

Revisión

# Investigando la dinámica del sistema inmunológico del COVID-19 Enfermedad para el diseño de vacunas y la reutilización de medicamentos utilizando herramientas bioinformáticas

Deepshikha Yadav <sup>1,2</sup> , Shriya Agarwal <sup>3</sup> , Pranav Pancham <sup>4</sup>, Divya <sup>4</sup>  Jindal, Vinayak Agarwal <sup>4</sup>   
, Premshankar Kumar Dubey <sup>1,2</sup>, Saurabh K. Jha <sup>5,\*</sup>, Shalini Mani <sup>4</sup>,  Rachana <sup>4</sup> , Abhijit Dey <sup>6</sup>   
, Niraj Kumar Jha <sup>5</sup> , Kavindra Kumar Kesari <sup>7,\*</sup>  y Manisha Singh <sup>4,\*</sup> 



Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Citación:** Yadav, D.; Agarwal, S.; Pancham, P.; Jindal, D.; Agarwal, V.; Dubey, P.K.; Jha, S.K.; Mani, S.; Rachana; Dey, A.; et al. Sondeando el Dinámica del sistema inmunológico de la Enfermedad COVID-19 para la vacuna Diseño y reutilización de fármacos Uso de herramientas bioinformáticas. *Immuno*

2022, págs. 2, 344–371. <https://doi.org/10.3390/immuno2020022>

Editor Académico: Juan Bautista De Sanctis

Recibido: 10 marzo 2022

Aprobado: 25 abril 2022

Publicado: 28 abril 2022

**Nota del editor:** MDPI se mantiene neutral con respecto a las reclamaciones jurisdiccionales en los mapas publicados y las afiliaciones institucionales.



**Copyright:** © 2022 por los autores. Licenciatario MDPI, Basilea, Suiza. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia Creative

<sup>1</sup> División de Metrología Físico-Mecánica, CSIR—Laboratorio Nacional de Física, Nueva Delhi 110012, India; deepshikha.yadav93@gmail.com (D.Y.); premkdubey@gmail.com (P.K.D.)

<sup>2</sup> Academia de Investigación Científica e Innovadora (AcSIR), Ghaziabad 201002, India

<sup>3</sup> Departamento de Ciencias Moleculares, Macquarie University, Sydney, NSW 2109, Australia; shriyaz.dd@gmail.com

<sup>4</sup> Departamento de Biotecnología, Instituto Jaypee de Tecnología de la Información (JIIT), Noida 201309, India; pranavpanchm@gmail.com (P.P.); divyajindal065@gmail.com (D.J.); vinayakagarwal37@gmail.com (V.A.); mani.shalini@gmail.com (S.M.); rachana.dr@iitbombay.org (R.)

<sup>5</sup> Departamento de Biotecnología, Escuela de Ingeniería y Tecnología, Universidad de Sharda, Gran Noida 201310, India; nirajkumarjha2011@gmail.com

<sup>6</sup> Departamento de Ciencias de la Vida, Presidency University, 86/1 College Street, Kolkata 700073, India; abhijit.dbs@presiuniv.ac.in

<sup>7</sup> Departamento de Física Aplicada, Escuela de Ciencias, Universidad de Aalto, 02150 Espoo, Finlandia

\* Correspondencia: saurabh.jha@sharda.ac.in (S.K.J.); kavindra.kesari@aalto.fi (K.K.K.); manishasingh1295@gmail.com (M.S.)

**Resumen:** La patogénesis de COVID-19 se complica por disfunción inmune. El impacto de la terapia basada en el sistema inmunitario en pacientes con COVID-19 ha sido bien documentado, con algunos estudios notables sobre el uso de medicamentos anticitoquinas. Sin embargo, la complejidad de los fenotipos de la enfermedad, la heterogeneidad de los pacientes y la calidad variable de la evidencia de los estudios de inmunoterapia proporcionan problemas en la toma de decisiones clínicas. Esta revisión busca ayudar a la toma de decisiones terapéuticas al proporcionar una visión general de las respuestas inmunológicas contra la enfermedad COVID-19 que pueden contribuir a la gravedad de la enfermedad. Hemos discutido ampliamente los métodos terapéuticos para la detección de COVID-19. Con los avances en la tecnología, la bioinformática ha llevado los estudios a un nivel superior. El documento también discute la aplicación de herramientas de bioinformática y aprendizaje automático para el diagnóstico, el diseño de vacunas y la reutilización de medicamentos contra el SARS-CoV-2.

