisión entre especies, especialmente para los β CoVs ya que se sabe que una sola región de la glicoproteína S, RBD, media la interacción con el receptor de la célula huésped, siendo el dominio único y continuo que contiene toda la información estructural necesaria para interactuar con el receptor huésped (26). Aunque hasta el momento se sabe que a pesar de que los virus estén clasificados como al mismo género o especie, estos no necesariamente reconocen a los mismos receptores, pues tal como se observa en la tabla 2, los coronavirus pertenecientes a los géneros α CoVs y β CoVs, reconocen a diferentes receptores para ingresar al interior celular (51). Siendo así que la ACE 2 media la entrada a las células del huésped de tres cepas de coronavirus: SARS-CoV, NL63 y SARS-CoV-2 (52). Esto se explica debido a que se ha determinado que la filogenia de la glicoproteína S del SARS-CoV-2 está firmemente arraigada a otros coronavirus similares al linaje b del género β CoVs. Señalándose que las secuencias entre la glicoproteína S del SARS-CoV (aislado humano, civetas o murciélago) y el SARS-CoV-2 son de alrededor del 76% al 78% para la proteína completa, del 73% al 76% para la RBD, y del 50% al 53% para el RMB (53).

Tabla 2. Receptores de los géneros α CoV y β CoV. Tomado y adaptado de Fehr A.R. y Perlman S.,2015 (9)

Virus	Receptor	Referencias
Alfacoronavirus		
HCoV-229E	APN	Yeager CL, 1992 (54)
HCoV-NL63	ACE -2	Hofmann H, 2005 (55)
TGEV	APN	Delmas B, 1992 (56)
PEDV	APN	Li BX, 2007 (57)
FIPV	APN	Tresnan DB, 1996 (58)
CCoV	APN	Benbaccer L, 1997 (59)
Betacoronavirus		
MHV	mCEACAM	Nédellec P, 1994;Williams RK, 1991 (60,61)
BCoV	Ácido N-acetil-9-O-acetilneuramínico	Schultze B, 1992 (62)
SARS-CoV	ACE -2	Li W, 2003 (63)
MERS-CoV	DPP4	Züst R, 2007 (64)
SARS-CoV-2	ACE -2	Lukassen S, 2020 (20)

APN aminopeptidasa N, ACE 2 enzima convertidora de angiotensina 2, mCEACAM murino carcinoembrionario molécula de adhesión antígeno relacionado 1, DPP4 dipeptidil peptidasa 4, HCoV humano coronavirus, TGEV transmisible gastroenteritis virus, PEDV porcino virus de la diarrea epidémica, FIPV peritonitis infecciosa felina virus, CoVC canino coronavirus , Virus de la hepatitis murina MHV , coronavirus bovino BCoV , coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo SARS-CoV , coronavirus del síndrome respiratorio MERS-CoV Medio Oriente, SARS-CoV-2 , coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave.

Estudios previos demostraron que RBD (residuos 319-541) de SARS-CoV- 2 contiene una estructura central y un RMB (residuos 438-506) que se une a una estructura en forma de garra del ACE 2 (65). Existiendo puntos específicos de unión para el virus, cuyos aminoácidos específicos en la posición 455, 486, 493, 494 y 501 que mejoran la unión viral al ACE 2 humano (66) (Figura 13).

```

Human-SARS-2002 306 RVVPS GDVVRFPNIT NLCPPGGEVFN ATKFPSVYAW ERKKISNCVA DYSVLYNSTF 360
Civet-SARS-2002 306 RVVPS GDVVRFPNIT NLCPPGGEVFN ATKFPSVYAW ERKKISNCVA DYSVLYNSTS 360
Bat-SARS-2013 307 RVAPS KEVVRFPNIT NLCPPGGEVFN ATTFPSVYAW ERKKISNCVA DYSVLYNSTS 361
2019-nCoV 319 RVQPT ESIVRFPNIT NLCPPGGEVFN ATRFASVYAW NRKRISNCVA DYSVLYNSAS 373
** * : . :***** ***** ** * ***** :**:* ***** *****;

Human-SARS-2002 FSTFKCYGVS ATKLNDLCFS NVYADSFVVK GDDVRQIAPG QTGVIADYNY KLPDDFMGCV 420
Civet-SARS-2002 FSTFKCYGVS ATKLNDLCFS NVYADSFVVK GDDVRQIAPG QTGVIADYNY KLPDDFMGCV 420
Bat-SARS-2013 FSTFKCYGVS ATKLNDLCFS NVYADSFVVK GDDVRQIAPG QTGVIADYNY KLPDDPTGCV 421
2019-nCoV FSTFKCYGVS PTKLNDLCFT NVYADSFVIR GDEVRQIAPG QTGKIADYNY KLPDDPTGCV 433
***** *****; *****; **:* ***** ** ***** *****

Human-SARS-2002 LAWNRNIDA TSTGNINYKY RYLRHGKLRP FERDISNVFP SPDGKPCFP-P ALNCYMLND 480
Civet-SARS-2002 LAWNRNIDA TSTGNINYKY RYLRHGKLRP FERDISNVFP SPDGKPCFP-P ALNCYMLND 480
Bat-SARS-2013 LAWNRNIDA TQTONINYKY RSLRHGKLRP FERDISNVFP SPDGKPCFP-P AFNCYMLND 481
2019-nCoV IAWNSHNLDS KVGGNINYLY RLFRKSNLKP FERDISTEII QAGSTPCNGVE GFNCYFPLQS 494
:***:.*:* . ***** * * :*:.:* ***** . : . . . . . :****:*:.

Human-SARS-2002 YGFYITGIG YQYRVVLS FELLNAPATV CGPKL 515
Civet-SARS-2002 YGFYITGIG YQYRVVLS FELLNAPATV CGPKL 515
Bat-SARS-2013 YGFYITGIG YQYRVVLS FELLNAPATV CGPKL 516
2019-nCoV YGFQITGIG YQYRVVLS FELLNAPATV CGPKK 529
*** *.*:* ***** *****;*****

```

Figura 13. Comparación de secuencias de 2019-nCoV y SARS-CoV. Alineación de secuencia de SARS-CoV y 2019-nCoV RBD. Los residuos de RBM están en magenta. Los cinco residuos críticos en el reconocimiento de ACE 2 están en azul. Los residuos que entran en contacto con ACE 2 están sombreados. Los asteriscos indican posiciones que tienen un solo residuo totalmente conservado. Los dos puntos indican posiciones que tienen residuos fuertemente conservados. Los períodos indican posiciones que tienen residuos débilmente conservados. *Tomado de Wan, Y y col., 2020 (53)*

El RBD del SARS-CoV-2 incluye dos dominios estructurales, el núcleo y los subdominios externos. El subdominio central está muy conservado. Está compuesto por cinco hebras β dispuestas de manera antiparalela y un enlace disulfuro entre dos hebras β . El subdominio externo está dominado principalmente por el bucle que está estabilizado por el enlace disulfuro. En cambio, el núcleo consta de cinco láminas β dispuestas de manera antiparalela (β_1 , β_2 , β_3 , β_4 y β_7) y conectadas por bucles y hélices cortas. Entre las hebras β_4 y β_7 , en el núcleo, hay una inserción extendida que contiene las hebras cortas β_5 y β_6 , hélices y bucles α_4 y α_5 , conocida como RBM que contiene la mayoría de los residuos en contacto del SARS-CoV-2 que se unen a ACE 2 (Figura 14 A). Un total de nueve residuos de cisteína se encuentran en el RBD, ocho de los cuales forman cuatro pares de enlaces disulfuro que se resuelven en el modelo final. Entre estos cuatro pares, tres están en el núcleo (Cys336–Cys361, Cys379–Cys432 y Cys391–Cys525), que ayudan a estabilizar la estructura de la hoja de β el par restante (Cys480–Cys488) conecta los bucles en el extremo distal del RBM (Figura 14B) (67).

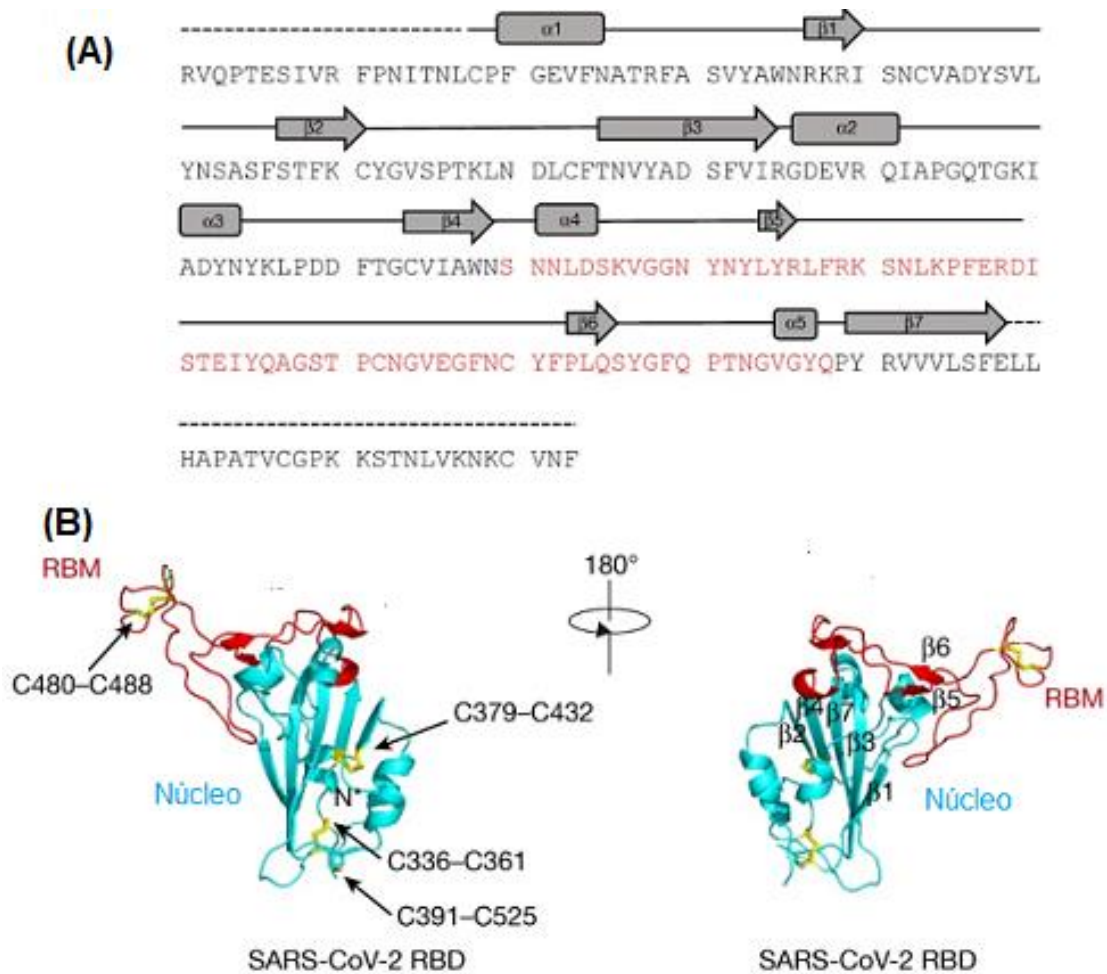


Figura 14. Estructura general de RBD de SARS-CoV-2. (A) Secuencia y estructuras secundarias del SARS-CoV-2 RBD. La secuencia de RBM se muestra en rojo. (B), Estructura general del RBD del SARS-CoV-2. El núcleo RBD del SARS-CoV-2 se muestra en cian y el RBM en rojo. Los enlaces disulfuro en el RBD se muestran indicados por flechas. *Tomado de Lan J. y col., 2020 (67).*

