

Citoquinas pro y anti-inflamatorias en la infección por SARS-CoV-2, en población de Colombia

Lucy Gabriela Delgado-Murcia^{1,*}, Carlos Álvarez-Moreno², Diana Granados-Falla³

Resumen

La infección por SARS-CoV-2 es hoy el principal problema de salud pública en el mundo. No es claro el papel de las citoquinas en la fisiopatología del COVID-19, que en algunos individuos presenta una progresión rápida, severa y mortal asociada con proinflamación sistémica relacionada con coagulopatías y fallas multiorgánicas. En este estudio, evaluamos los niveles séricos de citoquinas y su correlación con IgM, IgG e IgA, en 24 muestras de individuos positivos y 8 muestras de individuos negativos, para SARS-CoV-2. Hallamos concentraciones significativamente menores de IFN- γ , TNF, IL-2 e IL-4 y un aumento significativo de IL-6 en el grupo de infectados hospitalizados respecto a los no infectados, así como una tendencia significativa al aumento, para IgG e IgA en el mismo grupo de individuos, respecto a infectados asintomáticos. Nuestros datos soportan el papel de la IL-6 en la severidad de la enfermedad destacando su potencial papel como biomarcador en la prognosis de esta patología. También, soportan la hipótesis sobre la función de los anticuerpos en el control efectivo del patógeno; se observa una respuesta inmune humoral más débil, frente a la proteína de la nucleocápside viral, en individuos con un mejor curso de la enfermedad.

Palabras clave: Coronavirus, COVID-19, SARS-CoV-2, citoquinas, inflamación, respuesta inmune, manifestaciones clínicas, Interleuquina-6 (IL-6).

Pro- and anti-inflammatory cytokines associated to SARS-COV-2 infection in the Colombian population

Abstract

The emergency caused by the infection in humans of SARS-COV-2 and the clinical syndrome resulting from the infection (COVID-19) is a major public health crisis with global repercussions. Currently, the role of different cytokine profiles in the infection pathophysiology and its outcome remains unclear despite the coordinated efforts of the scientific community. COVID-19 shows a rapid progression where the disease severity and mortality are linked to systemic pro-inflammatory processes associated to a dysregulation in the cytokine production balance, resulting in blood clotting disorders and multiorgan failure. Here we evaluate the serum concentration for a cytokine panel as well as the antibody titers of IgM, IgG and IgA from 24 individuals who tested positive for SARS-CoV-2 by RT-PCR (divided into three separate groups according to disease severity) and eight RT-PCR-negative controls. Significantly lower concentrations of IFN- γ , TNF, IL-2 and IL-4, and a higher production of IL-6 were observed in hospitalized COVID-19 patients when compared to SARS-CoV-2-negative individuals. Furthermore, a significant and sustained increase in the levels of IgG and IgA was found for the group of hospitalized patients compared to asymptomatic SARS-CoV-2-positive individuals. Our data support previous findings on the role of cytokines like IL-6 in the severity of the disease and highlight their potential use as biomarkers for the prognosis of COVID-19. Finally, we provide evidence supporting the potential function of the antibody response in the effective control of the virus, showing that a somehow weaker humoral immune response can be associated to milder forms of COVID-19.

Keywords: Coronavirus, COVID-19, SARS-CoV-2, cytokines, inflammation, immune response, clinical manifestations, Interleukin-6 (IL-6)

Introducción

Covid-19 es una enfermedad infecciosa resultado de la infección por el SARS-CoV-2, un coronavirus responsable del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-Cov-2 por sus siglas en inglés Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), reportada por primera vez en diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan en China¹ y rápidamente propagada a través del mundo, decretándose en marzo 11 del 2020 la declaración de pandemia por parte de la Organización Mundial de la Salud².

A 27 de Julio de 2020 el mundo registra oficialmente 16.296.635 casos y 649.662 muertes según el observatorio de información sobre la infección por SARS-CoV-2 de la Universidad Johns Hopkins, reportándose para Colombia 248.976 casos y 8.525 muertes asociadas a la enfermedad³.

Esta enfermedad puede cursar con un amplio espectro de manifestaciones clínicas, las cuales pueden ir desde malestar general, astenia, adinamia, fiebre, tos, mialgias, ofinofagia, cefalea, hasta neumonía, síndrome respiratorio severo agu-

1 Grupo de Investigación en Inmunotoxicología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Secretaría Distrital de Salud. <https://orcid.org/0000-0003-2947-7796>.

2 Clínica Universitaria Colombia, Clínica Colsanitas. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-5419-4494>.

3 Vicerrectoría de Investigaciones. Universidad El Bosque. Grupo de Investigación en Inmunotoxicología. <https://orcid.org/0000-0003-4630-3624>.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lgdelgadom@unal.edu.co

Recibido: 09/08/2020; Aceptado: 23/09/2020

Cómo citar este artículo: L.G. Delgado-Murcia, *et al.* Citoquinas pro y anti-inflamatorias en la infección por SARS-CoV-2, en población de Colombia. *Infectio* 2021; 25(2): 94-100
<http://dx.doi.org/10.22354/in.v25i2.926>

do y falla multiorgánica⁴. Igualmente se ha observado que un alto porcentaje de los individuos infectados pueden cursar la infección sin presentación de síntomas clínicos evidentes⁵.