**Palabras llave:** inmunoterapia; coronavirus; mutaciones virales; interferones; diseño de epítopos; diseño de vacunas; reutilización de fármacos

*Immuno* 2022, 2, 344–371. <https://doi.org/10.3390/immuno2020022>

<https://www.mdpi.com/journal/immuno>

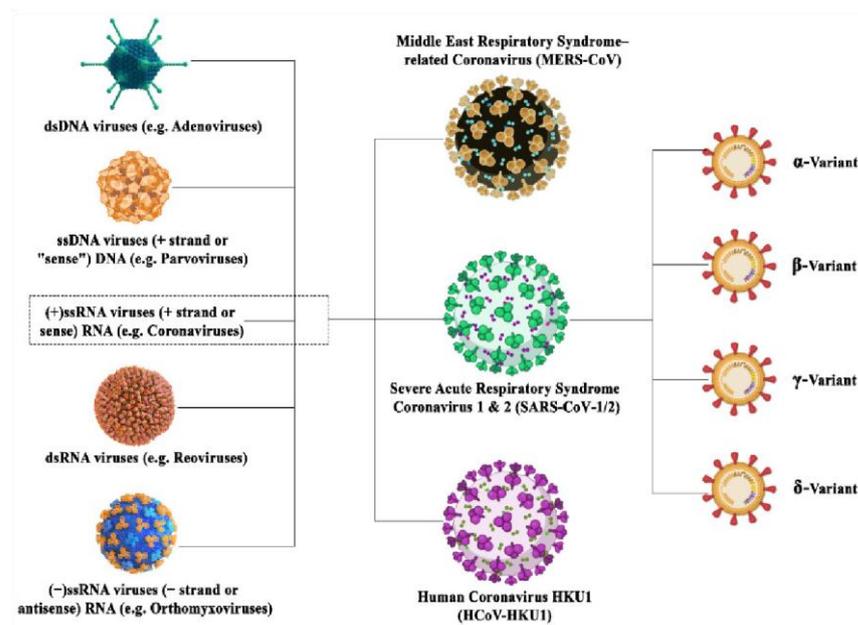
que se había iniciado originalmente en China en 2003 [1] y Arabia Saudita en 2012, respectivamente. El brote pronto se extendió a otros países causando una morbilidad y mortalidad

## 1. Introducción

La historia del nuevo coronavirus se remonta al siglo XIX cuando infectaba a los gatos y causaba fiebre alta y un vientre hinchado, lo que lo convierte en el primer caso reportado de infección por un coronavirus. En ese momento, también estaba infectando a otros animales, como cerdos y pollos, pero los médicos veterinarios no lo sabían. Fue solo después del descubrimiento de dos virus en el Reino Unido y los Estados Unidos, que poseen estructuras en forma de corona que causan el resfriado común en los humanos, que establecieron la relación entre los virus que infectan tanto a humanos como a animales, que tenían estructuras similares. Estos virus fueron estudiados bajo microscopios electrónicos y se concluyó que se asemejan a la "corona solar". El término "coronavirus" fue acuñado en 1968. El término se deriva de la palabra griega *κορωνα*, que significa corona para todo el grupo. Sin embargo, en nuestro siglo, los investigadores se han encontrado con CoV altamente patógenos como el SARS-CoV y el MERS-CoV, causando brotes

horribles. COVID-19 es el tercer brote de CoV registrado en la historia de los seres humanos. Esta nueva cepa de coronavirus (SAR-CoV-2) se detectó por primera vez en Wuhan en 2019, una ciudad en la provincia china de Hubei, y ahora se ha extendido a alrededor de 200 países. Este brote fue etiquetado como una pandemia mundial por la OMS en 2019. Hasta el momento se han identificado cuatro géneros de coronavirus ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), con coronavirus humanos (HCoV) detectados en los géneros coronavirus  $\alpha$  (HCoV229E y NL63) y coronavirus  $\beta$  (MERS-CoV, SARS-CoV, HCoV-OC43 y HCoV-HKU1) [2–6]. El coronavirus se está volviendo peligroso con el tiempo. La mortalidad por el virus se encuentra en su pico más alto, lo que ha llevado a la comunidad científica a recopilar la mayor cantidad de información posible sobre la biología del virus.