Se ha determinado que el modo de combinación general del complejo SARS-CoV-2 RBD-ACE2 es muy similar al del complejo SARS-CoV RBD-ACE2 identificado en estudios anteriores. Sin embargo, hay sutiles interacciones distintas de ACE2 que conducen a la variación en la afinidad de unión entre ambos virus donde del total de 17 residuos del SARS-CoV-2 RBD contactan con 20 residuos del ACE2. El análisis de la interfaz entre SARS-CoV RBD y ACE2 reveló un total de 16 residuos del SARS-CoV RBD en contacto con 20 residuos

de ACE2. Entre los 20 residuos que interactúan con los dos RBD diferentes, 17 residuos son compartidos entre ambas interacciones y la mayoría de los cuales se encuentran en la hélice N-terminal (44) (Figura 15 A). Para identificar y comparar los residuos que interactúan con ACE2, se utilizó alineación de secuencia guiada por estructura y los mapeamos en sus respectivas secuencias RBD. Entre las 14 posiciones de aminoácidos compartidas utilizadas por ambos RBM para la interacción ACE2, ocho tienen residuos idénticos entre los SARS-CoV-2/RBD y SARS-CoV/RBD, incluidos Tirosina 449 (Y 449) / Tirosina 436 (Y436), Tirosina 453 (Y453) / Tirosina 440 (Y440), Asparagina 487 (N487) / Asparagina 473 (N473), Tirosina 489 (Y489) / Tirosina 475 (Y475), Glicina 496 (G496) / Glicina 482 (G482), Treonina 500 (T500) / Treonina 486 (T486), Glicina 502 (G502) / Glicina 488 (G488) y Tirosina 505 (Y505) / Tirosina 491 (Y491). Cinco posiciones tienen residuos que demuestran propiedades bioquímicas similares a pesar de tener diferentes cadenas laterales que incluyen Leucina 455 (L455) / Tirosina 442 (Y442), Fenilalanina 456 (F456) / Leucina 443 (L443), Fenilalanina 486 (F486) / Leucina 472 (L472), Glutamina 493 (Q493) / Asparagina 479 (N479) y Asparagina 501 (N501) / Treonina 487 (T 487). La posición restante se encuentra en la ubicación Glutamina 498 (Q498) / Tirosina 484 (Y484), en la que Q498 del SARS-CoV-2 y Y484 del SARS-CoV interactúan con Ác. Aspártico 38 (D38) , Tirosina 41 (Y41), Glutamina 42 (Q42), Leucina 45 (L45) y Lisina 353 (K353) de ACE2. Entre las seis posiciones de RBD con residuos modificados, los residuos de SARS-CoV Y442, L472, N479 y T487 han demostrado previamente ser esenciales para la unión de ACE2. En la posición L455/Y442, L455 de SARS-CoV-2 y Y442 de SARS-CoV tienen interacciones similares con Ác. Aspártico 30 (D30) , Lisina 31 (K31) y Histidina 34 (H34) de ACE2 (Figura. 16A). En la posición F486/L472, F486 de SARS-CoV-2 interactúa con Glutamina 24 (Q24), Leucina 79 (L79), Metionina 82 (M82) y Y83 de ACE2, mientras que L472 de SARS-CoV tiene menos interacciones con L79 y M82 de ACE2 (Figura. 16A). En la posición Q493/N479, Q493 del SARS-CoV-2 interactúa con Lisina 31 (K31) , Histamina 34 (H34) y Ác. Glutámico 35 (E35) de ACE2 y forma un enlace de hidrógeno con E35; N479 de SARS-CoV interactúa sólo con H34 de ACE2 (Figura. 16A). En la posición N501/T487, ambos residuos tienen interacciones similares con Y41, K353, G354 y D355 de ACE2 (Figura. 16A). N501 de SARS-CoV-2 y T487 de SARS-CoV forman un enlace de hidrógeno con Y41 de ACE2. Fuera del RBM, hay un residuo único que interactúa con ACE2 (K417) en el SARS-CoV-2,

que forma interacciones puente salino con D30 de ACE2. Esta posición es reemplazada por una valina en el SARS-CoV RBD que no participa en la unión a ACE2. Además, una comparación del potencial electrostático superficial también identificó un parche cargado positivo en el SARS-CoV-2 RBD aportado por K417 que está ausente en el SARS-CoV RBD (Figura 16B). Estas interacciones ACE2 sutilmente diferentes pueden contribuir a la diferencia en la afinidad de unión del SARS-CoV-2 y el SARS-CoV al receptor ACE2 (constante de disociación (KD) de 4,7 nM, aunque el del SARS-CoV es de 31 nM) (67). En conjunto, estos resultados muestran que las interfaces SARS-CoV-2 RBD / ACE2 y SARS-CoV RBD / ACE2 comparten una similitud sustancial en el área de la superficie enterrada, el número de residuos que interactúan y las redes de interacción hidrófila, aunque se identificaron algunas diferencias en el potencial electrostático de la superficie. Tal similitud aboga fuertemente por la evolución convergente de las estructuras SARS-CoV-2 /RBD y SARS-CoV/RBD para mejorar la afinidad de unión al mismo receptor ACE2 a pesar de estar en diferentes linajes genéticos en el género β CoV (68).

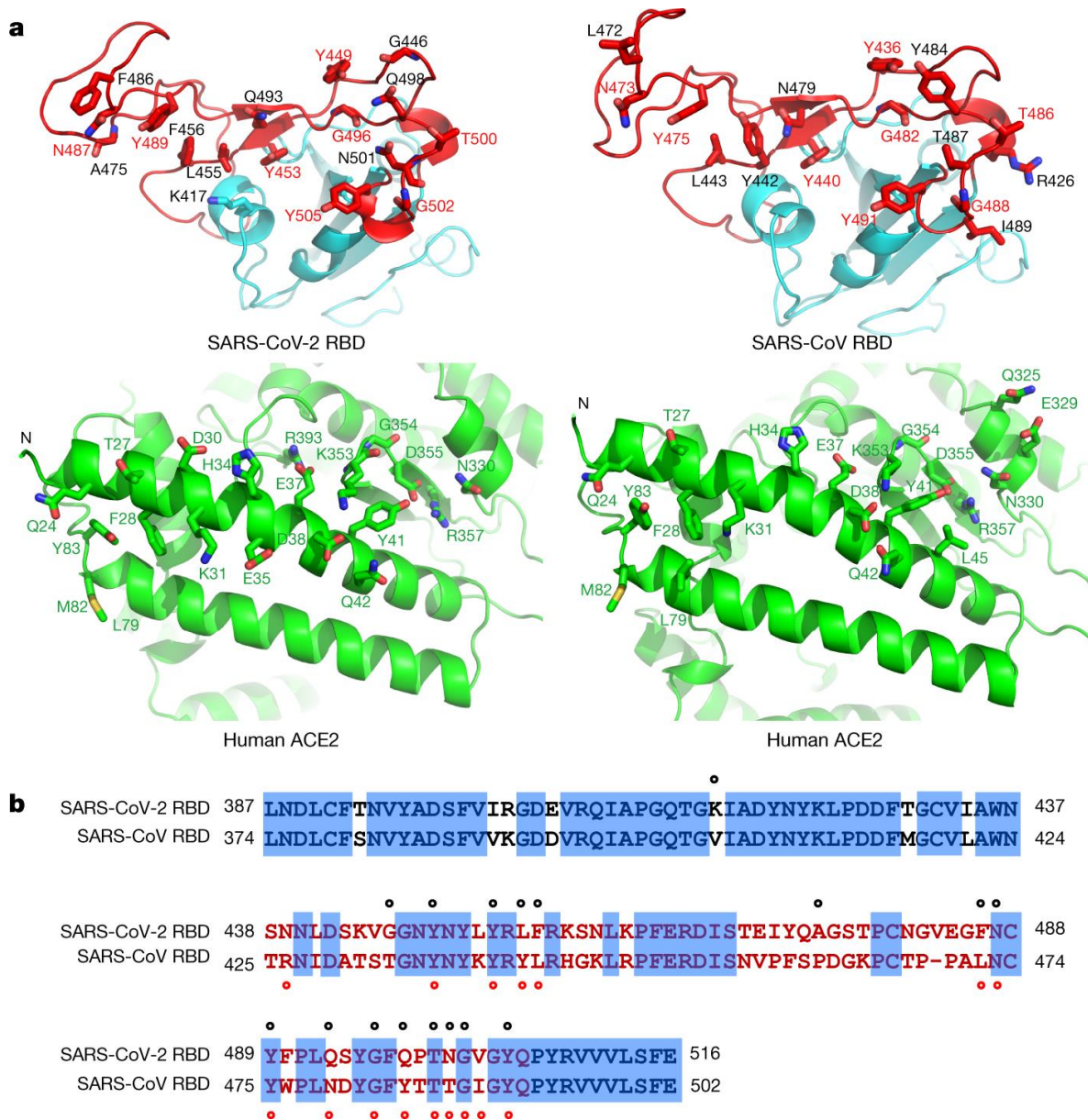


Figura 15. La interfaz de enlace SARS-CoV-2 RBD / ACE2 en comparación con la de SARS-CoV RBD / ACE2. (A) Los residuos de contacto de RBD implicados en la unión de ACE2 se indican mediante color rojo. (b) Alineación de secuencia de SARS-CoV-2 RBD y SARS-CoV RBD. Los residuos en contacto en el RBD SARS-CoV-2 se indican mediante puntos negros; los residuos que entran en contacto con el SARS-CoV RBD se indican con puntos rojos. *Tomado de Jun L y col. 2020 (67)*

Aunque de igual importancia, una característica notable y común que se encontró para ambas interfaces RBD- ACE 2 son las redes de interacciones hidrofílicas. Hay 13 enlaces de hidrógeno y 2 puentes de sal en la interfaz SARS-CoV-2 RBD-ACE2, y 13 enlaces de hidrógeno y 3 puentes de sal en la interfaz SARS-CoV RBD-ACE2. Otra característica compartida es la participación de múltiples residuos de tirosina en la formación de interacciones de enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo polar. Estos incluyen Tirosina 449 (Y449), Tirosina 489 (Y489), Tirosina 495 (Y495) y Tirosina 505 (Y505) de SARS-CoV-2/ RBD y Tirosina 436 (Y436), Tirosina 475 (Y475) y Tirosina 491 (Y491) de SARS-CoV/ RBD (Tabla 3). Por lo que un par de puentes salinos y un puente de hidrógeno conducen a una unión más fuerte entre RBM de la glicoproteína S de SARS-CoV-2 con hélice N-terminal de ACE 2 humano en la membrana de la célula huésped (68). La tercera característica compartida puede residir en los glicanos ligados a Asparagina 90 (N90) del ACE2 que se unen a diferentes RBDs. En la estructura del complejo SARS-CoV RBD-ACE2, una cadena de NAG-NAG- β -d-manosa ligada a N90 está en contacto con T402 del SARS-CoV RBD y se ha propuesto que esta interacción glicano-RBD tiene un papel importante en la unión del SARS-CoV RBD por ACE2. En la estructura SARS-CoV-2 RBD-ACE2, la densidad permitió sólo el modelado del primer NAG vinculado a ACE2 N90, y no se observaron interacciones entre este NAG y el SARS-CoV-2 RBD. Sin embargo, esto no excluye que los glicanos después de la primera NAG pueden interactuar con el SARS-CoV-2 RBD y pueden tener papeles importantes en la unión del SARS-CoV-2 RBD por ACE2.