El curso y desenlace de la enfermedad se ha asociado a una desregulación y excesiva respuesta inmune por parte del hospedero infectado⁶⁻⁸. Así las cosas, se ha evidenciado en pacientes infectados con SARS-CoV-2 una concentración fluctuante y dependiente de acuerdo a la condición de cada individuo de los niveles de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias como Interleuquina (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-17, IL-17, Factor de Necrosis Tumoral (TNF por sus siglas en inglés *Tumor Necrosis Factor*), Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos (G-CSF por sus siglas en inglés de Granulocyte Colony-Stimulating factor), Proteína Inducida por Interferón Gamma de 10 kDa (IP-10 o CXCL10 por sus siglas en inglés Interferón Gamma-Induced Protein 10), Proteína Quimioatrayente de Monocitos (MCP-1 por sus siglas en inglés (Monocyte Chemoattractant Protein) y Proteína Inflamatoria del Macrófago (MIP por sus siglas en inglés de macrophage inflammatory protein). Particularmente, se ha asociado de manera directamente proporcional un incremento en la producción de IL-6 con un empeoramiento de la condición de los pacientes^{4,9}.

Estudios *in vitro* demuestran un retardo en la fase temprana en la liberación de citoquinas y quimioquinas en células epiteliales, células dendríticas y macrófagos infectados con SARS-CoV, seguido de una baja secreción de Interferones (IFN) y una elevada producción de IL-1, IL-6, TNF y diversas quimioquinas⁸.

Hallazgos similares se han evidenciado en pacientes con el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS por sus siglas en inglés de Middle East respiratory syndrome), infección ocasionada por el coronavirus MERS-CoV⁹. Se ha identificado patrones diferentes en los niveles serológicos de citoquinas en individuos infectados con cuadros severos de la enfermedad al compararse con aquellos que presentaron manifestaciones leves o moderadas⁹. Choe y cols en 2016 evidenciaron niveles de IL-6 e IP-10 aumentados de manera significativa en individuos con infección severa de la enfermedad, mientras no se observaron niveles detectables de IFN- α ¹⁰.

Las evidencias a la fecha recolectadas soportan la hipótesis de complicaciones generadas por la tormenta de citoquinas, la cual se asocia como el factor desencadenante de la presentación del Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (ARDS por sus siglas en inglés de Acute Respiratory Distress Syndrome) y de las fallas multiorgánicas extrapulmonares asociadas a esta patología, eventos críticos en la exacerbación de las manifestaciones clínicas e incluso la muerte, ocasionados por el daño celular, epitelial, vascular y alveolar generado por la liberación de citoquinas proinflamatorias¹¹. Sin embargo, es importante conocer si la diferencia en las manifestaciones clínicas observadas en pacientes colombianos con COVID-19 se asocia a perfiles de citoquinas diferentes que puedan explicar o predecir los desenlaces clínicos.

Por esto, en el presente estudio evaluamos las diferencias en los niveles séricos de citoquinas pro y antiinflamatorias de pacientes asintomáticos y sintomáticos con y sin complicaciones colombianos infectados con SARS-CoV-2.

Materiales y métodos

Población y muestras de suero

32 muestras de suero fueron recolectadas a partir de la toma de muestra de sangre periférica de mujeres y hombres mayores de edad (entre 22 y 84 años de edad) quienes fueron categorizados en 4 grupos clínicos correspondientes a: (A) individuos asintomáticos con resultado positivo de la prueba de SARS-CoV-2 por RT-PCR (n=8); (SD) individuos sintomáticos hospitalizados en casa bajo seguimiento y monitoreo clínico con resultado positivo de la prueba de SARS-CoV-2 por RT-PCR (n=8); (SH) individuos hospitalizados en sala general o en unidad de cuidados intensivos (UCI) en la Clínica Universitaria Colombia, Colsanitasen la ciudad de Bogotá D.C con resultado positivo de la prueba de SARS-CoV-2 por RT-PCR (n=8); (N) individuos con síntomas respiratorios y resultados de la prueba de SARS-CoV-2 por RT-PCR negativos (n=8)¹².

Determinación de anticuerpos IgM, IgG e IgA

La determinación de la presencia y niveles de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 se reportó en el artículo publicado por Delgado y cols¹². Brevemente, los isotipos de las inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA frente a SARS-CoV-2 fueron determinadas mediante el uso del kit ELISA NovaTec® de Quimiolab (ciudad, País), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados se expresaron a través de Unidades Arbitrarias de Inmunoglobulinas (UAI).