La familia del coronavirus es una familia de virus patógenos mortales y ha persistido durante los últimos 300 millones de años con la identificación de docenas de cepas de coronavirus hasta ahora como se menciona en la Figura 1. Sin embargo, solo se sabe que siete cepas infectan a los humanos y se sabe que cuatro cepas causan el resfriado común. Las cuatro cepas se han originado a partir de roedores (OC43 y HKU1) y murciélagos (229E y NL63). Más recientemente, se ha informado que en China se han identificado más de 500 CoV en murciélagos [7,8]. Las tres cepas más peligrosas, a saber, sars-coV, MERS-CoV y SAR-CoV-2, están dando lugar a enfermedades asociadas graves que infligen daños al tracto respiratorio, a saber, el síndrome respiratorio agudo grave (SARS), el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) y la COVID-19, respectivamente. El SARS-CoV-2 se ha originado a partir de murciélagos debido a la homología de secuencia de alrededor del 80% entre SAR-CoV-2 y SAR-CoV que se encuentra en los murciélagos. Además, los informes de análisis estructural afirman que este virus de ARN es mucho más grande que los miembros de su familia con un tamaño de alrededor de 125 nm, y posee los genomas más grandes (30 Kb de tamaño) con un contenido de GC del 32-43% [5,9-11]. La familia de los coronavirus consiste en virus envueltos que consisten en nucleoproteína (un ARN monocatenario de sentido positivo) encerrados dentro de una cápside que se compone de proteína de matriz. La envoltura consiste en proyecciones de glicoproteínas en forma de garrote. Poseen varios pequeños marcos de lectura abiertos (ORF) entrelazados entre genes conservados (ORF1ab, espiga, envoltura, membrana y nucleocápside) ubicadas aguas abajo del gen de la nucleocápside a través de diferentes linajes de corona. La familia del coronavirus se ha clasificado en tres grupos en función de sus similitudes antigénicas. Los dos primeros grupos constituyen los coronavirus de mamíferos, mientras que el tercer grupo constituye los coronavirus aviares [12-14]. Ahora, en el escenario actual, el mundo ha sido testigo de la asistencia técnica y la alternativa más rápidas, proporcionadas por las herramientas y programas de bioinformática (BI) no solo para identificar las características y la probable existencia del coronavirus mortal, sino también para desempeñar un papel esencial en la dirección de los enfoques terapéuticos contra las infecciones por COVID-19. Posteriormente, el enfoque CADD (Computer-Aided Drug Design) ha mostrado un desarrollo notable en la reutilización de medicamentos de varios medicamentos existentes en el mercado, así como en la identificación de nuevos compuestos antivirales. Además, las herramientas de BI ayudaron enormemente a localizar los datos del genoma viral, la predicción de proteínas-péptidos, proteínas-fármacos, acoplamiento proteína-proteína, la identificación de los epítomos antigénicos y las estructuras de anticuerpos junto con el desarrollo de vacunas, etc. En esta revisión, hemos tratado de resumir la utilidad y eficacia de las herramientas de BI en el desarrollo de diversos enfoques terapéuticos para combatir la situación de COVID-19.



**Figura 1.** La ilustración que representa las inclusiones familiares de diferentes variantes de coronavirus surgió en este siglo con sus subtipos.

**2. Mutaciones virales**

La replicación del virus conduce a amplias mutaciones en el genoma del SARS-CoV-2. Un muestreo de los genomas de las partículas de virión del SARS-CoV-2 produjo en su mayoría mutaciones que son neutras o ligeramente perjudiciales. Sin embargo, se producen mutaciones virales que podrían conferir aptitud al virus y pueden afectar la patogenicidad, infectividad, transmisibilidad y/o antigenicidad del virus [15]. El virus mutó a una tasa de aproximadamente dos mutaciones/mes desde diciembre de 2019 hasta octubre de 2020 [16,17]. A pesar de que el brote viral ha sido catastrófico, el virus ha adoptado un fenotipo más leve desde finales de mayo de 2020 [18]. Se ha demostrado que la mutación en el ORF-8 ha dado lugar a una cepa viral menos grave, esta región está involucrada en la evasión inmune y la delección de esta región condujo a una respuesta inmune robusta contra la variante. Esta eliminación podría haber sido seleccionada como resultado de la presión del sistema inmune del huésped. Esta delección coincide con la encontrada en el ORF-8 del virus SARS-CoV-1 [19]. Según la OMS, las mutaciones en el genoma viral que afectan la eficiencia del sistema inmune huésped se ha producido en varios países del mundo a finales de 2020. Las mutaciones pueden mejorar su capacidad para evadir la vigilancia inmune [20] por anticuerpos, evadiendo así la respuesta inmune humoral del cuerpo. Estos incluyen la B.1.1.7 (variante α), B.1.351 (variante β) y B.1.1.28 (variante E484K) del Reino Unido, la variante B.1.351/501.YV2 de Sudáfrica, la variante B.1.1.248/B.1.28/P1 de Brasil y la variante Cluster 5 que se encuentra en Dinamarca y los Países Bajos. Otra variante, omicron (BA. 1), se identificó por primera vez en Botswana y Sudáfrica a fines de noviembre de 2021 [21]. La variante B.1.351 tiene un dominio de unión al receptor mutado (RBD), que protege al virus contra los anticuerpos neutralizantes. Esta mutación conduce a tasas de transmisión más altas debido a la afinidad mejorada de la RBD hacia el receptor ACE-2. Aunque aún no se ha encontrado ninguna variante que confiera resistencia a la vacuna, el virus continuará acumulando más variaciones bajo la presión de la vacunación. Además de las variantes ya discutidas, se están examinando a fondo algunas variantes más, a saber, la variante P.2 en Brasil y la variante CAL.20C en California [22–24]. A finales de noviembre de 2021, se detectó la variante omicron del coronavirus con más de 32 mutaciones en la proteína espiga [25]. Más recientemente, se ha identificado otra cepa recombinante en el Reino Unido que es una recombinante del omicron/BA.1 y su subvariante BA.2. Según la OMS, ha sido nombrada la variante más transmisible hasta ahora [26]. Las regiones de las mutaciones encontradas en las diferentes variantes del SARS-CoV-2 se enumeran en la Tabla 1 a continuación.