En comparación con la interfaz RBM-ACE2 del SARS-CoV se producen cambios estructurales sutiles, pero funcionalmente importantes cerca de los dos puntos críticos de unión a virus en la interfaz RBM-ACE2 del SARS-Co. identificándose dos puntos críticos de unión (virus-binding hotspots), el punto crítico hotspot-31 en el puente salino K31 y E35, y el hotspot-353 en otro puente salino entre K353 y D38. Estos dos puentes salinos son débiles, debido a la gran distancia en la interacción, pero como están encerrados en un entorno hidrófugo, que reduce la constante dieléctrica efectiva, su energía de enlace es mayor. En SARS-CoV-2 se produce que la L455 del RBM SARS-CoV-2 (correspondiente a Y442 del RBM SARS-CoV) tiene una cadena lateral menos voluminosa, proporcionando

menos soporte a K31 de ACE2. Como resultado, en la estructura del hotspot 31 se ha reorganizado: el puente de sal entre K31 y E35 se rompe, y cada uno de los residuos forma un enlace de hidrógeno con Q493 del RBM SARS-CoV-2. En segundo lugar, en la interfaz SARS-CoV RBM-ACE2, el hotspot 353 requiere el apoyo del grupo metilo de la cadena lateral de T487 del RBM SARS-CoV, mientras que el grupo hidroxilo de cadena lateral de T487 forma un enlace de hidrógeno con la cadena principal de RBM (que fija la conformación de la cadena lateral T487). En comparación, en la interfaz SARS-CoV-2 RBM-ACE2, N501 del RBM SARS-CoV-2 también tiene su conformación fijada a través de un enlace de hidrógeno entre su cadena lateral y la cadena principal de RBM; en consecuencia, su cadena lateral proporciona menos soporte al hotspot 353 que el T487 correspondiente del RBM del SARS-CoV. En consecuencia, K353 de ACE2 toma una conformación ligeramente diferente, formando un enlace de hidrógeno con la cadena principal del RBM SARS-CoV-2 manteniendo el puente de sal con D38 de ACE2 (69). Este cambio estructural permite que la cresta se vuelva más compacta y forme mejores contactos con la hélice N-terminal de ACE2

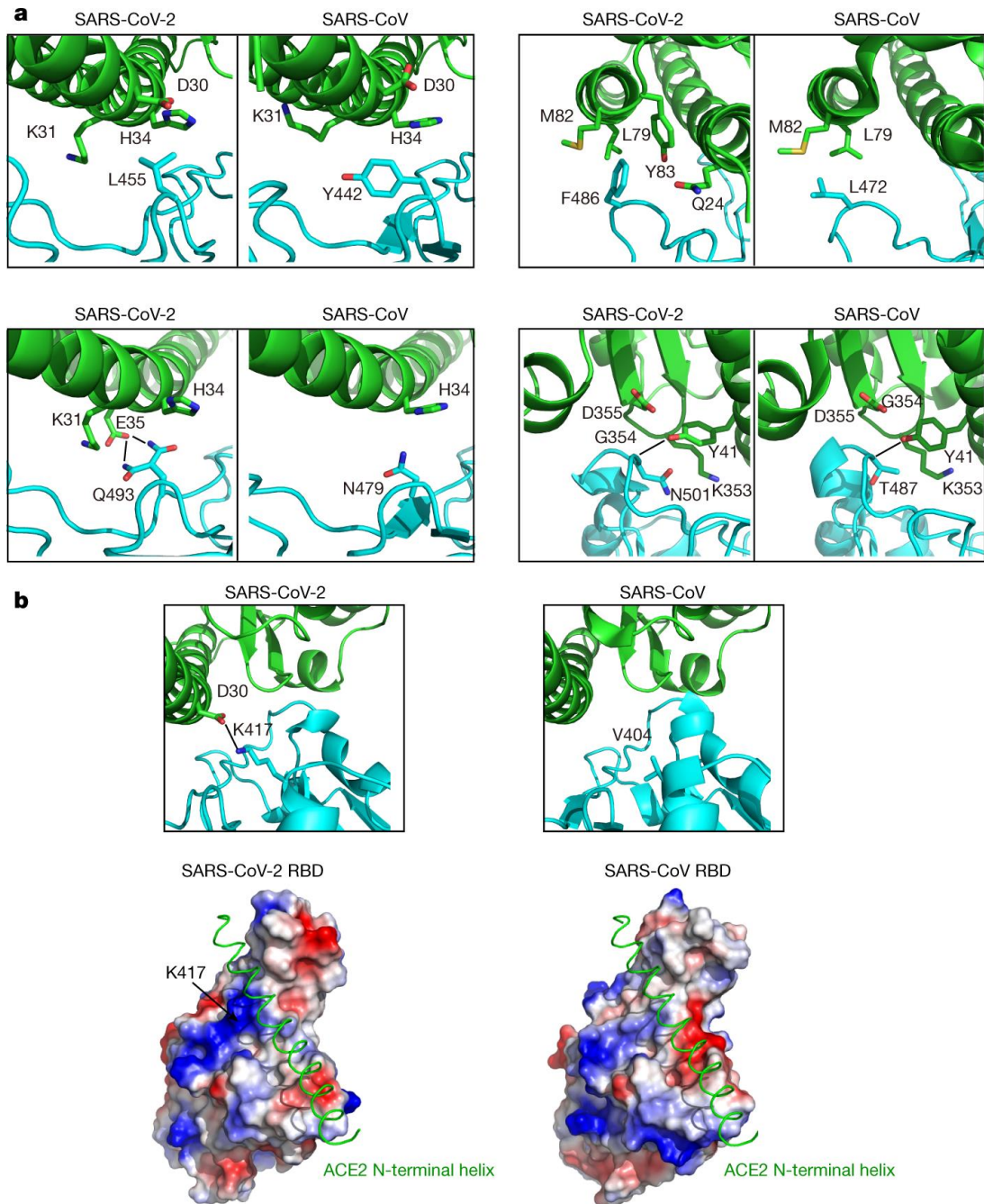


Figura 16. Comparaciones de interacciones en las interfaces SARS-CoV-2 RBD-ACE2 y SARS-CoV RBD-ACE2. (A), Interacciones alrededor de las posiciones del SARS-CoV-2 y el SARS-CoV en el RBM con residuos modificados. Los RBDs SARS-CoV-2 y SARS-CoV se muestran en cian. ACE2 se muestra en verde. b, Interacciones alrededor de las posiciones K417 y V404 de los RBDs SARS-CoV-2 y SARS-CoV, respectivamente, que están fuera de los mapas de RBM y potencial electrostático de los RBDs SARS-CoV-2 y SARS-CoV. *Tomado de Jun L y col. 2020 (67)*

Tabla 3: Enlaces de hidrógeno y puentes de sal en las interfaces SARS-CoV-2 RBD-ACE2 y SARS-CoV RBD-ACE2. Tomado de Jun L y col. 2020 (68)

	SARS-CoV-2 RBD	Largo (Å)	ACE2	Largo(Å)	SARS-CoV RBD
Enlace de hidrógeno	N487(ND2)	2.6	Q24(OE1)	2.9	N473(ND2)
	K417(NZ)	3.0	D30(OD2)		
	Q493(NE2)	2.8	E35(OE2)		
			E37(OE1)	3.4	Y491(OH)
	Y505(OH)	3.2	E37(OE2)		
			D38(OD1)	3.0	Y436(OH)
	Y449(OH)	2.7	D38(OD2)	3.0	Y436(OH)
	T500(OG1)	2.6	Y41(OH)	2.8	T486(OG1)
	N501(N)	3.7	Y41(OH)	3.3	T487(N)
	G446(O)	3.3	Q42(NE2)		
	Y449(OH)	3.0	Q42(NE2)		
			Q42(OE1)	2.7	Y436(OH)
	Y489(OH)	3.5	Y83(OH)	3.3	Y475(OH)
	N487(OD1)	2.7	Y83(OH)	2.8	N473(ND2)
			Q325(OE1)	3.8	R426(NH2)
			E329(OE2)	3.0	R426(NH2)
			N330(ND2)	2.8	T486(O)
		G502(N)	2.8	K353(O)	2.6
	Y505(OH)	3.7	R393(NH2)		
Puente de sal	K417(NZ)	3.9	D30(OD1)		
	K417(NZ)	3.0	D30(OD2)		
			E329(OE2)	3.7	R426(NH1)
			E329(OE1)	3.9	R426(NH2)
			E329(OE2)	3.0	R426(NH2)

Enlaces ND2, delta de nitrógeno 2; NE2, épsilon de nitrógeno 2; NZ, nitrógeno zeta; N, nitrógeno; NH1, nitrógeno eta 1; NH2, nitrógeno eta 2; OH, eta de oxígeno; O, oxígeno; OD1, delta 1 del oxígeno; OD2: delta de oxígeno 2; OG1, gamma de oxígeno 1; OE1, épsilon de oxígeno 1; OE2, épsilon de oxígeno 2.

Por otro lado, el haz de seis helicoidales (6-HB) que está formado por HR1 y HR2, es crítico para la fusión de membranas. Tres dominios HR1 se unen para formar un trímero de bobina espiral de manera paralela, mientras los tres dominios HR2 están entrelazados alrededor del centro de la bobina enrollada de manera antiparalela mediada principalmente por la fuerza hidrofóbica. Los residuos hidrofóbicos en el dominio HR2 se unen con el surco hidrofóbico formado por cada dos hélices HR1 vecinas. La estructura general de 6 HB del SARS-CoV y el SARS-CoV-2 es muy similar, siendo la identidad del HR1 del SARS-CoV y el SARS-CoV-2 del 96% y el HR2 del 100%. Existiendo solo ocho residuos distintos en la región del núcleo de fusión del dominio HR1. En el dominio HR1 del SARS-CoV, la lisina 911 (K911) se une al ácido glutámico 1176 (E1176) en el dominio HR2 a través de un puente salino. En cuanto al SARS-CoV-2, el puente salino se reemplaza por un fuerte enlace de hidrógeno entre la serina 929 (S929) en HR1 y la serina 1.196 (S1196) en HR2. En el SARS-CoV HR1, la glutamina 915 (Q915) no tiene interacción con HR2. Sin embargo, en cuanto al SARS-CoV-2, existe un puente salino entre la lisina 933 (K933) en HR1 y la asparagina 1.192 (N1192) en HR2. En el SARS-CoV, existe un puente salino débil entre el ácido glutámico 918 (E918) en HR1 y la arginina 1.166 (R1166). Sin embargo, el ácido aspártico 936 (D936) en el HR1 de SARS-CoV-2 se une a la arginina 1.158 (R1158) a través de un puente salino. En el SARS-CoV, la lisina 929 (K929) se une al ácido glutámico 1.163 (E1163) en el dominio HR2 a través de un puente salino y la treonina 925 (T925) no se une al ácido glutámico 1.163 (E1163). Sin embargo, la serina 943 (S943) y la lisina 947 (K 947) en el SARS-CoV-2 se unen al ácido glutámico 1.182 (E1182) en HR2 a través de un enlace de hidrógeno y un puente salino (Figura 17). Estas diferencias pueden resultar en una mayor infectividad del SARS-CoV-2, al atraer a las membranas virales y celulares en estrecha proximidad para la fusión (70).