Cuantificación de citoquinas pro y antiinflamatorias

50 μ L de los sueros recolectados fueron incubados durante 3 horas a temperatura ambiente y protegidas de la luz con una mezcla de 50 μ L de las perlas de captura de las citoquinas IFN- γ , TNF, IL-10, IL-6, IL-4 e IL-2 (resuspendidas en el reactivo Serum Enhancement Buffer (SEB)), y 50 μ L del reactivo de detección de PE, siguiendo las instrucciones del fabricante (Becton Dickinson Biosciences, Pharmingen™ – San José, CA, USA). Paralelamente, el mismo protocolo experimental fue llevado a cabo para el montaje de la curva de calibración (0, 20, 40, 80, 156, 312.5, 625, 1250, 2500 y 5000) pg/mL para cada una de las citoquinas.

Posteriormente, las mezclas fueron lavadas mediante centrifugación con el fin de remover el exceso de anticuerpo de detección no unido, y resuspendidas en Wash Buffer, para su posterior lectura utilizando el citómetro de flujo FacsCanto II de Becton Dickinson (BD Biosciences - San Diego, CA, USA) con los canales de detección FL2 (para la determinación de la concentración) y FL3 (para la diferenciación de la citoquina a evaluar). Los programas FACSDiva TM (BD Biosciences - San Diego, CA, USA) y FCAP Array TM (Soft Flow Hungary Ltd - Pecs, Hungría) fueron utilizados para los procesos de adquisición y análisis, respectivamente.

Análisis

La concentración de cada una de las citoquinas es reportada en pg/mL a través de la aplicación de una ecuación de regresión logística de 5 parámetros utilizando el software FCAP Array TM (Soft Flow Hungary Ltd - Pecs, Hungría).

Las comparaciones entre los niveles de producción de citoquinas por grupos se realizaron mediante la aplicación de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, y la comparación entre grupos y generó se realizó a través de la prueba no paramétrica no pareada Mann-Whitney. Las pruebas de correlación se realizaron mediante la aplicación de la prueba de Spearman teniendo en cuenta únicamente las muestras de los grupos A, SD y SH. Para todos los casos la significancia estadística se definió por un valor de significancia (*p. value*) menor a 0.05 (*p. value* < 0.05). Todos los análisis fueron realizados mediante el uso del software estadístico GraphPad Prism 6.01 (demo) (Graph Pad Software Inc, Estados Unidos).

Resultados

Diferencias en los niveles de producción de citoquinas pro y antiinflamatorias en individuos hospitalizados por SARS-CoV-2

Derivado de los análisis de cuantificación de las citoquinas IFN-g, TNF, IL-10, IL-6, IL-4 e IL-2 a través de citometría de flujo en muestras de sueros de individuos por prueba de RT-PCR positiva para la detección del virus SARS-CoV-2 (grupos A, SD, SH) y de individuos con prueba negativa de RT-PCR para SARS-CoV-2 pero con síntomas para otra afección respiratoria (grupo N), se evidenció una tendencia generalizada a la disminución en la concentración de citoquinas proinflamatorias (tales como

IFN-g, TNF e IL-2) y en una citoquina de perfil antiinflamatoria (IL-4), así como un aumento diferencial en los niveles de la IL-6 (una citoquina con propiedades pro y antiinflamatorias) en el grupo de pacientes pertenecientes al grupo SH.

En línea con lo anterior, se destaca una disminución significativamente estadística en la producción de las citoquinas IFN-g (*p. value* < 0.05), TNF (*p. value* < 0.01), IL-2 (*p. value* < 0.01) e IL-4 (*p. value* < 0.01) al comparar la concentración sérica detectada en los grupos clínicos N (†) y SH (‡), así como un aumento con significancia estadística para la producción de IL-6 (*p. value* < 0.001) al comparar los niveles entre los grupos SD (†) y SH (†) (Figura 1).

Adicionalmente, al realizar la evaluación y análisis entre los niveles de producción de citoquinas de acuerdo con el género en los distintos grupos clínicos definidos en el presente estudio, se evidenciaron diferencias significativas al comparar la producción de IL-2 en los individuos pertenecientes al grupo A, siendo significativamente mayor el nivel cuantificado en las mujeres comparado con los hombres (*p. value* 0.0286) (Figura 2).

