



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



Facultad de Ciencias Químicas  
Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas  
Maestría en Ciencias Farmacobiológicas.

“Participación de receptores de DNA citosólicos en  
individuos infectados con SARS-CoV-2”

Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias  
Farmacobiológicas

Presenta:  
Q.F.B. Estefanía Juárez Carrillo

El programa de Maestría en Ciencias Farmacobiologicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 003382, en el Nivel Maestría. Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: 782267 y el número de CVU: 1078859. Esta tesis se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas del Instituto Mexicano del Seguro Social, el Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina (CICSaB) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, de San Luis Potosí, San Luis Potosí.



Participación de receptores de DNA citosólicos en individuos infectados con SARS-CoV-2 por Estefania Juárez Carrillo se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

## **JURADO**

---

**Director de tesis**

**Dra. Diana Patricia Portales Pérez**

---

**Co-director de tesis**

**Dra. Mariana Haydee García Hernández**

---

**Asesor**

**Dra. Edith Elena Uresti Rivera**

## **SUBCOMITE**

---

**Director de tesis**

**Dra. Diana Patricia Portales Pérez**

---

**Co-director de tesis**

**Dra. Mariana Haydee García Hernández**

---

**Asesor**

**Dra. Edith Elena Uresti Rivera**

## **DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer primeramente a Dios por permitirme llegar hasta este momento en el que culmino mi maestría, a mis padres por ser ese impulso para mi cada día aunque debí estar lejos de ellos siempre los lleve y llevaré en el corazón, en especial a mi madre que es mi gran ejemplo y siempre me motivó a nunca darme por vencida por más difíciles que fueran las circunstancias, a mis hermanas Karla y Marisol que han estado apoyándome a lo largo de este camino, a cada uno de mis familiares que estuvieron al pendiente de mi trayecto.

A la Dra. Mariana por aceptarme y darme la confianza para formar parte de su grupo de investigación, gracias por todas esas enseñanzas y consejos a lo largo de mi estancia en la UIBMZ, siempre los recordare.

A mi comité tutorial, Dra. Diana y Dra. Edith por sus asesorías y apoyo en todo este trayecto de dos años.

A la persona que tanto me ayudo en mi estancia en San Luis, Lau fuiste la primera amiga que tuve, me apoyaste y cuidaste de mi en todo momento, gracias por todos esos consejos y frases de motivación que me diste, fuiste, eres y serás una de las personas que agradeceré siempre por haber conocido.

A mis amigos en la UIBMZ Gwendo, Flor, Abraham y Andrea por estar ahí conmigo en todas esas horas en la unidad, momentos felices, estresantes y cansados que pasamos, pero al final todo vale la pena.

A mis amigas de la maestría Mariana, Abi y Laura que juntas terminaremos una etapa mas en nuestras vidas y agradezco el haberlas conocido.

Finalmente quiero agradecer al posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la UASLP y a CONACYT por brindarme la oportunidad de llevar a acabo mi maestría de manera satisfactoriamente.