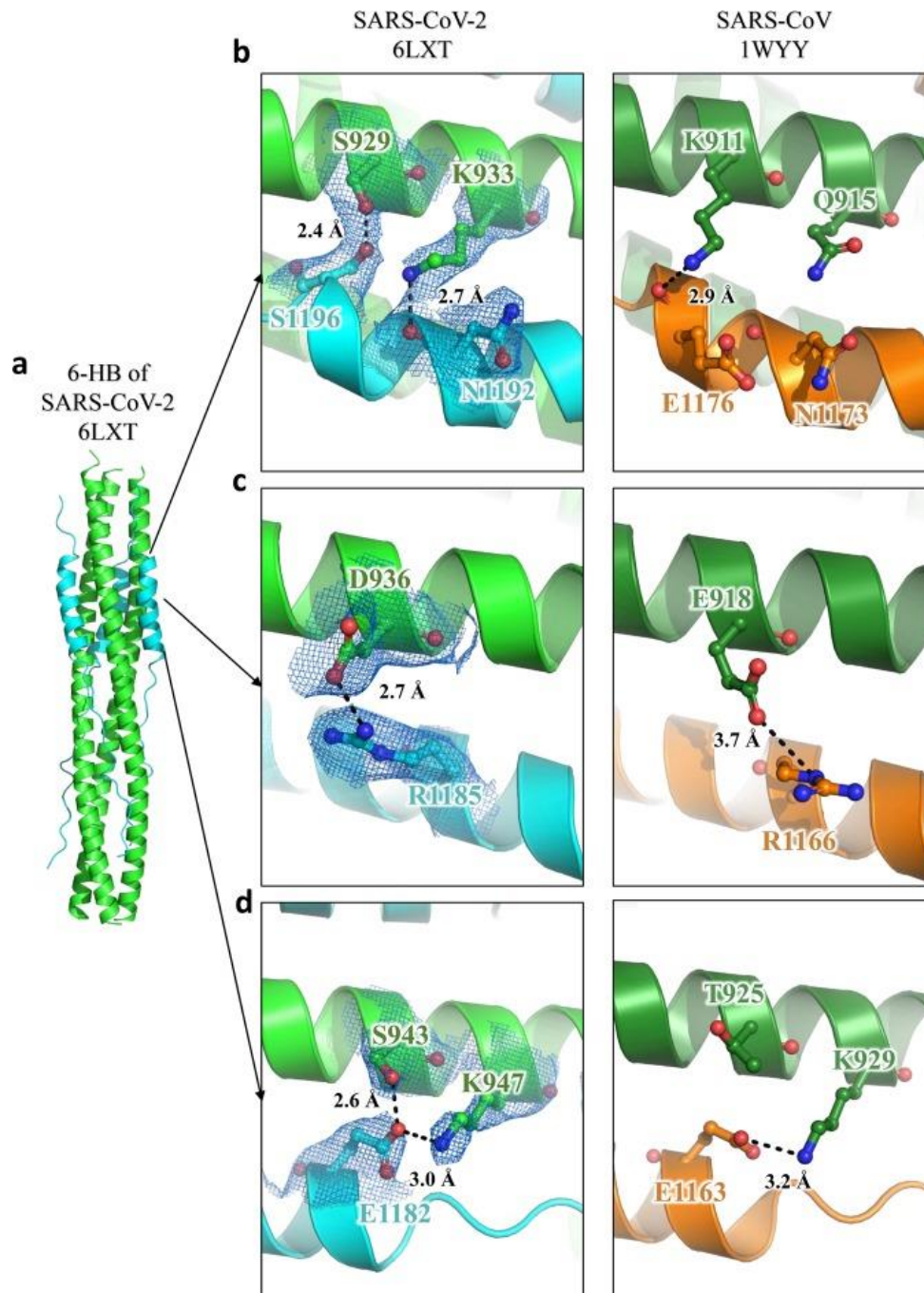


Figura 17. Interacción entre HR1 y HR2 de SARS-CoV-2 y SARS-CoV. Representación que muestra la estructura 6-HB de SARS-CoV-2 y SARS-CoV. El dominio HR1 se muestra en verde claro para SARS-CoV-2 y verde oscuro para SARS-CoV, mientras que el dominio HR2 se muestra en cian para SARS-CoV-2 y naranja para SARS-CoV. Los residuos importantes se muestran con puntos. *Tomado de Xia S y col., 2020 (70)*

3. RESPUESTA INMUNE E INFECCIÓN DIFERENCIAL EN NIÑOS Y ADULTOS

3.1 Respuesta inmune del hospedero

Durante la infección celular, la proteína S se une al receptor ACE2 de la célula huésped a través de RBD. Se espera que la unión proteína-receptor inicie una serie de reordenamientos estructurales en la proteína S. La escisión en S2' promueve el reordenamiento de HR1 en la subunidad S2 en una hélice α extendida y la inserción del FP en la membrana del huésped. Posteriormente, se forma un paquete de seis hélices que comprende HR2 y HR1. Esto completa la transición de la proteína S desde su estado de pre-fusión metaestable a un estado post-fusión altamente estable. La transición conformacional de la proteína S da como resultado la fusión de las membranas viral y del huésped, lo que permite la liberación del genoma viral en la célula huésped (71) (Figura 18).

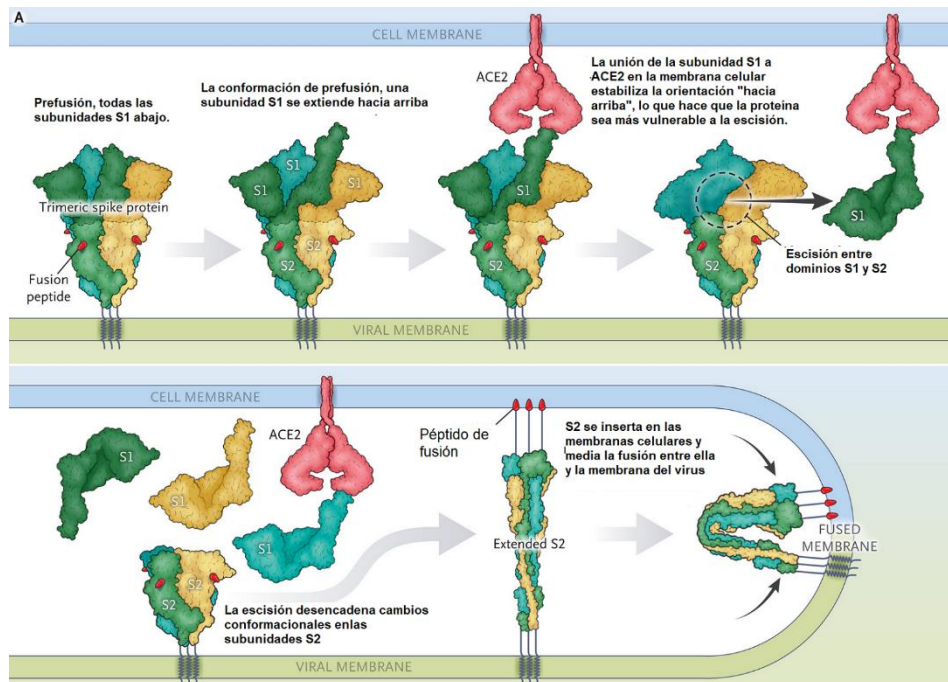


Figura 18. Proceso de fusión de SARS-CoV-2 con membrana celular del huésped. Los trímeros de la proteína S se expresan en la superficie del virus. En la conformación de prefusión, una subunidad S1 se extiende hacia arriba. La unión de la subunidad S1 a la ACE2 en la membrana celular estabiliza la orientación "hacia arriba", que probablemente induzca la escisión proteolítica. La escisión desencadena cambios conformacionales en las subunidades S2. Esta reconformación implica la extensión del péptido de fusión a la membrana de la célula huésped, después de lo cual S2 une la membrana de la célula huésped y la membrana viral. *Tomado de Sasisekharan R, 2021 (72)*

Para describir el proceso de infección del SARS-CoV-2 con más detalle, uno de los estudios más grandes que integran datos independientes de ARN unicelular y de un solo núcleo, analizó datos de 107 estudios diferentes que evaluaron la expresión de ARN específico del tipo celular de ACE2, TMPRSS2 en pulmón y vías respiratorias, así como en otros órganos diversos. Un hallazgo llamativo relacionado con las células del sistema inmune es la alta expresión de TMPRSS2 y ACE2 en las células NK y T en comparación con sus células inmunes. Los principales eventos fisiopatológicos inmunes que conducen gradualmente a una presentación grave de COVID-19 incluyen un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y una respuesta inmune desregulada. Tales eventos responden a una hiperactivación del sistema inmune innato causada por la inhibición de la señalización del

interferón por el virus y la producción de citoquinas proinflamatorias, en particular IL-6 y TNF α (73).

La unión del virus a la ACE2 es el evento que inicia la replicación viral en células susceptibles, esta replicación desencadena la respuesta inflamatoria primaria, que implica apoptosis y piroptosis. El patrón de apoptosis afecta la muerte celular para evitar la replicación viral en ausencia de inflamación evidente, mientras que la piroptosis es una forma violenta de muerte celular programada, seguida de una tormenta inflamatoria (74). En el modelo de piroptosis estándar, cuando el patógeno entra en la célula huésped, algunas estructuras específicas en la superficie del patógeno PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos) asociados a ARN que se identifican mediante receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), es decir, receptores que identifican moléculas intrínsecas presentes en los patógenos, son reconocidos por receptores tipo toll que corresponden a proteínas transmembrana que presentan dos dominios, un dominio exterior que se une a PAMP (patrones moleculares asociados a patógenos) y un dominio interior que inicia las vías o cascadas de señalización, induciendo diferentes respuestas biológicas. Cuando la proteína (S) de los CoV se une al receptor ACE 2 de la célula huésped y se fusiona con membrana celular, se forma una endosoma donde el virus ingresa junto con su RNA. Los PAMPs son reconocidos por receptores tipo toll presentes en endosomas como TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9. Este evento de reconocimiento lleva a la activación de varias vías de señalización y de factores de transcripción, como el factor nuclear kappa B (NF κ B), proteína activadora (AP-1), factor de regulador del interferón 3 (IRF3) y factor regulador del interferón 7 (IRF7) con su consecuente translocación nuclear. NF κ B y AP-1 estimulan la expresión de genes que codifican muchas de las proteínas necesarias para la inflamación, tales como, factor de necrosis tumoral (TNF), citoquinas (IL-1, IL-6 e IL-12) y quimioquinas (CCL2 y CXCL8). IRF3 e IRF7 promueven la producción de interferón tipo I (INF-a e INF-b) los que son importantes frente a las respuestas anti-virales, ya que, son capaces de suprimir la replicación y diseminación viral en etapas tempranas y, además, inducir una respuesta inmune adaptativa efectiva (75).