Niveles de producción de anticuerpos en individuos con infección por SARS-CoV-2

Con respecto al análisis de determinación de la presencia de los isotipos de inmunoglobulinas tipo IgM, IgG e IgA, a nivel general se evidencia un incremento en los niveles séricos de los diferentes isotipos de Ig en la medida en la que se presenta un mayor grado de severidad en el curso de la enfermedad, siendo menor los niveles en los individuos pertenecientes al grupo A, seguido por un ligero aumento (sin

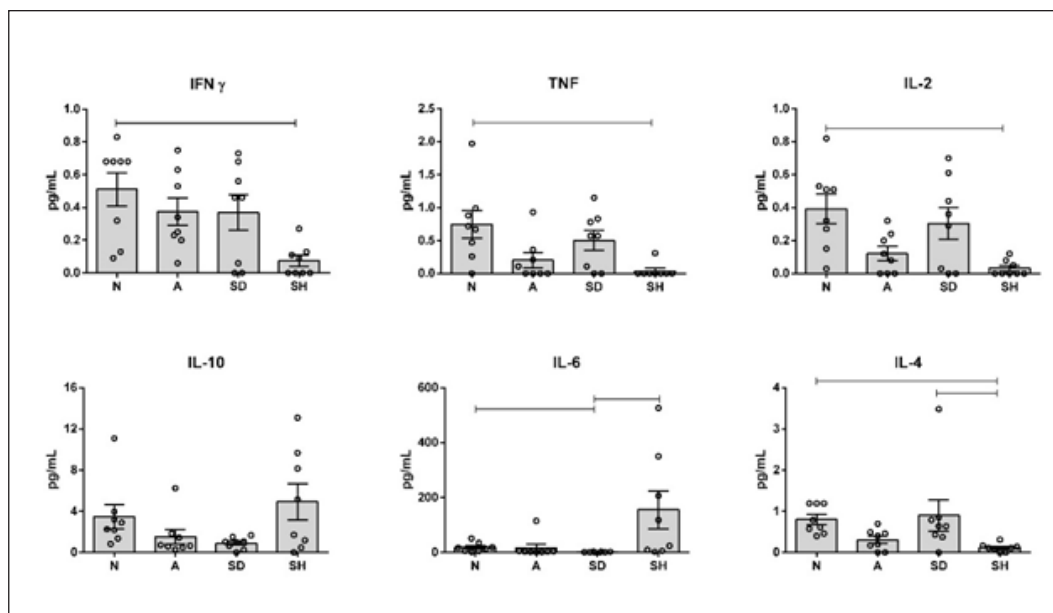


Figura 1. Niveles séricos de citoquinas pro y antiinflamatorias en individuos infectados con SARS-CoV-2.

La gráfica muestra la concentración en pg/mL de cada una de las citoquinas evaluadas, representadas a través de la media y el error estándar de la media para cada uno de los casos.

N: corresponde al grupo de individuos negativos; A: al grupo de asintomáticos; SD: al grupo de sintomáticos con seguimiento en domicilio; SH: al grupo de sintomáticos hospitalizados. Las barras horizontales reflejan los grupos con diferencias significativas (*p. value* < 0.05).

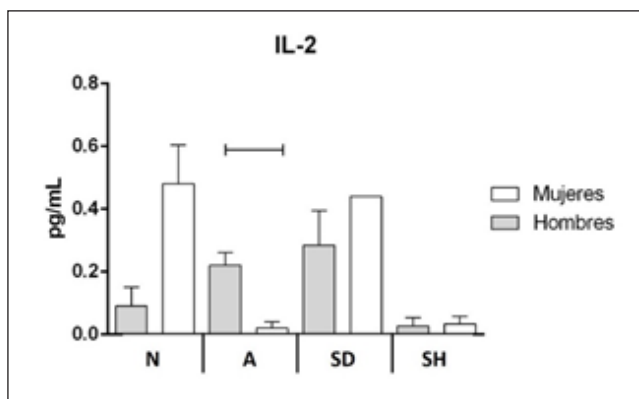


Figura 2. Concentración de IL-2 de acuerdo con el género y grupo clínico. La gráfica muestra la concentración en pg/mL de la IL-2 diferenciada por género y grupo clínico. Se muestran los resultados a través de la media y el error estándar de la media para cada uno de los casos. N: corresponde al grupo de individuos negativos; A: al grupo de asintomáticos; SD: al grupo de sintomáticos con seguimiento en domicilio; SH: al grupo de sintomáticos hospitalizados. Las columnas sin relleno corresponden a la producción de citoquinas en mujeres y las columnas con relleno a la producción en hombres. Las barras horizontales reflejan los grupos con diferencias significativas (p . value < 0.05).

significancia estadística) en los individuos del grupo SD, y aumento más marcado en los individuos del grupo SH (con significancia estadística para el caso de la IgG al compararse con los grupos A (p . value < 0.01) y SD (p . value < 0.05), y de la IgA al compararse con el grupo A (p . value < 0.01) (Figura 3).

Correlación en los niveles de citoquinas y producción de anticuerpos

A nivel del análisis de correlación sobre los niveles de producción de las citoquinas, se identificaron tendencias correlación positiva ($r > 0.7$ con significancia estadística) entre los niveles de producción de citoquinas tales como TNF con IL-2 ($r=0.8434$), IL-4 con IL-2 ($r=0.8372$), IL-4 con TNF ($r=0.7970$) e IL-6 con IL-10 ($r=0.7424$) (Figura 4A).