**Tabla 1.** Regiones de mutaciones en las diferentes variantes del SARS-CoV-2.

| Tipo de variante | Región de mutaciones virales | Tipos de mutaciones | Referencias |
|------------------|------------------------------|---------------------|-------------|
|------------------|------------------------------|---------------------|-------------|

|                     |                 |  |      |
|---------------------|-----------------|--|------|
| α-variante          | Proteína espiga | 60–70 del, 145 del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H | [27] |
| β-variante          | Proteína espiga | K417N, E484K y N501Y   | [28] |
| Variante de Epsilon | Proteína espiga | S13I, W152C y L452R  | [29] |
| γ-variante          | Proteína espiga | K417T, E484K, N501Y  | [30] |
| Variante Eta        | Proteína espiga | Eliminación de E484K ΔH69/ΔV70                                       | [31] |
| Grupo 5             | Proteína espiga | eliminación de ΔH69/ΔV70   | [32] |

### 3. Adaptaciones al coronavirus

La cepa viral asesina SARS-CoV-2 ha surgido como un poderoso patógeno debido a sus sólidas adaptaciones que le permiten sobrevivir durante períodos más largos. El nuevo coronavirus ha sido categorizado como una de las enfermedades más contagiosas. Desde el inicio de COVID-19, ha sido un viaje increíblemente difícil encontrar una vacuna contra el virus. A diferencia de otros virus con altas tasas de mutación, se sabe que posee un sistema de corrección competente que le permite atacar a las células huésped en múltiples sitios y, entre ellos, el sistema respiratorio es el objetivo principal [33]. Es un hecho ampliamente conocido que la mayoría de los virus carecen de un mecanismo de corrección que, en última instancia, limita su capacidad para proteger su genoma contra las mutaciones. Sin embargo, el genoma del coronavirus es extremadamente estable debido a la presencia de un sofisticado sistema de corrección [33]. El virus adopta un proceso único que puede proteger contra las vacunas. Evolucionan a través del proceso de recombinación intercambiando secuencias de ARN con otro coronavirus. Cuando dos tipos de coronavirus distantes terminan en la misma célula, se someten a una recombinación. Esta recombinación genera una cepa viral mutada que posee la capacidad de infectar nuevos tipos celulares y transversales a otras especies [34,35]. Uno de los organismos favorables que albergan hasta 61 especies de coronavirus son los murciélagos y, por lo tanto, estos virus se recombinan dentro de los murciélagos sin infectarlos [36,37].

### 4. Diagnóstico de Coronavirus

Los pacientes infectados con el coronavirus sufren síntomas similares a la neumonía, que incluyen fiebre, dificultad para respirar, producción de esputo y mialgia o fatiga. El virus infecta principalmente el tracto respiratorio superior (URTI), junto con la infección de otros tejidos como el tracto digestivo (diarrea, falta de apetito, náuseas y vómitos), el sistema nervioso (confusión y dolor de cabeza) y el sistema cardiovascular (palma, dificultad torácica y lesión cardíaca) en el cuerpo [38]. A continuación se describen las diferentes técnicas utilizadas en el diagnóstico del SARS-CoV-2:

- Prueba de amplificación de ácido nucleico (NAAT): La metodología más fiable y precisa para la detección del SARS-CoV-2 es la prueba de amplificación de ácido nucleico (NAAT) [39,40]. El NAAT basado en laboratorio más popular es la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa [41,42]. Las muestras que se utilizan para el diagnóstico incluyen esputo, saliva, hisopos nasales, faríngeos y traqueales, lavado broncoal-alveolar, líquido de derrame pleural, sangre, heces y, a veces, orina y semen [6]. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la detección de una sola secuencia de ARN del coronavirus por RT-PCR es suficiente para la confirmación de la enfermedad. Esta prueba se utiliza para la detección cualitativa en tiempo real de ácidos nucleicos de patógenos virales sospechosos [43]. En caso de detección de SARS-CoV-2, el ácido nucleico (ARN) aislado de la muestra específica se transcribe primero en aDNc y luego se amplifica. Durante el proceso de amplificación, la sonda se convierte en una secuencia objetivo-específica ubicada entre los cebadores hacia adelante y hacia atrás. Durante la fase de extensión del ciclo de PCR, la actividad de la nucleasa 5' de la polimerasa Taq degrada la sonda unida, haciendo que el colorante reportero se separe del colorante quencher, generando una señal fluorescente. La intensidad de la fluorescencia se controla en cada ciclo de PCR [43]. Según la OMS, sobre la base de las primeras secuencias de SARS-CoV-2 disponibles en la base de datos GISAID el 11 de enero

En 2020, los cebadores y sondas (nCoV\_IP2 y nCoV\_IP4) se diseñaron para apuntar al gen RdRp que abarca nt 12,621–12,727 y 14,010–14,116 [44]. Los kits de prueba actuales pueden conducir a resultados falsos negativos porque la detección de COVID-19 en las

primeras etapas de la infección es un desafío debido al aislamiento inadecuado del ARN o a los métodos inadecuados para la detección.