## RESUMEN

**Introducción.** El COVID19 se caracteriza por presentar diferentes grados de severidad probablemente asociados a una disminución de la respuesta de interferón, así como un aumento de los marcadores proinflamatorios y de muerte celular. El objetivo de este estudio fue evaluar la expresión de los receptores de ADN IFI16, AIM2, vía cGAS-STING y NLRP3 en pacientes con COVID19 por qPCR. **Resultados.** Se contó con 13 pacientes de con síntomas y prueba para SARS-CoV-2 positiva y 12 sujetos aparentemente sanos. Se observó un aumento en la expresión de NLRP3, IFI16, NF-κB y la relación IFI16 / AIM2 en pacientes con COVID19 leve en comparación con controles sanos, mientras que los que presentaban síntomas graves mostraron una expresión disminuida de AIM2, STING, IFI16, NF-κB y la relación IFI16/AIM2 en comparación con los pacientes con COVID19 leve. Se encontró una correlación directa entre AIM2 y cGAS y ASC, una correlación directa de IFI16 y NLRP3, STING, NF-κB y LDH, así como una correlación directa de STING y NF-κB en el grupo de control. En pacientes COVID19 con síntomas leves, una correlación directa de IFI16 y cGAS con NF-κB, y se detectó una correlación directa entre AIM2 y STING. En pacientes con COVID19 severo, una correlación directa entre IFI16 con AIM2, cGAS, STING y NF-κB, así como IFI16, STING y NF-κB se correlacionaron inversamente con ASC. **Conclusiones.** En pacientes con COVID19 con síntomas leves, una mayor expresión de NLRP3, IFI16 y NF-κB podría implicar una adecuada respuesta del sistema inmunológico, mientras que la expresión disminuida de AIM2, IFI16, STING y NF-κB en pacientes con COVID19 con los síntomas severos podrían resultar en respuestas antivirales y antiinflamatorias inadecuadas.

**Palabras clave:** COVID19, Receptores de DNA, severidad, IFI16, AIM2

## **ABSTRACT**

**Introduction.** COVID19 is characterized by presenting different degrees of severity likely associated with a decreased interferon response, as well as increased markers of pro-inflammatory and cell death. The purpose of this study was to evaluate the expression of the DNA receptors IFI16, AIM2, cGAS-STING pathway and NLRP3 in patients with COVID19. The expression of IFI16, AIM2, cGAS-STING, NLRP3, ASC, and NF-kB was determined by qPCR. **Results.** A higher expression of NLRP3, IFI16, NF-kB, and the IFI16/AIM2 ratio in patients with mild COVID19 compared to healthy controls, while those with severe symptoms showed a diminished expression of AIM2, STING, IFI16, NF-kB and the IFI16/AIM2 ratio compared to patients with mild COVID19 disease. COVID19. We observed a direct correlation between AIM2 and cGAS and ASC, a direct correlation of IFI16 and NLRP3, STING, NF-kB and LDH, as well as a direct correlation of STING and NF-kB in the control group. In COVID19 patients with mild symptoms, a direct correlation of IFI16 and cGAS with NF-kB, and a direct correlation between AIM2 and STING was detected. In severe COVID19 patients, a direct correlation between IFI16 with AIM2, cGAS, STING and NF-kB as well as IFI16, STING and NF-kB were inversely correlated with ASC. **Conclusions** In COVID19 patients with mild symptoms, increased expression of NLRP3, IFI16, and NF-kB could imply the appearance of an adequate immune response, while the diminished expression of AIM2, IFI16, STING, and NF-kB in COVID19 patients with severe symptoms could result in inadequate antiviral and anti-inflammatory responses.

**Keywords:** COVID19, DNA-receptors, severity, IFI16, AIM2

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. JUSTIFICACIÓN .....	11
3. HIPÓTESIS.....	12
4. OBJETIVO GENERAL .....	12
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES .....	12
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
5.1 Criterios de inclusión. ....	13
5.2 Criterios de exclusión (no inclusión). ....	13
5.3 Criterios de eliminación. ....	13
5.4 Purificación de células mononucleares de sangre venosa periférica (PBMC). ....	13
5.5 Extracción del ARN por la técnica de Trizol.....	14
5.6 PCR cuantitativa en tiempo real.....	14
5.7 Análisis estadístico. ....	15
6.BIBLIOGRAFÍA .....	16
7. GLOSARIO.....	20