Un fenómeno similar se evidenció en el análisis de correlación de la concentración de cada una de las citoquinas detectadas en el presente estudio con los niveles de los diferentes isotipos de anticuerpos, observándose correlaciones posi-

vas con significancia estadística para el caso de las citoquinas IL-10 e IL-6 con los niveles de IgM ($r=0.6400$ y $r=0.5126$, respectivamente), IgG ($r=0.5509$ y $r=0.4320$, respectivamente) e IgA ($r=0.6416$ y $r=0.5525$, respectivamente) (Figura 4B).

Discusión

En el presente estudio, analizamos los perfiles de citoquinas y de isotipos de inmunoglobulinas predominantes inducidos frente a la infección por SARS-CoV-2, y su asociación con la severidad de la enfermedad, teniendo en cuenta la importancia que juega el sistema inmune en el control y desenlace de la enfermedad. Los resultados aquí obtenidos permiten dar cuenta de una relación de la respuesta inmune efectora desarrollada con el curso severo de la patología, evidenciándose una disminución generalizada de citoquinas propias del perfil activador de células Th1 en el grupo de individuos con mayor grado de afectación en su estado de salud (es decir, el grupo SH, de personas sintomáticas hospitalizadas) al compararse con los otros (A y SD), así como un aumento en la producción de citoquinas antiinflamatorias (como por ejemplo IL-10) o de una citoquina con un rol dual en el montaje de la respuesta inmune (como lo es la IL-6) en el mismo grupo clínico.

Con los hallazgos arrojados en el presente estudio, se encuentran en concordancia con lo referido por diversos autores acerca de la implicación de la respuesta inmune en la fisiopatología de la enfermedad, resaltándose en particular la bajo-regulación de citoquinas tipo IFN (las cuales juegan un papel esencial en el desarrollo de una respuesta antiviral efectiva, activando diversas subpoblaciones celulares esenciales en el control del virus) y la sobre regulación de citoquinas como la IL-6. (una potente citoquina con propiedades pro y anti-inflamatorias).

Así las cosas, existen reportes que exponen la capacidad de virus de la familia coronavirus de evadir y suprimir la respuesta asociada a la activación celular mediada por IFN, a través diferentes mecanismos, entre los que se destacan alteraciones en las vías de señalización intracelular y las funciones de liberación¹³. Un ejemplo de lo anterior fue lo reportado por

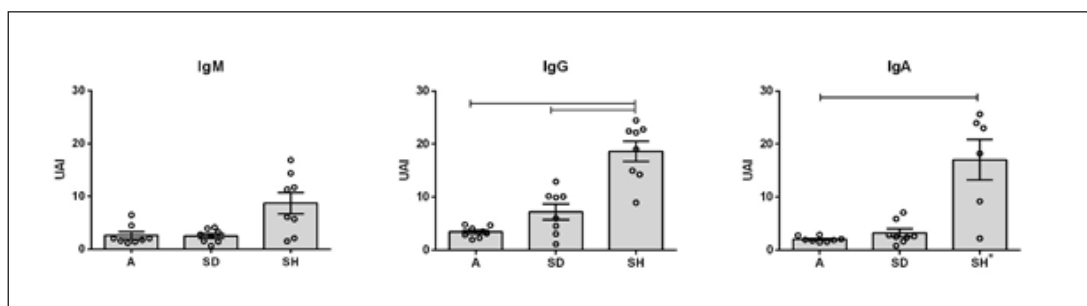


Figura 3. Niveles de producción de anticuerpos.

La gráfica muestra la concentración en UAI (Unidades Arbitrarias de Inmunoglobulina). Se muestran los resultados a través de la media y el error estándar de la media para cada uno de los casos. N: corresponde al grupo de individuos negativos; A: al grupo de asintomáticos; SD: al grupo de sintomáticos; SH: al grupo de sintomáticos hospitalizados en sala general o UCI. Las barras horizontales reflejan los grupos con diferencias significativas (p . value < 0.05).