- Tomografía computarizada (TC) de tórax: las tomografías computarizadas se utilizan para el diagnóstico y la obtención de imágenes de neumonía viral. Se ha utilizado ampliamente para el diagnóstico y tratamiento oportunos de otros brotes de coronavirus causados por SARS-CoV y MERS-CoV. Es una exploración confirmatoria que se utiliza para detectar cualquier falso negativo, ya que la detección robusta de COVID-19 es imprescindible para evitar estos falsos negativos porque una tomografía computarizada puede detectar la infección incluso antes de la manifestación de los síntomas que resultan en un tratamiento oportuno [39].
- Inmunoensayos serológicos: Existe una gran cantidad de inmunoensayos serológicos que detectan proteínas virales del SARS-CoV-2 y anticuerpos contra esas proteínas en el plasma o el suero. Las biomoléculas más populares detectadas por pruebas inmunológicas comerciales, como las pruebas de inmunoensayo de flujo lateral rápido (LFIA), el inmunoensayo de quimioluminiscencia automatizada (CLIA) y el ELISA manual y otros formatos son los anticuerpos IgM e IgG. Los anticuerpos se liberan en el torrente sanguíneo en la segunda semana de infección viral. La IgM y la IgG pueden detectarse dentro de los 10-30 días y 20 días posteriores a la infección, respectivamente [40]. El anticuerpo IgM revela una caída en la concentración, mientras que la IgG persiste en la circulación sistémica durante períodos prolongados y puede desempeñar un papel en la inmunidad adaptativa contra el SARS-CoV-2 en un posible segundo encuentro. Los kits ELISA contra las proteínas virales nucleocápside (NP) y espiga (SP) existen en el mercado, pero se utilizan principalmente solo con fines de investigación y desarrollo [45]. Los detalles de todas las técnicas de diagnóstico utilizadas para la detección del SARS-CoV-2 se resumen en la Tabla 2 a continuación:

**Tabla 2.** Pruebas diagnósticas para la detección del SARS-CoV-2.

| S. No. | Método de diagnóstico                       | Principio del método   | Muestra   | Hora Duración | Detectado Componente         | Referencias |
|--------|---|--|---|---------------|------------------------------|-------------|
| 1.     | RT-PCR                                      | Reacción en cadena de la polimerasa  | Hisopos esputo, saliva, nasales, faríngeos y traqueales, lavado broncoal-alveolar, líquido de derrame pleural, sangre, heces, orina y semen | 6–8 h         | ARN viral                    | [6,46,47]   |
| 2.     | PCR con sondas marcadas fluorescentemente   | Reacción en cadena de la polimerasa  | ARN   | 6–8 h         | ARN viral                    | [41]        |
| 3.     | Tomografía computarizada (TC) de tórax      | Radiografía  | Radiografía de tórax  | 30–60 minutos | Pequeños nódulos en el pecho | [48–50]     |
| 4.     | Inmunoensayo de flujo lateral rápido (LFIA) | Una muestra líquida que consiste en transportes de analito sin la ayuda de la acción capilar a través de 3 zonas de tiras poliméricas, sobre las cuales se unen moléculas que pueden interactuar con el analito. | Hisopo de garganta o esputo   |               | IgG                          | [51]        |

**Tabla 2.** Cont.

| S. No. | Método de diagnóstico | Principio del método | Muestra | Hora Duración | Detectado Componente | Referencias |
|--------|-----------------------|----------------------|---------|---------------|----------------------|-------------|
|--------|-----------------------|----------------------|---------|---------------|----------------------|-------------|