## 1. INTRODUCCIÓN

El coronavirus del tipo 2, causante del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus tipo 2 (SARS-CoV-2) es el agente causal de la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID19) [1]. La ruta de entrada del SARS-CoV-2 a la célula huésped es mediante el uso del receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) presente en la superficie de la membrana de distintos tipos de células [2]. En la mayoría de los casos, las manifestaciones clínicas de la enfermedad de COVID19 se presenta en formas leves o asintomáticas, mientras que algunos pacientes llegan a desarrollar síntomas moderados y severos [3]. Actualmente, los factores inmunológicos que predisponen el desarrollo de las formas clínicas graves de la infección por SARS-CoV-2 no se conocen en su totalidad. Sin embargo, se ha observado una mayor concentración de citocinas pro-inflamatorias en pacientes con enfermedad grave y moderada en comparación a controles sanos [4]. En los casos graves presentan niveles elevados de TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 e IL-8 en suero en comparación con pacientes con enfermedad leve [5]. Además, la expresión de IFN- $\gamma$  se observó considerablemente más baja en células T CD4+ de pacientes con enfermedad grave que en pacientes con enfermedad moderada. Los marcadores específicos de piroptosis, como Gasdermina D (GSDMD), lactato deshidrogenasa (LDH), IL-1RA e IL-18, se pudieron observar elevados en muestras de pacientes con COVID19 grave en comparación con aquellos con enfermedad leve o moderada. Además, los niveles de LDH, un marcador de muerte celular se correlacionó con la gravedad de la enfermedad de COVID19 [6]. Además, se ha informado que la respuesta del interferón tipo I (IFN) aumenta en pacientes con infección leve por SARS-CoV-2, mientras que disminuye en pacientes con infección grave [7, 8]. Del mismo modo, los pacientes con enfermedad grave mostraron una disminución en la transcripción de genes estimulados por interferón (ISG) y su estado clínico se asoció con la intensidad y cinética de respuesta a IFN tipo I [9]. Además, los pacientes con COVID19 que presentan enfermedad leve a moderada tienen un mayor grado de expresión de genes que codifican proteínas implicadas en las respuestas de tipo I y tipo II a IFN en comparación con los pacientes con enfermedad grave [9]. El aumento de los marcadores de inflamación y muerte celular, así como la disminución de la respuesta

de IFN en pacientes con COVID19 grave, sugiere que existe una alteración de receptores implicados en la activación del inflamasoma y la respuesta antiviral de IFN como IFI16, NLRP3, la vía c-GAS-STING y AIM2 en este tipo de pacientes durante la infección por SARS-CoV-2. Ausente en el melanoma 2 (AIM2) pertenece a los receptores similares a Aim2 (ALR), que son proteínas inducibles por IFN tipo I [10]. AIM2 reconoce dsDNA de distinto origen. Después de la detección del dsDNA, AIM2 se activa e inicia el montaje del inflamasoma AIM2, donde es de destacar que la señalización de IFN tipo I es esencial para su ensamblaje adecuado de este inflamasoma [11]. La activación del inflamasoma provoca la activación de caspasa-1 dependiente de ASC y la liberación de IL-1 $\beta$  e IL-18, y la muerte celular dependiente de Gasdermina D (GSDMD) en un proceso conocido como piroptosis [11-13]. Aunque, se ha informado el mecanismo de la activación de AIM2 por el virus de ARN [14, 15], el mecanismo preciso no está claro, sin embargo, se sabe que AIM2 no está directamente involucrado - en la detección de virus, sino más bien en la modulación de la actividad pulmonar inducida por lesión a causa de virus [14]. NLRP3 pertenece a la familia de receptores tipo NOD (NLR), que detecta una variedad de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y alarmas endógenas como ATP [16, 17]. Aunque la activación de NLRP3 también conduce a la activación del inflamasoma, así como AIM2, su actividad es inhibida por IFN tipo I [18, 19]. El virus SARS-CoV-2 induce la activación del inflamasoma NLRP3, a través de la acción de viroporinas virales, que son codificadas por el genoma del SARS-CoV-2 [20]. Se ha descrito que los monocitos de pacientes con COVID19 expresan tanto AIM2 y NLRP3 y que esta expresión se co-localiza con motas de ASC [20]. La activación excesiva de AIM2 es impedida por una isoforma de IFI16 denominada IFI16- $\beta$  que interactúa con AIM2 evitando la interacción AIM2-ASC o puede competir con AIM2 por su ligando. Una vez que IFI16 detecta, el ADN induce la producción de IFN tipo I a través de STING en cooperación con cGAS [21]. Además, la detección directa de ADN endógeno por la vía cGAS-STING promueve la activación de los factores de transcripción NF- $\kappa$ B e IRF3 y esto induce la secreción de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IFN, respectivamente [22, 23]. La infección por SARS-CoV-2 puede activar la vía cGAS-STING mediante la detección del ADN citoplasmático por parte del receptor cGAS [24, 25] o por la acumulación de angiotensina II debido a la baja