Otro mecanismo propuesto que desencadena la respuesta proinflamatoria al SARS-CoV-2 es el desequilibrio ACE/ACE2 en el sistema RAAS. Se ha especulado que cuando ACE2 es ocupado por el virus, sus efectos en la limitación de la cantidad y la actividad en Ang-II se reduce; Ang-II se incrementa en consecuencia induciendo un efecto proinflamatorio a través del receptor AT1R. El sistema Ang-II/AT1R activa a la ADAM 17, que conducen a la producción intracelular de ligandos del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y la producción de TNF α , con la posterior estimulación del factor de transcripción NF-KB, un actor fundamental en la liberación de citoquinas proinflamatorias. Además, la activación de ADAM 17 induce la producción de la forma soluble de IL-6R α , activa en la vía IL-6-STAT3, que a su vez amplifica la señalización de NF-KB. La convergencia en la hiperactivación del NF-KB parece ser crucial en la inducción de la tormenta de citoquinas. El mecanismo es de autoalimentación, dado que el NF-KB induce la expresión del gen angiotensinógeno, amplificando la respuesta inflamatoria Ang-II (76). Se demostró que la unión de SARS-CoV-2 a ACE 2 induce el desprendimiento de ACE 2 como una forma soluble. Además, la endocitosis de la proteína ACE 2 ocurre después de unirse al SARS-CoV-2, lo que disminuye aún más la actividad de este receptor. La glicoproteína S del SARS-CoV-2 aumenta la expresión de Ang II y la regulación negativa de ACE 2, con la lesión pulmonar resultante, aunque el bloqueo del AT1R regula al alza la ACE 2 a través de un mecanismo de retroalimentación negativa y sirve como mecanismo de protección pulmonar a través de la mayor conversión de Ang II a Ang- (1-7), amortiguando efectivamente la lesión pulmonar del virus. Estos hallazgos han llevado a los investigadores a postular que la vía ACE -2 / Ang- (1-7) puede servir como un objetivo terapéutico para combatir los efectos patológicos de Ang II (77).

En cuanto a la respuesta inmune humoral, este juega un importante papel protector en las fases posteriores a la infección, especialmente con la producción de anticuerpos, evitando así una reinfección futura por el virus. La respuesta inmune mediada por linfocitos T es esencial en la inmunidad adaptativa frente a las infecciones virales. El microambiente de citoquinas generado por las células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas, dicta la dirección del tipo de respuesta de los linfocitos T. Los tipos de respuestas generadas

por los linfocitos T son: Linfocitos T helper (CD4+), que organizan la respuesta adaptativa activando a los linfocitos B en la producción de anticuerpos y linfocitos T citotóxicos (CD8+) que son esenciales para matar a las células infectadas por el virus. En el caso de la epidemia de SARS-CoV del año 2002, los epítomos o determinantes antigénicos para los linfocitos T y B se establecieron para las proteínas estructurales del virus, es decir, las proteínas (S), (N), (M) y (E). Aunque aún es muy limitado el conocimiento sobre respuesta humoral en SARS-CoV-2, la evidencia muestra que las respuestas específicas de los linfocitos T son importantes para el reconocimiento de SARS-CoV-2 y a su vez, en la destrucción de las células infectadas, particularmente, en los pulmones de los individuos infectados. Los resultados de un estudio con 128 casos mostraron que el número y función de los linfocitos T citotóxicos (CD8+) fueron mayores que las respuestas de los linfocitos T helper (CD4+). Respecto a los anticuerpos producidos por los linfocitos B, la inmunoglobulina M (IgM) se produce cuando la infección es más incipiente, mientras que, la inmunoglobulina G (IgG) se produce en etapas más tardías. Se han reportado limitados detalles serológicos de los anticuerpos frente a la infección por SARS-CoV-2. Sin embargo, en un estudio preliminar, se mostró, que después del inicio de la enfermedad, se obtuvo un peak para IgM al 9no día, mientras que, para IgG se obtuvo un peak en la 2da semana. Además, se ha reportado que SARSCoV-2 induce producción de IgG contra la proteína (N), la que puede ser detectada en el suero a los 14 días después del inicio de la enfermedad (75).

3.2 Infección en niños

Se ha descrito también que los niveles de ACE-2 disminuyen en la vejez y las comorbilidades como la hipertensión y la diabetes, lo que posiblemente explique una peor lesión pulmonar y el pronóstico del SARS-CoV-2 en ellos. En un ensayo clínico de fase 2 de infusión recombinante de ACE-2 en adultos con síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), hubo una disminución significativa de los niveles de angiotensina-2 y un aumento de los niveles de Ang-(1-7). Los altos niveles de actividad de ACE-2 en niños podrían ser protectores en niños con COVID-19, lo que llevaría a una enfermedad menos grave en este grupo de edad en comparación con los ancianos. La hipótesis del posible efecto beneficioso de la ACE2 en la lesión pulmonar por COVID-19 se complica por el hecho de que la ACE2 también es un receptor primario para el SARS-CoV-2 en los pulmones (78).

No obstante, considerando la ACE2 como la puerta principal de la infección, la primera hipótesis de la susceptibilidad disminuida de los niños al SARS-CoV-2 sugiere una configuración, concentración o capacidad de unión de la ACE2 diferente o una respuesta de las células epiteliales alveolares. Bunyavanich y colaboradores sugirieron que la expresión ACE 2 en el epitelio nasal cohorte no refleja la expresión ACE 2 en el epitelio pulmonar, y la expresión de ACE 2 en las vías respiratorias inferiores está bajo una regulación diferente. Esto enfatiza la importancia de entender la distribución de ACE 2 en células del epitelio respiratorio, pero también entre las fracciones celulares y plasmáticas. (79).

Narjes y colaboradores a su vez determinaron que los niveles de expresión de ACE 2 y TMPRSS2 fueron significativamente más bajos en tejido epitelial nasal y bronquial de los niños en comparación con los de los adultos, al evaluar los niveles de expresión génica del tejido de las vías respiratorias de los receptores SARS-CoV-2, ACE 2 y TMPRSS2, utilizando conjuntos de datos transcriptómicos disponibles públicamente del tejido nasal y pulmonar de las vías respiratorias, así como sangre y saliva. De hecho, mediante el análisis

de 7.375 contactos, Zhang y col. (80) encontraron que los niños son menos susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 que los adultos. Por lo tanto, la reducción de la expresión del tejido de las vías respiratorias de ACE 2 y TMPRSS2 notificada puede contribuir al menor riesgo de infección y la reducción de la gravedad de la enfermedad observada en la población más joven (81).

Finalmente, Yixuan y colaboradores (82) para poder probar la relación entre la expresión del receptor ACE 2 y la infección por SARS-CoV-2, inocularon con el virus cultivos epiteliales de células epiteliales nasales humanas, bronquios y células epiteliales de las vías respiratorias bajas, glándulas submucosas, neumocitos tipo I y II, células endoteliales microvasculares y fibroblasto, demostrando que la cavidad nasal es el sitio inicial que media la siembra del virus en el pulmón. Se conoce que la ruta principal de transmisión es a través de gotas respiratorias (>5 micrómetros), que se generan cuando una persona infectada tose, estornuda o habla. SARS-CoV-2 ha sido detectado por PCR y se ha encontrado que los niños arrojan altas cargas virales en las secreciones respiratorias. Existiendo datos actuales que sugieren que los niños pueden tener más afectación de las vías respiratorias superiores a las inferiores (incluido el transporte nasofaríngeo), lo que sugiere que podrían desempeñar un papel importante en la transmisión. Aunque las limitaciones en la disponibilidad de pruebas en muchos países durante la pandemia han dificultado cuantificar con precisión la verdadera carga de infección en los niños. En muchas zonas con grandes epidemias, las pruebas se han limitado a pacientes hospitalizados sintomáticos o en estado crítico, lo que ha dado lugar a un sub-reconocimiento de casos en niños que tienen más probabilidades de tener una infección leve o asintomática y, por lo tanto, no buscan pruebas ni requieren atención médica. Sin embargo, se ha determinado que los pacientes pediátricos han comprendido aproximadamente el 1-2% de todos los casos notificados en una variedad de países que experimentan transmisión comunitaria generalizada. Las tasas han sido tan altas como 5-13% en países y regiones con pruebas más extensas. La mayoría de los niños presentan enfermedades asintomáticas o de leve a moderada. Sin embargo, se han notificado muertes pediátricas son raras en todo el mundo y, al igual que en los adultos, el riesgo de enfermedad

grave y muerte puede ser mayor en aquellos con comorbilidades subyacentes como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y las enfermedades pulmonares (83).

Aunque las razones de la relativa resistencia de los niños a algunas enfermedades infecciosas siguen siendo desconocidas, se postula los posibles factores que protegen a los niños contra la infección por SARS-CoV-19 (Tabla 4).

Tabla 4. Hipótesis que explicarían por qué los niños son menos susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 . *Elaboración propia. Ana Reyes, 2021.*

Hipótesis	Referencia
Una menor expresión de ACE 2 en el epitelio nasal en niños en comparación con los adultos.	Bunyavanish, S. 2020(84).
Bajas tasas de pruebas en niños, o si los niños son menos susceptibles a la infección.	Bi, Q. 2020 (85).
Los niños también están inoculados con vacunas antivirales debido a los programas nacionales de inmunización. Como resultado, hay múltiples anticuerpos de alto valor en la sangre de los niños, que pueden ofrecer protección cruzada contra la infección progresiva SARS-CoV-2.	Zimmermann P. 2020 (86).
Los niños presentan una menor prevalencia de aumento de la proteína C reactiva, lo que significa una respuesta inmunológica más suave y menos daño inmunológico.	Ludvigsson, JF. 2020 (87).
ACE puede traspasar la placenta, permitiendo a la madre transferir al bebé su inmunidad y otros tipos de factores solubles protectores	Grandhanfar, E. 2017 (88).
Movimiento limitado en el tiempo, con baja exposición de los niños con las personas infectadas, las que los hogares se encuentran aisladas.	Jing, QL 2020 (89). Luo, L 2020 (90).

4. IMPLICACIONES DEL CONSUMO DE FÁRMACOS QUE ACTÚAN SOBRE EL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

4.1 Uso de IECA/ARAII y su posible implicancia con el COVID- 19

En relación a los pacientes con hipertensión se conoce que ACE 2 se sobre expresa, en aquellos que han sido tratados con inhibidores de enzima convertidora de la angiotensina (IECA) y bloqueadores del receptor angiotensina II tipo-1 (ARA II) (91). Esta condición puede generar en los pacientes con COVID-19 un curso clínico severo, lo que ha generado especulación, pues no está totalmente comprendida la asociación entre la sobreexpresión de enzima convertidora de la angiotensina 2 y el riesgo de infección con SARS-CoV-2 o la severidad de COVID-19 (92).

A pesar de la teoría fisiopatológica que fundamenta la relación entre la ACE 2 y el SARS-Cov-2, hasta la fecha no existen estudios que relacionen de forma estadísticamente significativa el consumo de IECA o ARA con un curso evolutivo desfavorable de COVID-19. Sin embargo, sí se ha evidenciado la relación entre la hipertensión arterial (HTA) como patología de base y las complicaciones en pacientes con COVID-19 (93). En una cohorte retrospectiva, llevada a cabo por Zhou y colaboradores (94) con 191 individuos que padecieron COVID-19 de Wuhan, China, la HTA se asoció de forma estadística significativa con el desenlace fatal pero este resultado no se repitió en el análisis multivariado, por lo cual podría estar influenciado por otras covariables. Otro estudio chino con 1099 pacientes arrojó que 23,7 % de los individuos que presentaron formas severas de la enfermedad tenían antecedente de HTA, mientras que en los que no desarrollaron cuadros graves la HTA estuvo presente en 13,4 %. La edad media también fue mayor en el subgrupo con evolución desfavorable (52 años vs. 45 años), así como el antecedente de DM (16,2 % vs. 5,7 %) y de Cardiopatía Isquémica (5,8 % vs. 1,8 %) (95).