|     |   |  |                                       |               |  |  |         |
|-----|---|--|---------------------------------------|---------------|--|--|---------|
| 5.  | Inmunoensayo de quimioluminiscencia automatizado (CLIA) | Métodos quimioluminiscentes que utilizan marcadores de luminóforos | suero                                 |               |  | IgM e IgG anticuerpos  | [52]    |
| 6.  | Manual ELISA  | Interacciones específicas anticuerpo-antígeno                      | Saliva, suero, plasma                 | 5–6 h         |  | Anticuerpos IgG  | [53,54] |
| 7.  | Prueba rápida de antígenos                              | Inmunoensayo rápido de flujo lateral basado en membrana            | Saliva                                | 15–30 minutos |  | nucleocápside antígeno proteico de el coronavirus SARS-CoV-2 | [55]    |
| 8.  | Detección de niveles de dímero D                        | Coagulación  | Sangre                                | 1–2 días      |  | Concentraciones de dímero D                                  | [56]    |
| 9.  | Prueba de cultivo microbiano                            | NAAT (prueba de amplificación de ácido nucleico)                   | Ácidos nucleicos                      | 2–3 días      |  | Crecimiento viral  | [57]    |
| 10. | Antígeno de flujo lateral prueba                        | Inmunoensayo rápido de flujo lateral                               | Hisopo de garganta o esputo de ensayo | 30–60 minutos |  | Antígeno de proteína nucleocápside                           | [58]    |
| 11. | Prueba de anticuerpos neutralizantes                    | Rápido suero a base de membrana , flujo lateral inmunoenálisis     | hisopo de garganta o esputo           | 30–60 minutos |  | Anticuerpos neutralizantes                                   | [59]    |

#### 4.1. Dianas moleculares para kits de diagnóstico

Los biomarcadores específicos de la enfermedad pueden servir como herramientas de diagnóstico efectivas. Como resultado, se están diseñando kits de diagnóstico in vitro para la detección temprana del SARS-CoV-2. El receptor más común a través del cual el SARS-CoV-2 ingresa al sistema huésped es el receptor de la enzima angiotensinaconvertidora (ACE-2) que se encuentra abundantemente en el tracto respiratorio inferior [48–50]. La glicoproteína SP es un ligando viral que se une al receptor ACE-2 a través de su dominio de unión al receptor que se encuentra en una de las dos subunidades (S1) de la proteína SP (S1 y S2). S2, por otro lado, ayuda en la fusión de membranas [60,61]. Esta proteína SP sirve como objetivo de varios anticuerpos y vacunas neutralizantes. NP, una proteína de fósforo, es otro ligando viral importante que se produce y se divide en cantidades copiosas durante la infección viral [62]. Sin embargo, ambos ligandos virales, las glicoproteínas SP y NP, poseen una alta inmunogenicidad. La mayor cantidad de NP se detecta después de 10 días de infección viral que se puede detectar fácilmente mediante un inmunoensayo sándwich [63]. La proteína de membrana (MP) más abundante y la proteína de envoltura estructural (EP) más pequeña, que están involucradas en funciones virales importantes como el ensamblaje, la liberación y la patogénesis, también pueden servir como objetivos potenciales para los kits de detección viral [37,64–66].

#### Detección basada en dímeros D

La detección del dímero D se utiliza para el diagnóstico rápido de la infección por COVID-19, ya que la coagulación anormal está estrechamente asociada con su progresión. La gravedad de la infección puede determinarse por los niveles de dímero D, que son fragmentos de proteínas que se forman cuando hay coagulación de la sangre. Los niveles más altos de dímero D mostraron una mayor probabilidad de embolia pulmonar en pacientes con infección por COVID-19 [67].

Las ventajas y desventajas de las diferentes pruebas se describen en la Tabla 3 a continuación:

**Tabla 3.** Ventajas y desventajas de las diversas pruebas diagnósticas utilizadas para la detección del SARS-CoV-2.

| Técnica diagnóstica       | Ventajas   | Desventajas   | Referencias |
|---------------------------|--|---|-------------|
| NAAT                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta especificidad</li> <li>• Alta sensibilidad</li> <li>• Alta precisión</li> <li>• Capacidad para unirse a múltiples objetivos</li> <li>• permitir la detección de cepas virales mutadas</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Baja sensibilidad durante la infección temprana</li> <li>• Problemas de contaminación</li> <li>• Manejo de muestras que requiere mucho tiempo</li> <li>• Equipos caros, reactivos</li> <li>• Necesidad de personal capacitado</li> <li>• Detección variable del SARS-CoV-2 en función del tipo de muestra clínica</li> <li>• Resultados falsos negativos en función del momento de la recogida de la muestra o del aislamiento inadecuado del material genético</li> <li>• Cambios en la precisión diagnóstica a lo largo de la enfermedad</li> <li>• Largos tiempos de respuesta que no impiden la transmisión</li> </ul> | [68,69]     |
| Tomografía computarizada  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Detección precoz de la infección</li> <li>• Alta precisión</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• También se observan múltiples opacidades bilaterales de vidrio esmerilado en las zonas pulmonares inferiores periféricas en pacientes con infecciones por SARS-CoV y MERS-CoV</li> <li>• Falsos positivos, debido a otras causas similares a la neumonía</li> <li>• Gripe estacional</li> <li>• La tomografía computarizada normal da como resultado ciertos</li> <li>• Pacientes con COVID-19</li> <li>• La naturaleza contagiosa de la enfermedad elimina la atención médica</li> <li>• proveedores y otros pacientes en riesgo de infección</li> </ul>  | [70,71]     |
| Inmunoensayos serológicos | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bajo costo</li> <li>• Tiempos de detección rápidos</li> <li>• Las pruebas rápidas permiten el control de brotes</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Falta de especificidad que conduce a falsos positivos debido a la presencia de reactividad cruzada con otros coronavirus</li> <li>• Baja precisión</li> <li>• Falta de evaluación rigurosa de la técnica</li> </ul>  | [72]        |