expresión o ACE2 [26 - 28]. La sobreactivación de STING en pacientes con COVID19 se relacionó con la hipercoagulación [29]. Finalmente, se sabe que los pacientes con COVID19 muestran una respuesta antiviral IFN tipo I reducida, y que en los pacientes con COVID-19 grave se encuentran niveles elevados de ADN libre en suero que se asocian con marcadores de muerte celular e inflamación [30]. Todos estos datos en conjunto sugieren que los receptores de ADN juegan un papel fundamental en el desarrollo de la gravedad de COVID19. Por lo que en este estudio exploramos la expresión de AIM2, IFI16, NLRP3, cGAS, STING, NF-kB y ASC en pacientes COVID19 con síntomas leves o graves en comparación con controles sanos para determinar la contribución de estas moléculas en la progresión de la COVID19.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

La enfermedad de COVID19 provocada por el virus SARS-CoV-2 presenta diferentes grados de severidad, por lo que se ha sugerido que existen factores de susceptibilidad en los pacientes que contribuyen con una mayor patología pulmonar o multiorgánica y una mayor letalidad de la infección. El receptor de reconocimiento de patrones (RRP) AIM2 reconoce DNA de doble cadena (dsDNA) de diferentes orígenes, bacteriano, viral o endógeno. La activación de AIM2 induce el ensamblaje de una plataforma de proteínas que guía a la activación de la Caspasa-1 y a la maduración y secreción de IL-1 $\beta$  e IL-18, asimismo, a la muerte programada de las células por piroptosis. Sin embargo, también se ha descrito un papel antiinflamatorio de AIM2 debido a que inhibe la activación del factor NF-kB inducida por la activación de otros receptores de DNA como los implicados en la vía cGAS-STING y la activación de NF-kB se ha asociado con la severidad de la COVID19. En pacientes con COVID19 existe un aumento de DNA libre en circulación, así como una disminución de la respuesta a IFN en casos severos. Se ha observado que la activación de NF-kB, a su vez producto de la activación de receptores de DNA como los implicados en la vía cGAS-STING, se asocia con la severidad de la COVID19. De manera importante, AIM2 juega un papel antiinflamatorio debido a que inhibe la activación del factor NF-kB. Debido a que la

expresión y activación de AIM2 depende de la señalización de IFN, en este estudio se determinará si la expresión relativa de AIM2, así como de otros receptores de DNA citosólicos como IFI16, cGAS STING, NLRP3, la proteína ASC y el factor de transcripción NF-κB en células mononucleares de individuos control y pacientes con COVID19; varía con respecto a la severidad de la enfermedad. Este estudio nos permitirá entender los posibles mecanismos patogénicos relacionados con respuesta inflamatoria durante la infección por el virus SARS-CoV-2.

### **3. HIPÓTESIS**

La expresión relativa de AIM2 se encuentra disminuida en pacientes COVID19 grave.

La expresión relativa de IFI16, cGAS, STING, NLRP3, ASC y NF-κB se encuentra elevada en pacientes COVID19 leve.

### **4. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la expresión relativa de AIM2, IFI16, cGAS, STING, NLRP3, ASC y NF-κB en pacientes con COVID19 leve y grave e individuos control.