Un estudio con 201 afectados por COVID-19, mostró asociación entre la HTA y el desarrollo del síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Otras variables como la diabetes mellitus (DM) y la edad mostraron asociación muy significativa con esta complicación (96). Otro análisis observacional en una cohorte de más de 12.500 pacientes a quienes se les realizó la prueba de COVID-19 en Nueva York, mostró que el tratamiento previo con medicamentos que actúan sobre el RAAS no se asoció con un mayor riesgo de resultados positivos para COVID-19 ni hubo un riesgo sustancialmente mayor de COVID-19 grave asociado con cualquiera de los medicamentos estudiados entre los pacientes con una prueba positiva en dicha cohorte (97).

Si bien el mecanismo patogénico subyacente que une la hipertensión y la gravedad de la infección por COVID-19 aún no se ha dilucidado, se ha planteado la hipótesis de que la activación excesiva del RAAS podría contribuir a la progresión de la lesión pulmonar, al promover la respuesta inflamatoria y la tormenta de citoquinas, estimular el sistema de oxidasa NADH/NADPH y desencadenar vasoconstricción (77). Estudios recientes concuerdan con las recomendaciones de las sociedades científicas que plantean evitar la suspensión o cambio de medicación antihipertensiva, pues no hay evidencia que muestre que estos puedan ser tomados como factores de riesgo para gravedad o mortalidad por COVID-19. Si bien las tasas de mortalidad más altas entre los pacientes con enfermedad cardiovascular también se asocian con otras enfermedades respiratorias (especialmente la gripe inducida por el virus de la influenza o las epidemias anteriores de SARS), se planteó la pregunta de si las personas tratadas por enfermedades relacionadas con el corazón son más propensas al SARS-CoV-2 infección viral, basada en la primera evidencia epidemiológica, pero particularmente basada en la presunta regulación positiva del receptor de entrada del SARS-CoV-2 (98).

Se ha especulado adicionalmente que los inhibidores de la ECA y los ARA II también pueden aumentar el riesgo de infección por SARS-CoV-2 y COVID-19. Al igual que el SARS-CoV original descrito en 2003, los datos sugieren que el SARS-CoV-2 se une a la ACE 2 para lograr la entrada a las células huésped en el epitelio del tracto respiratorio. Como estudios seleccionados en animales han demostrado un aumento de la expresión de ACE 2 con la administración de IECA o ARAII, se ha propuesto un posible vínculo mecanicista entre la infección por SARS-CoV-2 y estos medicamentos (99).

Los IECA son medicamentos orales antihipertensivos vasodilatadores efectivos que previenen de forma competitiva, específica y reversible la conversión de Angiotensina I, a Angiotensina II (100). Esto genera que la inhibición de angiotensina II, no genere los efectos esperados por la interacción con los receptores AT1R (receptor de angiotensina II tipo I: vasoconstricción, retención de sodio y agua, activación simpática, crecimiento celular) y receptores AT2R (receptor de angiotensina 2 tipo II: vasodilatador, neurodegenerativo) (101).

Los IECA inhiben a la enzima de conversión quinasa II previniendo la degradación de bradiquinas, un péptido vasodilatador, por lo que se incrementan los niveles de este péptido, generando la síntesis de prostaglandinas (PGI-2, PGE-2), generando el efecto vasodilatador y antiproliferativos a nivel endotelial (100). Por tanto, los IECA actúan a través de un doble mecanismo: reduciendo los agentes represores y aumentando los vasodilatadores. Para poder comprender el efecto terapéutico de este medicamento en los pacientes con Covid-19 es impotente recordar que la supresión de la ACE 2 acontece como parte del proceso de internalización del receptor desde la superficie celular, lo cual disminuye tanto la presencia tisular de ACE 2 como la generación de Ang-(1-7). Por ende, esto incrementa los niveles de Ang II, y así mismo la Ang-(1-7) se convierte en sustrato disponible para la ACE convirtiéndolo en un péptido biológicamente menos activo. En consecuencia, la activación del eje ACE /Ang II desencadena una respuesta inflamatoria mediada por AT1R, e incrementa la severidad de la lesión pulmonar aguda, así como es posible exista un

incremento en la expresión y la actividad de ACE 2, en órganos como riñón y corazón, que finalmente incremente el riesgo de susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 en pacientes que utilizan regularmente IECA. O bien puede contribuir al incremento de Ang (1-7) por ECA2, y la activación de MasR (102) (Figura 19).

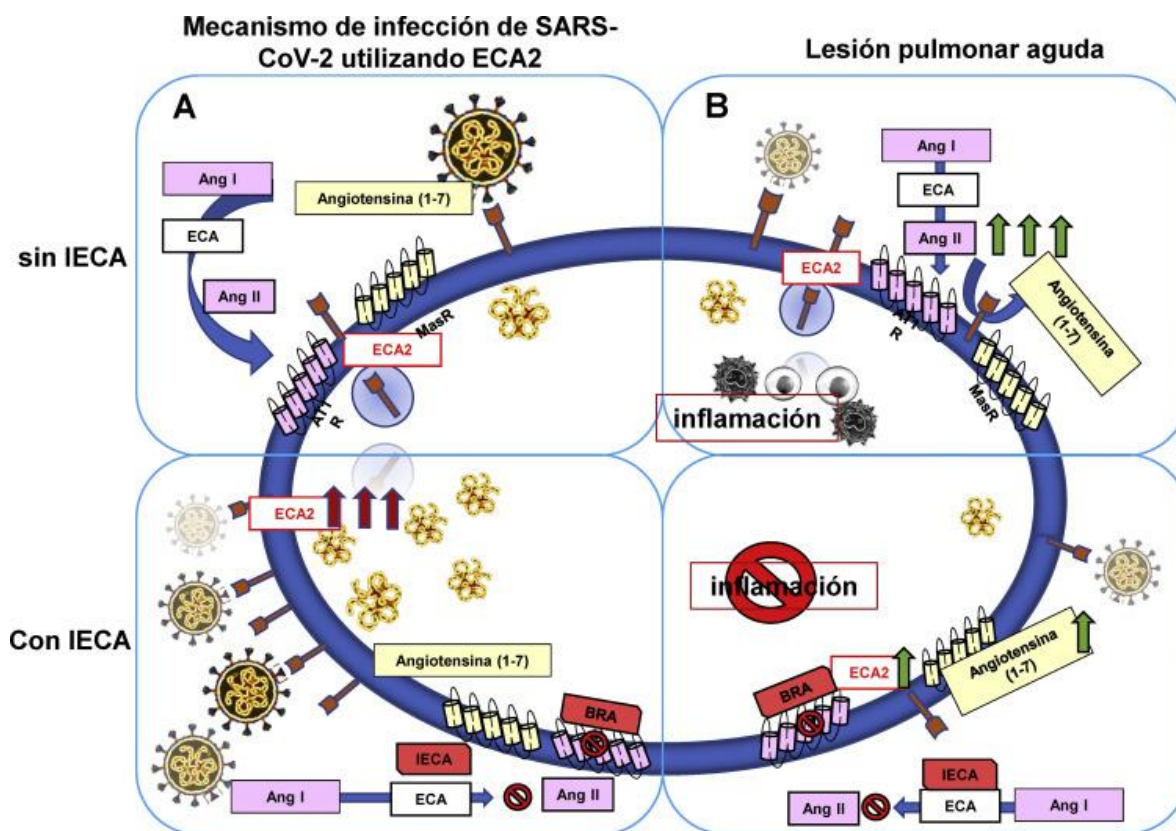


Figura 19. Uso terapéutico de los IECA en pacientes con COVID-19. Hipótesis (A): el uso de IECA en pacientes con COVID-19 aumenta la expresión del receptor ACE 2 en la superficie celular; por ende, incrementa la replicación y transmisión viral. Hipótesis (B): la activación de angiotensina II (Ang II) y del receptor de angiotensina II tipo1 (AT1R) promueve la severidad de la lesión pulmonar aguda y la inflamación, la cual disminuye al adicionar IECA/ARAII. Esto promueve la generación de angiotensina (1-7) [Ang (1-7)] por la ACE 2, lo cual finalmente disminuye la inflamación. *Tomado de Vallejo D y Col. 2020 (102)*

Aunque aún existe escasa información para aseverar que existe una relación directa entre la administración prolongada de estos fármacos y un aumento de la actividad y/o abundancia de la ACE 2. Ocaranza y colaboradores, describieron en un modelo preclínico de infarto agudo al miocardio que la administración de enalapril durante 8 semanas aumenta tanto la expresión como de la actividad de ACE 2. Posteriormente, Yan y col., desarrollaron un modelo experimental de hipertensión arterial y evaluaron el efecto de enalapril en el balance ACE / ACE 2, reportando que la administración por 4 semanas aumentaba sólo los niveles del mRNA de ACE 2, pero sin cambios en los niveles proteicos de la enzima (103). Es importante señalar que incluso si existiese una mayor expresión de ACE 2 en pacientes hipertensos, no significa necesariamente una mayor susceptibilidad a una infección viral. Según lo señalado por Ramírez A y col., un estudio del año 2005 realizado con el SARS-CoV en ratones muestra que la infección viral induce una disminución de la expresión de ACE 2 en tejidos pulmonares. Esto cobra relevancia pues la ACE 2 no solo se propone como un mediador en la interacción virus-célula, sino también en el desarrollo de la patología pulmonar. En ratones tratados con una glicoproteína espiga-Fc (conjugado con dominio Fc de inmunoglobulina) se observó no solo una disminución de la ACE 2 en tejidos pulmonares, sino que también el tratamiento con este conjugado proteico empeoraba la severidad de la insuficiencia pulmonar aguda (103).