**4.2. Efecto de las mutaciones virales en la precisión de las pruebas diagnósticas**

Dado que el virus acumula mutaciones a lo largo del tiempo, el análisis de los datos secuenciados de vez en cuando es fundamental para evaluar su efecto en las pruebas diagnósticas [73]. Si las pruebas dan continuamente resultados falsos negativos, el genoma viral debe secuenciarse inmediatamente para detectar cualquier mutación que pueda ser responsable de la misma. Además, el popular NAAT está diseñado de una manera que permite la vinculación a múltiples objetivos. Por lo tanto, incluso si se produce una mutación en un sitio objetivo, la prueba continuará funcionando [74]. Por ejemplo, la ampliamente conocida falla objetivo del gen S/S-gene de la prueba TaqPath de Thermo Fisher puede conducir a resultados falsos negativos como consecuencia de la mutación Δ69/70 en el gen Spike. Sin embargo, la prueba continúa entregando resultados precisos debido a la presencia de cebadores específicos para otros dos genes objetivo. A pesar de que la evolución viral es inevitable, la provisión de unión de múltiples objetivos en la mayoría de las pruebas de diagnóstico funciona como una bendición en la lucha contra la pandemia. Además, la falla del gen S ocurrió en la detección de la variante B.1.1.7, y la mayoría de las pruebas de diagnóstico basadas en PCR no se dirigen al gen S, e incluso si lo hacen, funcionan

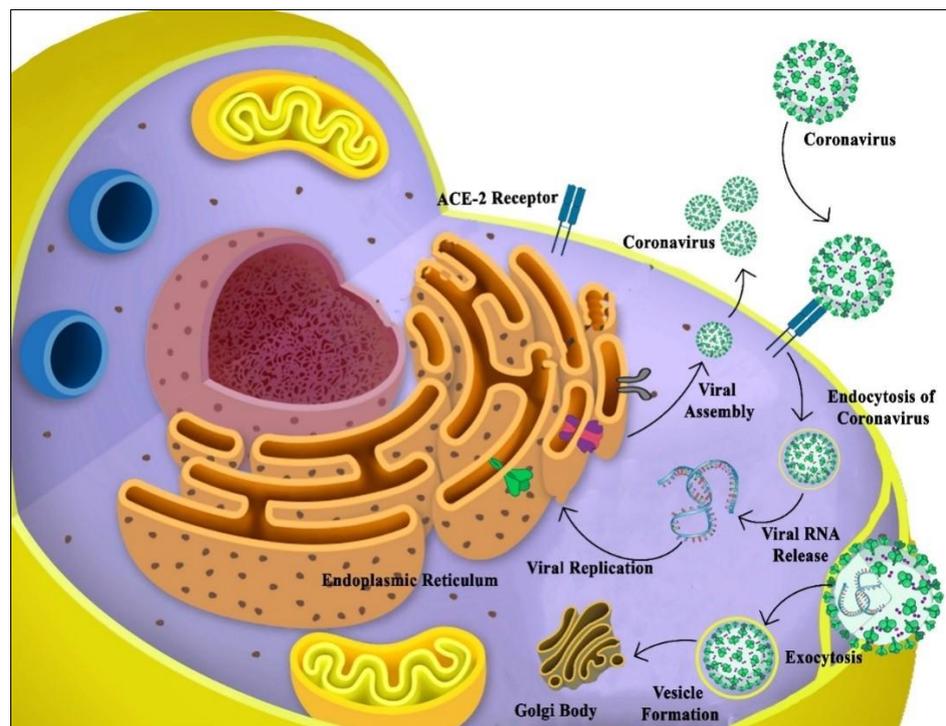
contra múltiples objetivos. La falla del gen S se está utilizando ampliamente para detectar variantes de resultados positivos de PCR, si se produce la falla del gen S, el genoma se secuenciaría para identificar las posibles mutaciones en el gen S. Sin embargo, el gen S no es la única mutación que afecta a las pruebas de diagnóstico, y se han reportado casos de falla objetivo como resultado de mutaciones en otros genes [75]. Por lo tanto, la secuenciación es una herramienta importante para frenar el problema de la falla de las pruebas de diagnóstico.