#### **4.1. OBJETIVOS PARTICULARES**

**4.1.1** Seleccionar un grupo de pacientes que sean positivos para COVID19 mediante la prueba de PCR para SARS-CoV-2.

**4.1.2** Aislar RNAm de muestra de sangre de pacientes positivos y sujetos control.

**4.1.3** Determinar la expresión relativa de AIM2, cGAS, STING, IFI16, NLRP3, ASC y NF-κB mediante PCR en tiempo real.

**4.1.4** Análisis de asociación de parámetros antropométricos y genes relacionados con inflamación y la síntesis de IFN.

**4.1.5** Análisis de asociación de Lactato Deshidrogenasa (LDH) y Proteína C Reactiva (PCR) y genes relacionados con inflamación y la síntesis de IFN.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Criterios de inclusión.**

Personas con prueba para SARS-CoV-2 positiva, sexo indistinto edad entre 18 a 65 años. Sin diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado (LEG), Artritis Reumatoide (AR), influenza, dengue y/o cáncer. Las personas con prueba para SARS-CoV-2 positivas se clasificaron en dos grupos, con enfermedad leve y grave por los médicos especialistas de acuerdo con los criterios del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

### **5.2 Criterios de exclusión (no inclusión).**

Mujeres que presenten embarazo, fumadores, que padezcan alcoholismo, que no firmen el consentimiento informado y la imposibilidad de obtener la muestra por punción venosa.

### **5.3 Criterios de eliminación.**

Contaminación de la muestra durante el transporte y/o procesamiento, retiro de la carta de consentimiento a participar en el estudio.

### **5.4 Purificación de células mononucleares de sangre venosa periférica (PBMC).**

Se realizó una dilución de la sangre venosa periférica (1:1) con solución salina de fosfatos (PBS), después se colocó esta sangre sobre 3mL de Ficoll-Hypaque, se centrifugó a 2500rpm por 20 minutos.

Posteriormente se realizó la extracción de la capa de células mononucleares (PBMC), se lavó con PBS dos veces, y se centrifugó a 1500rpm por 7 minutos. Se contaron las células mononucleares en una cámara de Neubauer utilizando azul de tripano.

### **5.5 Extracción del ARN por la técnica de Trizol.**

El ARN total de PBMC se aisló utilizando el reactivo Trizol (Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts; EE. UU.), las células PBMC obtenidas de la purificación se les agregó 1ml de Trizol y se agitaron vigorosamente en el vortex.

Se incubó durante 15 segundos a temperatura ambiente, se agregó cloroformo grado biología molecular, se agitó durante 15 segundos en el vortex, se incubó 7 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugó a 11300 rpm por 15 minutos a una temperatura de 4°C.

Se obtuvo la fase acuosa, se agregó isopropanol frío y se mezcló por inversión 7 veces y se incubó a una temperatura de -20°C durante 24 horas, se centrifugó a 11300 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 4°C, se eliminó el sobrenadante por decantación y al pellet obtenido se le agregó etanol al 75 por ciento. Se centrifugó a 8300 rpm durante 12 minutos a una temperatura de 4°C, se eliminó el sobrenadante con pipetas y se procedió a secar el poco etanol en el aparato Savant 10 minutos para eliminar el etanol restante el pellet obtenido fue resuspendido en 30 uL de agua libre de DNAsas y RNAsas.

Finalmente se evaluó la concentración y la pureza del RNA obtenido en un espectrofotómetro Nanodrop ND 10000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EE. UU.), tomando en cuenta una relación de absorbancia 260/280. Un valor mayor a 1.8 se consideró aceptable. La integridad del ARN se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa.

### **5.6 PCR cuantitativa en tiempo real.**

Se utilizó 1 ug de ARN total para sintetizar ADNc usando Superscript II reverse transcriptasa (Invitrogen, Carlsbad, CA; EE. UU.) y cebador de hexámero aleatorio (Invitrogen, Carlsbad, CA; EE. UU.).