Además, otros estudios han propuesto la hipótesis que entre los efectos de la IECA estaría la capacidad de reprogramar la respuesta inmune en el microambiente tumoral, disminuyendo la hipoxia y la acidosis tisular, regulando la cascada inflamatoria, la disminución del estrés oxidativo y posee efecto modulador de los linfocitos T (102) (Figura 20)

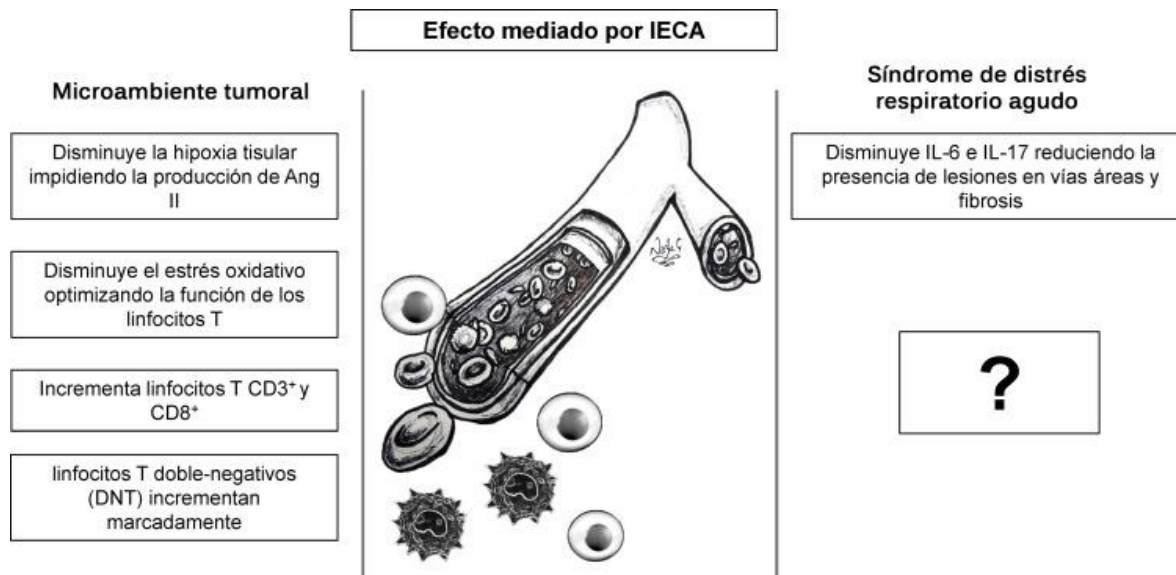


Figura 20. Efectos mediados por los IECA. Estudios sobre el efecto inmunomodulador de los IECA en la respuesta tumoral puede ser un punto de encuentro entre las inmunoterapias para cáncer y nuevas estrategias terapéuticas para COVID-19. *Tomado de Vallejo D y Col., 2020* (102)

Los IECA impiden que se induzca la cascada de factores transcripcionales, factores de crecimiento tumoral y citoquinas proinflamatorias, al impedir que se genere es estímulo inicial disminuyendo la hipoxia tisular e impidiendo la producción de Ang II. El estrés oxidativo, que impide el funcionamiento de linfocitos T, también es un efecto de la Ang II/AT1R, el cual puede ser contrarregulado selectivamente con ARAII (102), fármacos que interactúan con los aminoácidos del dominio transmembrana del receptor (AT1R y AT2R), previniendo la unión y efecto de la angiotensina II, al producir un bloqueo no competitivo o irreversible (104).

En relación con el impacto que puede causar su uso en pacientes que presentan infección por SARS-CoV-2, Gurwitz (105) y otros autores (106) sugieren que, la utilización de estos fármacos pudiera tener un efecto beneficioso en la evolución pulmonar de estos pacientes, sea bien por su capacidad de aumentar los niveles de ACE 2, lo que contrarresta la disminución de sus niveles debido a la infección, o bien impidiendo la acción de un posible exceso de angiotensina II, al bloquear los receptores AT1 (107) Finalmente, López- Otero y

colaboradores (108) evaluaron la implicancia clínica del tratamiento previo con IECA/ARAII en el pronóstico del COVID-19 entre el 10 de marzo y 6 de abril, a 965 pacientes diagnosticados con COVID-19 de los cuales 210 estaban con tratamiento con IECA o ARA-II en el momento del diagnóstico y, de ellos, 165 habían recibido esta medicación durante más de 1 año, concluyendo que el tratamiento previo con estos fármacos en pacientes con COVID-19 no tendría efecto sobre la mortalidad, la aparición de insuficiencia cardíaca, ni la necesidad de hospitalización ni ingreso en UCI.

CONCLUSIONES

El SARS-CoV-2 presenta mecanismos moleculares que les otorgan cierto nivel de patogenicidad e infectividad superior al SARS-CoV, al mejorar la afinidad de unión al mismo receptor ACE2. Debido a la presencia de interacciones más estables y con mayor energía que las que se encuentran en la interacción SARS-CoV con ACE2.

Aun no se ha obtenido información suficiente para asegurar que los niños presentan una menor tasa de infección por SARS-CoV-2 en comparación a los adultos. Debido a las limitaciones de realizar estudios experimentales o de intervención deliberada.

Los estudios analizados sugieren que el uso de medicamentos que actúen sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona, no tiene implicancia en la fisiopatología del COVID-19 sino que más bien generarían una protección frente a la respuesta inflamatoria agresiva.

REFERENCIAS

1. Peiris JSM, Yuen KY, Osterhaus ADME, Stöhr K. The Severe Acute Respiratory Syndrome. Vol. 349, *New England Journal of Medicine*. 2003. p. 2431–41.
2. (No Title) [Internet]. [cited 2021 Mar 31]. Available from: https://www.who.int/csr/sars/country/country2003_08_15.pdf
3. 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 Dec 1;12(1).
4. South AM, Brady TM, Flynn JT. ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2), COVID-19, and ACE Inhibitor and Ang II (Angiotensin II) Receptor Blocker Use during the Pandemic: The Pediatric Perspective. *Hypertension*. 2020;76(1):16–22.
5. Alvarado Amador I, Bandera Anzaldo J, Elena Carreto Binaghi L, Fernando Pavón Romero G, Alejandro García A. *Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica* www.medigraphic.org.mx Etiología y fisiopatología del SARS-CoV-2 Etiology and pathophysiology of SARS-CoV-2.
6. Brooks, Geo; Morse, Stephen; Carroll, Karen; Mietzner, Timothy; Butel J. *Microbiología Médica*. 26th Edici. McGraw-Hill; 2012. 880 p.
7. Hamre D, Procknow JJ. A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. *Exp Biol Med*. 1966 Jan 1;121(1):190–3.
8. Almeida JD, Tyrrell DA. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J Gen Virol*. 1967 Apr 1;1(2):175–8.
9. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. In: *Coronaviruses: Methods and Protocols*. Springer New York; 2015. p. 1–23.
10. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. Vol. 24, *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd; 2016. p. 490–502.
11. Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci*. 2020;16(10):1686–97.
12. Salata C, Calistri A, Parolin C, Palù G. Coronaviruses: a paradigm of new emerging zoonotic diseases. *Pathog Dis*. 2019 Dec 1;77(9):6.
13. Peiris JSM, Yuen KY, Osterhaus ADME, Stöhr K. The Severe Acute Respiratory Syndrome. <https://doi.org/10.1056/NEJMra032498>. 2009 Oct 7;349(25):2431–41.
14. Woo PCY, Lau SKP, Yip CCY, Huang Y, Tsoi H-W, Chan K-H, et al. Comparative Analysis of 22 Coronavirus HKU1 Genomes Reveals a Novel Genotype and Evidence of Natural Recombination in Coronavirus HKU1. *J Virol*. 2006 Jul 15;80(14):7136–45.
15. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: Update on replication and pathogenesis. Vol. 7, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group; 2009. p. 439–50.
16. Godeke G-J, de Haan CAM, Rossen JWA, Vennema H, Rottier PJM. Assembly of Spikes into Coronavirus Particles Is Mediated by the Carboxy-Terminal Domain of the Spike Protein. *J Virol*. 2000 Feb;74(3):1566–71.

17. Beniac DR, Andonov A, Grudeski E, Booth TF. Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nat Struct Mol Biol* 2006 138. 2006 Jul 16;13(8):751–2.
18. Sugiyama K, Amano Y. Morphological and biological properties of a new coronavirus associated with diarrhea in infant mice. *Arch Virol*. 1981 Sep;67(3):241.
19. Chan JFW, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KKW, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Jan 1;9(1):221–36.
20. Lukassen S, Chua RL, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley T, et al. SARS - CoV-2 receptor ACE 2 and TMPRSS 2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells . *EMBO J*. 2020 May 18;39(10).
21. 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 Feb 22;395(10224):565–74.
22. Gorbalenya AE, Enjuanes L, Ziebuhr J, Snijder EJ. Nidovirales: Evolving the largest RNA virus genome. *Virus Res*. 2006 Apr 1;117(1):17–37.
23. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*. 2020 May 14;181(4):914-921.e10.
24. Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *bioRxiv*. 2020 Mar 15;2020.03.12.988865.
25. Parks JM, Smith JC. How to Discover Antiviral Drugs Quickly. <https://doi.org/10.1056/NEJMcibr2007042>. 2020 May 20;382(23):2261–4.
26. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol* 2020 54. 2020 Feb 24;5(4):562–9.
27. Guzzi PH, Mercatelli D, Ceraolo C, Giorgi FM. Master Regulator Analysis of the SARS-CoV-2/Human Interactome. *J Clin Med*. 2020 Apr 1;9(4):982.
28. Bevacqua RJ, Perrone S V. COVID-19: relación entre enzima convertidora de angiotensina 2, sistema cardiovascular y respuesta inmune del huésped. *Insuf Card*. 2020;15(2):34–51.
29. Soler MJ, Lloveras J, Batlle D. Enzima conversiva de la angiotensina 2 y su papel emergente en la regulación del sistema renina-angiotensina. Vol. 131, *Medicina Clinica*. Ediciones Doyma, S.L.; 2008. p. 230–6.
30. Cano F, Gajardo M, Freundlich M. Renin angiotensin axis, angiotensin converting enzyme 2 and coronavirus. *Rev Chil Pediatr*. 2020 May 1;91(3):330–8.
31. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong JC, Turner AJ, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. Vol. 126, *Circulation Research*. Lippincott Williams and Wilkins; 2020. p. 1456–74.
32. Burrell LM, Johnston CI, Tikellis C, Cooper ME. ACE2, a new regulator of the renin-angiotensin system. Vol. 15, *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier; 2004. p. 166–9.
33. Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme: Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem*. 2000 Oct 27;275(43):33238–43.
34. Leow MKS. Clarifying the controversial risk-benefit profile of soluble ACE2 in COVID-19. Vol. 24, *Critical Care*. BioMed Central; 2020. p. 1–2.

35. Choi M, Aiello E, Ennis I, Villa-Abrille M. El SRAA y el SARS-CoV-2: el acertijo a resolver. 2020;
36. Zipeto D, Palmeira J da F, Argañaraz GA, Argañaraz ER. ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19. *Front Immunol.* 2020 Oct 7;0:2642.
37. Battle D, Wysocki J, Satchell K. Soluble angiotensin-converting enzyme 2: A potential approach for coronavirus infection therapy? *Clin Sci.* 2020 Mar 1;134(5):543–5.
38. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res.* 2000 Sep 1;87(5).
39. Towler P, Staker B, Prasad SG, Menon S, Tang J, Parsons T, et al. ACE2 X-Ray Structures Reveal a Large Hinge-bending Motion Important for Inhibitor Binding and Catalysis. *J Biol Chem.* 2004 Apr 23;279(17):17996–8007.
40. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* (80-). 2020 Mar 27;367(6485):1444–8.
41. 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 May 28;181(5):1016-1035.e19.
42. Guy JL, Jackson RM, Acharya KR, Sturrock ED, Hooper NM, Turner AJ. Angiotensin-Converting Enzyme-2 (ACE2): Comparative Modeling of the Active Site, Specificity Requirements, and Chloride Dependence. *Biochemistry.* 2003 Nov 18;42(45):13185–92.
43. Kirchdoerfer RN, Wang N, Pallesen J, Wrapp D, Turner HL, Cottrell CA, et al. Stabilized coronavirus spikes are resistant to conformational changes induced by receptor recognition or proteolysis. *Sci Reports* 2018 81. 2018 Oct 24;8(1):1–11.
44. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. Vol. 10, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* Frontiers Media S.A.; 2020. p. 724.
45. Santos-Sánchez NF, Salas-Coronado R. Origen, características estructurales, medidas de prevención, diagnóstico y fármacos potenciales para prevenir y controlar COVID-19. *Medwave.* 2020 Sep 25;20(8):e8037.
46. Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng BJ, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV - A target for vaccine and therapeutic development. Vol. 7, *Nature Reviews Microbiology.* Nature Publishing Group; 2009. p. 226–36.
47. Gur M, Taka E, Yilmaz SZ, Kilinc C, Aktas U, Golcuk M. Conformational transition of SARS-CoV-2 spike glycoprotein between its closed and open states. *J Chem Phys.* 2020;153(7):1–19.
48. Mendes SC, Oliveira JV de, Ferrari AC, Gois KC de, Nicolau LD, Oliveira MP de, et al. COVID-19: viral characterization, pathophysiology and prevention. Vol. 9, *Research, Society and Development.* 2020. e750997768 p.
49. Huang Y, Yang C, Xu X, Xu W, Liu S. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol Sin* 2020 419. 2020 Aug 3;41(9):1141–9.
50. Ismail AM, Elfiky AA. SARS-CoV-2 spike behavior in situ: a Cryo-EM images for a