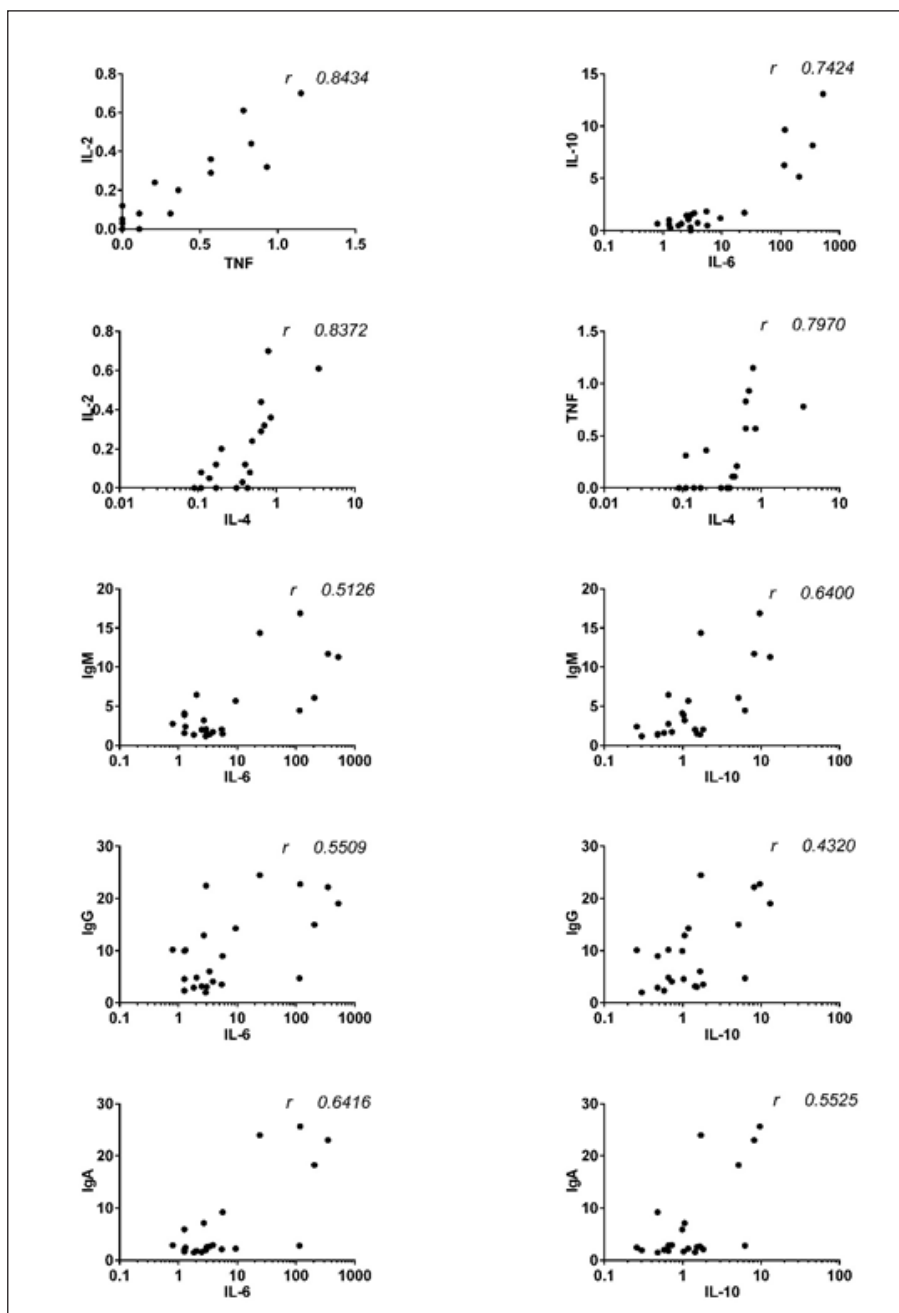


Figura 4. Correlación en los niveles de producción de citoquinas y anticuerpos en individuos infectados con SARS-CoV-2. A. Correlación entre los niveles de citoquinas; B. correlación entre los niveles de producción de citoquinas y de anticuerpos.

Blanco-Melo y cols en 2020, quienes demostraron la producción elevada de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias con niveles no detectables de IFN (tipo I y III)¹⁴.

Un fenómeno similar fue reportado por Cheung y cols en 2005 con células dendríticas infectadas con SARS-CoV, las cuales mostraron una baja expresión de IFN- α , IFN- β e IFN- γ , así como una moderada sobre regulación de la expresión de TNF- α e IL-6, y una significativa sobre regulación de la expresión de quimioquinas proinflamatorias, tales como MIP-1 α , IP-10, MCP-1 y RANTES¹⁵.

Por su parte, Liu y cols demostraron una relación entre el grado de linfopenia y la sobre producción de citoquinas proinflamatorias con la severidad de la infección por SARS-CoV-2, observando una disminución en el conteo periférico de células T (particularmente CD8+), así como un incremento sérico en los niveles de IL-6, IL-10, IL-2 e IFN¹⁶, resultados que concuerdan parcialmente con lo aquí observado, en donde se evidenció un aumento únicamente para el caso de la IL-6 y la IL-10 y lo descrito por Zhang Z et al. quienes también encontraron asociación entre la elevación de IL-6 e IL-8 con severidad clínica.

Aunque hay diferencias en los hallazgos de los perfiles de citoquinas, lo que si parece ser una constante es la elevación de la IL-6 en los pacientes severos, tal como lo encontramos en este estudio y por ende empieza a ser considerado de mal pronóstico. La importancia que juega la IL-6 en los procesos proinflamatorios, destacándose su papel en procesos tales como: la proliferación y migración celular; el control del metabolismo de adipocitos, hepatocitos y músculo estriado; la promoción de vías catabólicas; disfunción renal; producción de fibrinógenos, entre otros, podrían fácilmente explicar su papel en la fisiopatología de la COVID-19¹⁷⁻¹⁹.