Los cebadores de PCR utilizados se diseñaron utilizando la herramienta bioinformática, PrimerQuest™ Tool de Integrated DNA Technologies IDT (Coralville, IA, EE. UU.) por Integrated DNA Technologies IDT, la secuencia de cada primer diseñado se encuentra en la tabla 2. La PCR cuantitativa en tiempo real se realizó utilizando iQ SYBR Green

Master Mix (BioRad) en un termociclador LightCycler 480 II de Roche (Indianápolis, EE. UU.).

Gen	Forward	Reverse
GAPDH	5'-CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC-3'	5'-AGTAGAGGCAGGGATGATGT-3'
AIM2	5'-TCGGCACAGTGGTTTCTTAG-3'	5'-GCTGAGTTTGAAGCGTGTTG-3'
cGAS	5'-GTATGTACCCAGAACCCTCAAG-3'	5'-GTCCTGAGGCACTGAAGAAA-3'
STING	5'-GGTGCCTGATAACCTGAGTATG -3'	5'-CTGTAAACCCGATCCTTGA-3'
NLRP3	5'-GAAGTGGACTGCGAGAAGTT-3'	5'-CGTTCGTCCTTCCTTCCTTT -3'
IFI16	5'-GGATGCAGATACTGAAGGAAGG-3'	5'-GAAACTGCTGCTTGGTGTG-3'
ASC	5'- CAGCTTCTACCTGGAGACCTA-3'	5'- CCGGTGCTGGTCTATAAAGTG-3'
NF-κB	5'-GAGACATCCTTCCGCAAAC-3'	5'-GGTCCTTCCTGCCATAATC-3'

**Tabla 2.** Secuencia de primers

El programa del ciclo de reacción. Las condiciones consistieron en un paso de precalentamiento a 95°C por 3 min, 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 seg, extensión a 60°C durante 60 seg. Cada muestra se analizó utilizando la versión de software LightCycler 480 1.5.0. La expresión relativa de cada gen se calculó utilizando el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  y se normalizó a GAPDH.

### 5.7 Análisis estadístico.

Los datos se analizaron utilizando Graph Pad Prism Software 5.0 (San Diego, California, EE. UU.). Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos. Se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para comparar las diferencias entre dos grupos y las correlaciones entre variables (AIM2, IFI16, cGAS-STING, NLRP3, NF-κB y ASC) en cada grupo se evaluó mediante el análisis de correlación de matriz de Spearman. Se crearon gráficos de correlación con los paquetes corrplot para R. Cuando se obtuvo un valor de  $p < 0.05$  se consideró significativo.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr Biol*. 2020;30(8):1578. doi:10.1016/j.cub.2020.03.063.
2. 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;12(1):8. doi:10.1038/s41368-020-0074-x.
3. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med*. 2020;28(2):174-84.
4. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
5. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):762-8. doi:10.1093/cid/ciaa248.
6. 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;180(7):934-43. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994.
7. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Moller R et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 2020;181(5):1036-45 e9. doi:10.1016/j.cell.2020.04.026.
8. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2620-9. doi:10.1172/JCI137244.
9. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020;369(6504):718-24. doi:10.1126/science.abc6027.