- better understanding of the COVID-19 pandemic. *Signal Transduct Target Ther.* 2020 Dec 1;5(1).
51. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell.* 2020 Apr 16;181(2):281-292.e6.
 52. Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. Vol. 76, *European Journal of Internal Medicine.* Elsevier B.V.; 2020. p. 14–20.
 53. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J Virol.* 2020 Jan 29;94(7):127–47.
 54. Yeager CL, Ashmun RA, Williams RK, Cardellicchio CB, Shapiro LH, Look AT, et al. Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229E. *Nature.* 1992;357(6377):420–2.
 55. Hofmann H, Pyrc K, Van Der Hoek L, Geier M, Berkhout B, Pöhlmann S. Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 May 31;102(22):7988–93.
 56. Delmas B, Gelfi J, L’Haridon R, Vogel LK, Sjöström H, Norén O, et al. Aminopeptidase N is a major receptor for the enteropathogenic coronavirus TGEV. *Nature.* 1992;357(6377):417–20.
 57. Li BX, Ge JW, Li YJ. Porcine aminopeptidase N is a functional receptor for the PEDV coronavirus. *Virology.* 2007 Aug 15;365(1):166–72.
 58. Tresnan DB, Levis R, Holmes K V. Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I. *J Virol.* 1996;70(12):8669–74.
 59. Benbacer L, Kut E, Besnardeau L, Laude H, Delmas B. Interspecies aminopeptidase-N chimeras reveal species-specific receptor recognition by canine coronavirus, feline infectious peritonitis virus, and transmissible gastroenteritis virus. *J Virol.* 1997;71(1):734–7.
 60. Nédellec P, Dveksler GS, Daniels E, Turbide C, Chow B, Basile AA, et al. Bgp2, a new member of the carcinoembryonic antigen-related gene family, encodes an alternative receptor for mouse hepatitis viruses. *J Virol.* 1994;68(7):4525–37.
 61. Williams RK, Jiang GS, Holmes K V. Receptor for mouse hepatitis virus is a member of the carcinoembryonic antigen family of glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(13):5533–6.
 62. Schultze B, Herrler G. Bovine coronavirus uses N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid as a receptor determinant to initiate the infection of cultured cells. *J Gen Virol.* 1992;73(4):901–6.
 63. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature.* 2003 Nov 27;426(6965):450–4.
 64. Züst R, Cervantes-Barragán L, Kuri T, Blakqori G, Weber F, Ludewig B, et al. Coronavirus non-structural protein 1 is a major pathogenicity factor: Implications for the rational design of coronavirus vaccines. *PLoS Pathog.* 2007 Aug;3(8):1062–72.
 65. Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC. Structural biology: Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science (80-).* 2005 Sep 16;309(5742):1864–8.

66. Wu K, Peng G, Wilken M, Geraghty RJ, Li F. Mechanisms of host receptor adaptation by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Biol Chem.* 2012 Mar 16;287(12):8904–11.
67. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nat* 2020 5817807. 2020 Mar 30;581(7807):215–20.
68. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Crystal structure of the 2019-nCoV spike receptor-binding domain bound with the ACE2 receptor 2 3.
69. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature.* 2020 May 14;581(7807):221–4.
70. Xia S, Liu M, Wang C, Xu W, Lan Q, Feng S, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.* 2020 Apr 1;30(4):343–55.
71. Jiang S, Du L, Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Jan 1;9(1):275–7.
72. Sasisekharan R. Preparing for the Future — Nanobodies for Covid-19? <https://doi.org/101056/NEJMcibr2101205>. 2021 Apr 7;384(16):1568–71.
73. Medina-Enríquez MM, Lopez-León S, Carlos-Escalante JA, Aponte-Torres Z, Cuapio A, Wegman-Ostrosky T. ACE2: the molecular doorway to SARS-CoV-2. *Cell Biosci* 2020 101. 2020 Dec 30;10(1):1–17.
74. Zheng M, Williams EP, Malireddi RKS, Karki R, Banoth B, Burton A, et al. Impaired NLRP3 inflammasome activation/pyroptosis leads to robust inflammatory cell death via caspase-8/RIPK3 during coronavirus infection. *J Biol Chem.* 2020 Oct 9;295(41):14040.
75. Pastian-Soto G. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int J Odontostomatol.* 2020 Sep;14(3):331–7.
76. Saponaro F, Rutigliano G, Sestito S, Bandini L, Storti B, Bizzarri R, et al. ACE2 in the Era of SARS-CoV-2: Controversies and Novel Perspectives. *Front Mol Biosci.* 2020 Sep 30;0:271.
77. Molina DI, Muñoz TM, Guevara K. Angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blocker: do they increase the risk of COVID-19? *Rev Colomb Cardiol.* 2020 May 1;27(3):132–6.
78. Dhochak N, Singhal T, Kabra SK, Lodha R. Pathophysiology of COVID-19: Why Children Fare Better than Adults? *Indian J Pediatr.* 2020 Jul 1;87(7):1.
79. Patel AB, Verma A. Nasal ACE2 Levels and COVID-19 in Children. Vol. 323, *JAMA - Journal of the American Medical Association.* American Medical Association; 2020. p. 2386–7.
80. Zhang J, Litvinova M, Liang Y, Wang Y, Wang W, Zhao S, et al. Changes in contact patterns shape the dynamics of the COVID-19 outbreak in China. *Science (80-).* 2020 Jun 26;368(6498):1481–6.
81. Saheb Sharif-Askari N, Saheb Sharif-Askari F, Alabed M, Temsah MH, Al Heialy S, Hamid Q, et al. Airways Expression of SARS-CoV-2 Receptor, ACE2, and TMPRSS2 Is Lower in Children Than Adults and Increases with Smoking and COPD. *Mol Ther - Methods Clin Dev.* 2020 Sep 11;18:1–6.

82. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon KH, et al. SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell*. 2020 Jul 23;182(2):429-446.e14.
83. Rajapakse N, Dixit D. Human and novel coronavirus infections in children: a review. Vol. 41, *Paediatrics and International Child Health*. Taylor and Francis Ltd.; 2021. p. 36–55.
84. Bunyavanich S, Do A, Vicencio A. Nasal Gene Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Children and Adults. Vol. 323, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2020. p. 2427–9.
85. Bi Q, Wu Y, Mei S, Ye C, Zou X, Zhang Z, et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020 Aug 1;20(8):911–9.
86. Zimmermann P, Curtis N. Coronavirus infections in children including COVID-19: An overview of the epidemiology, clinical features, diagnosis, treatment and prevention options in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*. Lippincott Williams and Wilkins; 2020. p. 355–68.
87. Ludvigsson JF. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. Vol. 109, *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 1088–95.
88. Ghadhanfar E, Alsalem A, Al-Kandari S, Naser J, Babiker F, Al-Bader M. The role of ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas1 receptor axis in glucocorticoid-induced intrauterine growth restriction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017 Dec 29;15(1).
89. Jing Q-L, Liu M-J, Yuan J, Zhang Z-B, Zhang A-R, Dean N, et al. Household Secondary Attack Rate of COVID-19 and Associated Determinants. *medRxiv Prepr Serv Heal Sci*. 2020 Apr 15;2020.04.11.20056010.
90. Luo L, Liu D, Liao X, Wu X, Jing Q, Zheng J, et al. Modes of contact and risk of transmission in COVID-19 among close contacts. *medRxiv*. 2020 Mar 26;2020.03.24.20042606.
91. Fang L, Karakiulakis G, Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *Lancet Respir Med*. 2020 Apr 1;8(4):e21.
92. Brown JD. Antihypertensive drugs and risk of COVID-19? *Lancet Respir Med*. 2020 May 1;8(5):e28.
93. Zhou P, Yang X Lou, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar 12;579(7798):270–3.
94. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054–62.
95. Eastin C, Eastin T. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *J Emerg Med*. 2020 Apr;58(4):711–2.
96. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020 Jul 1;180(7):934–43.
97. Reynolds HR, Adhikari S, Pulgarin C, Troxel AB, Iturrate E, Johnson SB, et al. Renin–Angiotensin–Aldosterone System Inhibitors and Risk of Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Jun 18;382(25):2441–8.
98. Groß S, Jahn C, Cushman S, Bär C, Thum T. SARS-CoV-2 receptor ACE2-dependent

- implications on the cardiovascular system: From basic science to clinical implications. *J Mol Cell Cardiol.* 2020 Jul 1;144:47–53.
99. South AM, Brady TM, Flynn JT. ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2), COVID-19, and ACE Inhibitor and Ang II (Angiotensin II) Receptor Blocker Use during the Pandemic: The Pediatric Perspective. Vol. 76, *Hypertension*. Lippincott Williams and Wilkins; 2020. p. 16–22.
 100. Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina [Internet]. [cited 2021 May 28]. Available from: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cardiologia/v23_n3/enzima_convert.htm
 101. D'ardes D, Boccatonda A, Rossi I, Guagnano MT, Santilli F, Cipollone F, et al. COVID-19 and RAS: Unravelling an unclear relationship. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020.
 102. Vallejo Ardila DL, Tamayo Cáceres YR, Munive AA. Therapeutic use of angiotensin converting enzyme inhibitors in patients with COVID-19: the “two sides of the coin.” *Rev Colomb Cardiol.* 2020 Jul 1;27(4):212–22.
 103. Zipeto D, Palmeira J da F, Argañaraz GA, Argañaraz ER. ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19. Vol. 11, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2020. p. 2642.
 104. Orlando M, Cadena J, Bernardet DR, Portillo B. LOS ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE LA ANGIOTENSINA II A LA LUZ DE LOS ESTUDIOS DE MAYOR IMPACTO. Vol. 15, *Rev Med La Paz*. 2009.
 105. Gurwitz D. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. Vol. 81, *Drug Development Research*. Wiley-Liss Inc.; 2020. p. 537–40.
 106. Meili S, Jianmin Y, Yuping S, Guohai S. Inhibitors of RAS Might Be a Good Choice for the Therapy of COVID-19 Pneumonia. *Chinese J Tuberc Respir Dis.* 2020 Feb 16;43(00):E014–E014.
 107. Lamas-Barreiro JM, Alonso-Suárez M, Fernández-Martín JJ, Saavedra-Alonso JA. Supresión de angiotensina II en la infección por el virus SARS-CoV-2: una propuesta terapéutica. *Nefrología.* 2020 May;40(3):213–6.
 108. López-Otero D, López-Pais J, Cacho-Antonio CE, Antúnez-Muiños PJ, González-Ferrero T, Pérez-Poza M, et al. Impact of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers on COVID-19 in a western population. *CARDIOVID registry. Rev Esp Cardiol.* 2021 Feb 1;74(2):175–82.