En este sentido, estudios derivados de la emergencia mundial por la pandemia por COVID-19 dan cuenta de afectaciones a nivel de coagulación en las personas con cuadros severos ocasionados por SARS-CoV-2, y a pesar de que el mecanismo por el cual se da esta complicación aún no se ha descifrado claramente, se postula que la patogénesis asociada a esta particularidad se debe al incremento en los niveles de Patrones Moleculares Asociados a Daño (DAMPs por sus siglas en inglés de Damage-Associated Molecular Patterns) y al incremento en la producción de citoquinas proinflamatorias, lo que genera daño endotelial asociado a muerte celular²⁰.

Particularmente para el caso de la IL-6, se ha evidenciado su capacidad de inducir la activación de la cascada de coagulación e incrementar la permeabilidad vascular, fenómeno que se asocia con la diseminación rápida de la inflamación y daño en tejido pulmonar en los individuos con manifestaciones severas de la infección por SARS-CoV-2⁷.

Axelsson y cols en 2016 evaluaron 12 biomarcadores para el monitoreo y evaluación de la progresión de la enfermedad cardiovascular en un estudio que involucró a 543 pacientes, observándose a la IL-6 como uno de los biomarcadores más robustos al momento de realizar el seguimiento y evaluación de la predicción de mortalidad²¹.

En línea con lo anterior, estudios realizados por Yang demostraron el incremento de los niveles de IL-6 como un marcador de mal pronóstico frente a la infección por SARS-CoV-2, asociándose a trastornos de los procesos de coagulación e inflamación, repercutiendo de manera directa en la mortalidad de la enfermedad²². Estos hallazgos a su vez permiten explorar las opciones terapéuticas basadas en inhibidores de la IL-6 como el tocilizumab, cual podría ser una opción prometedora, especialmente en pacientes con cuadros clínicos relacionados no solo relacionados con la tormenta de citoquinas²³.

Por otro lado, llama la atención las evidencias sobre el nivel de anticuerpos observado en pacientes asintomáticos frente a pacientes sintomáticos (en particular en aquellos individuos hospitalizados), en donde se detectaron niveles inferiores de anticuerpos en pacientes con mejor pronóstico de la enfermedad en comparación con los niveles de anticuerpos de pacientes hospi-

talizados, quienes mostraron un aumento significativo. Estos hallazgos, se concentran en concordancia con lo reportado por Tang y cols en 2020, quienes demostraron que el grupo de individuos infectados con SARS-Co-2 asintomáticos se caracterizan por el desarrollo de una respuesta inmune más débil, al compararse con el grupo de individuos con infecciones sintomáticas²⁴. Adicionalmente en la cinética de los anticuerpos se ha detectado que hay una caída del nivel de anticuerpos a medida que pasa el tiempo²⁵, lo que podría limitar su detección e interpretación a medida que el tiempo desde la infección sea mayor. No obstante, aún no se sabe si esta menor presencia de anticuerpos en los pacientes con síntomas leves se asocia a una menor protección e incluso Sekine Y et al, sugiere con sus hallazgos que estas personas con síntomas leves sin producción de anticuerpos podrían tener una respuesta inmune celular robusta y protectora²⁶. Nuestros hallazgos si permitieron correlacionar la concentración de Inmunoglobulinas con la de citoquinas séricas, pero sin poder afirmar su papel en la severidad o en a protección.

Por otra parte, con base en los reportes que sugieren una mayor severidad en el curso de la enfermedad en pacientes del género masculino²⁸⁻³⁰, en el presente estudio comparamos además los niveles de citoquinas circulantes entre los pacientes según su sexo, evidenciándose únicamente diferencias significativas en la producción de IL-2 en el grupo A (con un mayor nivel en hombres). Estos hallazgos, no permiten arrogar mayor evidencia que permitan atribuir el desarrollo de una respuesta particular con el género de los pacientes.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones y es que no evalúa la cinética de los niveles de las citoquinas séricas y anticuerpos en forma longitudinal sino corresponde a un momento de la evolución de la infección en cada paciente. Es conocido que los niveles podrían ser diferentes dependiendo no solo de la severidad clínica sino del momento de la infección. Además, se ha descrito que incluso hay diferentes inmunofenotipos que pueden expresar diferentes respuestas inmunes y por lo tanto afectar la respuesta inmune observada²⁷. En este análisis no se hizo correlación con inmunofenotipos que nos permitiera orientar los tipos de respuesta. Una tercera limitación es el tamaño de cada uno de los grupos (n=8), pero a pesar de ello las diferencias encontradas en algunas de las citoquinas fueron significativas.