10. Choubey D, Duan X, Dickerson E, Ponomareva L, Panchanathan R, Shen H et al. Interferon-inducible p200-family proteins as novel sensors of cytoplasmic DNA: role in inflammation and autoimmunity. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2010;30(6):371-80. doi:10.1089/jir.2009.0096.
11. Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, Bauernfeind F, Horvath G, Caffrey DR et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*. 2009;458(7237):514-8. doi:10.1038/nature07725.
12. Broz P, von Moltke J, Jones JW, Vance RE, Monack DM. Differential requirement for Caspase-1 autoproteolysis in pathogen-induced cell death and cytokine processing. *Cell Host Microbe*. 2010;8(6):471-83. doi:10.1016/j.chom.2010.11.007.
13. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(2):99-109. doi:10.1038/nrmicro2070.
14. Zhang H, Luo J, Alcorn JF, Chen K, Fan S, Pilewski J et al. AIM2 Inflammasome Is Critical for Influenza-Induced Lung Injury and Mortality. *Journal of immunology*. 2017;198(11):4383-93. doi:10.4049/jimmunol.1600714.
15. Schattgen SA, Gao G, Kurt-Jones EA, Fitzgerald KA. Cutting Edge: DNA in the Lung Microenvironment during Influenza Virus Infection Tempers Inflammation by Engaging the DNA Sensor AIM2. *Journal of immunology*. 2016;196(1):29-33. doi:10.4049/jimmunol.1501048.
16. Dostert C, Petrilli V, Van Bruggen R, Steele C, Mossman BT, Tschopp J. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science*. 2008;320(5876):674-7. doi:10.1126/science.1156995.
17. Zhao C, Zhao W. NLRP3 Inflammasome-A Key Player in Antiviral Responses. *Frontiers in immunology*. 2020;11:211. doi:10.3389/fimmu.2020.00211.

18. Guarda G, Braun M, Staehli F, Tardivel A, Mattmann C, Forster I et al. Type I interferon inhibits interleukin-1 production and inflammasome activation. *Immunity*. 2011;34(2):213-23. doi:10.1016/j.immuni.2011.02.006.
19. Mishra BB, Rathinam VA, Martens GW, Martinot AJ, Kornfeld H, Fitzgerald KA et al. Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1beta. *Nat Immunol*. 2013;14(1):52-60. doi:10.1038/ni.2474.
20. Junqueira C CA, Ranjbar S, Ingber J, Parry B, Ravid S, de Lacerda B, Lewandrowski M, Clark S, Ho F, Vora SM, Leger M, Beakes C, Margolin J, Russell N, Gehrke L, Das Adhikari U, Henderson L, Janssen E, Kwon D, Sander C, Abraham J, Filbin M, Marcia B. Goldberg, Hao Wu, Gautam Mehta, Steven Bell, Anne E. Goldfeld, Judy Lieberman. SARS-CoV-2 infects blood monocytes to activate NLRP3 and AIM2 inflammasomes, pyroptosis and cytokine release. medRxiv preprint. 2021. doi:https://doi.org/10.1101/2021.03.06.21252796.
21. Wang PH, Ye ZW, Deng JJ, Siu KL, Gao WW, Chaudhary V et al. Inhibition of AIM2 inflammasome activation by a novel transcript isoform of IFI16. *EMBO Rep*. 2018;19(10). doi:10.15252/embr.201845737.
22. Ablasser A, Chen ZJ. cGAS in action: Expanding roles in immunity and inflammation. *Science*. 2019;363(6431). doi:10.1126/science.aat8657.
23. Woo SR, Corrales L, Gajewski TF. The STING pathway and the T cell-inflamed tumor microenvironment. *Trends Immunol*. 2015;36(4):250-6. doi:10.1016/j.it.2015.02.003.
24. Zhou Z, Zhang X, Lei X, Xiao X, Jiao T, Ma R et al. Sensing of cytoplasmic chromatin by cGAS activates innate immune response in SARS-CoV-2 infection. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):382. doi:10.1038/s41392-021-00800-3.
25. Zhang Y, Chen W, Wang Y. STING is an essential regulator of heart inflammation and fibrosis in mice with pathological cardiac hypertrophy via endoplasmic reticulum

(ER) stress. *Biomed Pharmacother.* 2020;125:110022. doi:10.1016/j.biopha.2020.110022.

26. Imai Y, Kuba K, Penninger JM. The discovery of angiotensin-converting enzyme 2 and its role in acute lung injury in mice. *Exp Physiol.* 2008;93(5):543-8. doi:10.1113/expphysiol.2007.040048.

27. Haga S, Yamamoto N, Nakai-Murakami C, Osawa Y, Tokunaga K, Sata T et al. Modulation of TNF-alpha-converting enzyme by the spike protein of SARS-CoV and ACE2 induces TNF-alpha production and facilitates viral entry. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(22):7809-14. doi:10.1073/pnas.0711241105.

28. Berthelot JM, Liote F. COVID-19 as a STING disorder with delayed over-secretion of interferon-beta. *EBioMedicine.* 2020;56:102801. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102801.

29. Berthelot JM, Drouet L, Liote F. Kawasaki-like diseases and thrombotic coagulopathy in COVID-19: delayed over-activation of the STING pathway? *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1514-22. doi:10.1080/22221751.2020.1785336.

30. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, Gockman K, Zuo M, Madison JA et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight.* 2020;5(11). doi:10.1172/jci.insight.138999.

31. Dell'Oste V, Gatti D, Giorgio AG, Gariglio M, Landolfo S, De Andrea M. The interferon-inducible DNA-sensor protein IFI16: a key player in the antiviral response. *New Microbiol.* 2015;38(1):5-20.

32. Yang CA, Huang YL, Chiang BL. Innate immune response analysis in COVID-19 and kawasaki disease reveals MIS-C predictors. *J Formos Med Assoc.* 2021. doi:10.1016/j.jfma.2021.06.009.

33. Pan P, Shen M, Yu Z, Ge W, Chen K, Tian M et al. SARS-CoV-2 N protein promotes NLRP3 inflammasome activation to induce hyperinflammation. *Nature communications.* 2021;12(1):4664. doi:10.1038/s41467-021-25015-6.

34. Ratajczak MZ, Bujko K, Ciechanowicz A, Sielatycka K, Cymer M, Marlicz W et al. SARS-CoV-2 Entry Receptor ACE2 Is Expressed on Very Small CD45(-) Precursors of Hematopoietic and Endothelial Cells and in Response to Virus Spike Protein Activates

the Nlrp3 Inflammasome. *Stem Cell Rev Rep.* 2021;17(1):266-77. doi:10.1007/s12015-020-10010-z.

35. Yalcinkaya M, Liu W, Islam MN, Kotini AG, Gusarova GA, Fidler TP et al. Modulation of the NLRP3 inflammasome by Sars-CoV-2 Envelope protein. *Scientific reports.* 2021;11(1):24432. doi:10.1038/s41598-021-04133-7.

36. Lokugamage KG, Hage A, de Vries M, Valero-Jimenez AM, Schindewolf C, Dittmann M et al. SARS-CoV-2 is sensitive to type I interferon pretreatment. *bioRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.03.07.982264.

37. Konno Y, Kimura I, Uriu K, Fukushi M, Irie T, Koyanagi Y et al. SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell Rep.* 2020;32(12):108185. doi:10.1016/j.celrep.2020.108185.

38. Wang S, Liu D, Ning W, Xu A. Cytosolic dsDNA triggers apoptosis and pro-inflammatory cytokine production in normal human melanocytes. *Exp Dermatol.* 2015;24(4):298-300. doi:10.1111/exd.12621.

39. Veeranki S, Duan X, Panchanathan R, Liu H, Choubey D. IFI16 protein mediates the anti-inflammatory actions of the type-I interferons through suppression of activation of caspase-1 by inflammasomes. *PloS one.* 2011;6(10):e27040. doi:10.1371/journal.pone.0027040.

## 7. GLOSARIO

**AIM2.-** Ausente en el melanoma 2.

**IFI16.-** Proteína inducible por interferón gamma 16.

**cGAS.-** GMP-AMP sintasa cíclica.

**STING.-** Proteína estimulador de genes de interferón.

**NLRP3.-** Proteína receptores tipo NOD 3.

**ASC.-** Proteína adaptadora asociada a la apoptosis.

**NF-κB.-** Complejo proteico que controla la transcripción del ADN.

**IFN.-** Interferón

**GSDMD.-** Gasdermina D.

**COVID19.-** Enfermedad de coronavirus 19

**SARS-CoV-2.-** Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2