Los fenómenos aquí reportados reflejan la importancia de realizar mayores estudios de los componentes de inmunidad adaptativa y su interrelación con las diferentes manifestaciones clínicas, los cuales permitan aportar al entendimiento de la fisiopatología de la enfermedad. No obstante, los hallazgos de este estudio permiten corroborar que las manifestaciones clínicas podrían asociarse a patrones de respuesta inmune y por ende se hace necesario evaluar el papel que juegan los anticuerpos, sus isotipos y sus subclases en el control de la infección, así como citoquinas como la IL-6 y el IFN, en el desenlace de la enfermedad. Finalmente se sugiere y explorar las posibles diferencias no solo en severidad clínica, género y evolución en el tiempo

Responsabilidades éticas

Protección de sujetos humanos y animales. No se realizaron experimentos ni intervenciones invasivas en animales ni humanos.

Confidencialidad de los datos. Todos los datos recolectados con el desarrollo del presente estudio fueron manejados con total confidencialidad, asignándose códigos para el manejo de las muestras para salvaguardar la protección de los datos y el anonimato de los participantes.

Consentimiento informado. Los autores del estudio cuentan con los respectivos consentimientos informados de los pacientes o parientes autorizados.

Financiación. Ninguna.

Conflicto de interés. Los autores declaran no tener conflicto de interés con el desarrollo del presente estudio.

Bibliografía

- Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020; 382 (8): 727-33.
- WHO. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. 2020 [cited 2020 28-06-2020]; Available from: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
- Universidad Johns Hopkins. Coronavirus Resource Center. 2020 [cited 2020 27-07-2020]; Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>.
- Yazdanpanah F, Hamblin MR, Rezaei N. The immune system and COVID-19: Friend or foe? *Life Sci.* 2020; 256: 117900.
- WHO. Health Topics: Coronavirus. 2020 [cited 2020 29-06-2020]; Available from: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1.
- Birra D, Benucci M, Landolfi L, et al. COVID 19: a clue from innate immunity. *Immunol Res.* 2020; 10.1007/s12026-020-09137-5.
- Song P, Li W, Xie J, Hou Y, You C. Cytokine Storm Induced by SARS-CoV-2. *Clin Chim Acta.* 2020; 10.1016/j.cca.2020.06.017.
- Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020; 80 (6): 607-13.
- Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395 (10223): 497-506.
- Min CK, Cheon S, Ha NY, et al. Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity. *Sci Rep.* 2016; 6: 25359.
- Kim ES, Choe PG, Park WB, et al. Clinical Progression and Cytokine Profiles of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *J Korean Med Sci.* 2016; 31 (11): 1717-25.
- Fei Y, Tang N, Liu H, Cao W. Coagulation dysfunction: A hallmark in COVID-19. *Arch Pathol Lab Med.* 2020; 10.5858/arpa.2020-0324-SA.
- Delgado G, Vargas J, Mercado M, Gaviria P, Álvarez C. Toward to establish selection criteria for rapid serological tests for COVID-19. *Infectio.* 2020; 24 (3): 1-9.
- Park A, Iwasaki A. Type I and Type III Interferons - Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host Microbe.* 2020; 27 (6): 870-8.
- Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell.* 2020; 181 (5): 1036-45 e9.
- Law HK, Cheung CY, Ng HY, et al. Chemokine up-regulation in SARS-coronavirus-infected, monocyte-derived human dendritic cells. *Blood.* 2005; 106 (7): 2366-74.
- Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine.* 2020; 55: 102763.
- Narazaki M, Kishimoto T. The Two-Faced Cytokine IL-6 in Host Defense and Diseases. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (11): 10.3390/ijms19113528.
- Smetana K, Jr., Brabek J. Role of Interleukin-6 in Lung Complications in Patients With COVID-19: Therapeutic Implications. *In Vivo.* 2020; 34 (3 Suppl): 1589-92.
- White JP. IL-6, cancer and cachexia: metabolic dysfunction creates the perfect storm. *Transl Cancer Res.* 2017; 6 (Suppl 2): S280-S5.
- Iba T, Levy JH, Levi M, Thachil J. Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;
- Sun J, Axelsson J, Machowska A, et al. Biomarkers of Cardiovascular Disease and Mortality Risk in Patients with Advanced CKD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016; 11 (7): 1163-72.
- Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Correction to: Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020; 46 (6): 1294-7.
- Guaraldi G, Meschiari M, Cozzi-Lepri A, et al. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *The Lancet Rheumatology.* 2020; 10.1016/s2665-9913(20)30173-9.
- Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020; 10.1038/s41591-020-0965-6.
- Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, et al. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 10.1056/NEJMc2025179.
- Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *bioRxiv.* 2020; 10.1101/2020.06.29.174888.
- Scully EP, Haverfield J, Ursin RL, Tannenbaum C, Klein SL. Considering how biological sex impacts immune responses and COVID-19 outcomes. *Nat Rev Immunol.* 2020; 20 (7): 442-7.
- Klein SL, Dhakal S, Ursin RL, et al. Biological sex impacts COVID-19 outcomes. *PLoS Pathog.* 2020; 16 (6): e1008570.
- Bwire GM. Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women? *SN Compr Clin Med.* 2020; 1-3.
- Mathew D, Giles JR, Baxter AE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science.* 2020; 10.1126/science.abc8511.