### **5. Transmisión del coronavirus**

La transmisión de este virus mortal ocurre a través del aire cuando una persona infectada estornuda o tose, o incluso habla. Las microgotas producidas en el tracto respiratorio viajan a través del aire y entran en contacto con la(s) otra(s) persona(s), que tienen una vida útil de aproximadamente media hora. Las gotas están mezcladas con viriones y pueden entrar en el huésped, lo que finalmente provoca una infección [76]. A pesar de que el virus puede persistir en aerosoles durante solo media hora, todavía se asienta en las superficies más tarde y puede persistir durante períodos de tiempo más largos, hasta 72 h dependiendo del tipo de superficie con la que entre en contacto, como acero, cartón, plástico, etc. [76]. Alrededor del 80% de los casos de COVID-19 son asintomáticos (síntomas leves-moderados), el 15% de los casos progresan a neumonía y solo alrededor del 5% de los casos resultan en síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), shock séptico y / o insuficiencia orgánica múltiple. El principal receptor de la superficie celular para el coronavirus a través del cual ingresa a la célula huésped es el receptor ACE-2. El receptor ACE-2 está disperso por todo el cuerpo humano, pero está presente abundantemente en los epitelios del pulmón y el intestino delgado, sirviendo como rutas para la entrada viral [77].

### **6. Mecanismo de entrada viral en el huésped**

El principal receptor de la superficie celular para el coronavirus a través del cual ingresa a la célula huésped es el receptor ACE-2. El coronavirus es competente para hacerse cargo de la maquinaria del huésped al unirse al receptor ACE-2. El complejo viral receptor se endocitosa dentro de la célula donde el material genético viral se libera dentro de la célula huésped y se replica. El ARN se traduce en las proteínas virales esenciales que se ensamblan para formar partículas virales y se liberan del aparato de Golgi en forma de vesículas. Una vez liberadas, las partículas virales se exportan fuera de la célula y, finalmente, comienzan a infectar a otras en el mismo orden. El mecanismo de entrada viral en el sistema huésped se representa en la Figura 2.



**Figura 2.** Diagrama que representa el mecanismo por el cual el coronavirus se infiltra en el sistema humano seguido de su replicación y propagación.

**7. Desencadenante inmunogénico en respuesta al coronavirus**

Las células inmunes están constantemente inspeccionando el cuerpo para verificar si hay algún antígeno extraño que pueda haber ingresado al sistema. El virus es patógeno y puede evadir la vigilancia inmune al residir dentro de la célula. Una vez que entra, el virus secuestra la maquinaria del huésped y se somete a replicación, traducción y ensamblaje [78]. El sistema inmunológico es un sistema altamente evolucionado y complejo. Varios mecanismos trabajan juntos para eliminar estos patógenos del sistema. Una forma de deshacerse del virus es a través de las principales proteínas del complejo de histocompatibilidad I (MHC). Las moléculas MHC-I presentan proteínas virales a una clase especializada de células conocidas como "células T citotóxicas" (células T<sub>c</sub>). Las células T<sub>c</sub> llevan un receptor llamado receptor de células T (TCR) que puede reconocer antígenos peptídicos unidos a proteínas MHC de clase I. Luego, el receptor informa a la célula T de una posible infección que mata a la célula infectada mediante la liberación de diferentes moléculas asesinas [79].

Estas moléculas asesinas incluyen perforinas, granzimas, granulinas y citoquinas como interferones y factores de necrosis tumoral (TNF) [80]. Los interferones son particularmente efectivos contra los virus, ya que inducen propiedades antivirales y actúan como moléculas de señalización al informar a las células vecinas de una posible infección viral [81,82]. La infección por coronavirus desencadena la respuesta inmune innata y adaptativa. A pesar de que una respuesta inmune rápida y bien organizada es necesaria para deshacerse del virus [83,84], una respuesta inflamatoria extrema y una respuesta inmune adaptativa mal regulada hacen más daño que bien. Infligen lesiones tisulares sistémicas y en el sitio (entrada viral) [85].

*7.1. Características distintivas de la respuesta inmune a la COVID-19*

La respuesta proinflamatoria conduce a la infección pulmonar aguda y al SDRA, que son los principales factores responsables de la alta tasa de mortalidad por infección por coronavirus. El evento distintivo de la respuesta inmune contra COVID-19 es el resultado de citoquinas desencadenadas por las moléculas proinflamatorias. Una plétora de citoquinas (IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-

12, IL-18, IL-33, TNF- $\alpha$ , TGF $\beta$ , etc.) y las quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.) se liberan debido a esta respuesta. Esta desregulación inmune juega un papel importante en la definición de los efectos secundarios dañinos de la infección por coronavirus que puede causar la muerte. Por lo tanto, comprender el mecanismo inmune exacto es esencial para prevenir el progreso de la enfermedad de una etapa leve a una grave [84,86,87].

### 7.2. La interacción entre la producción de interferones y las citoquinas inflamatorias

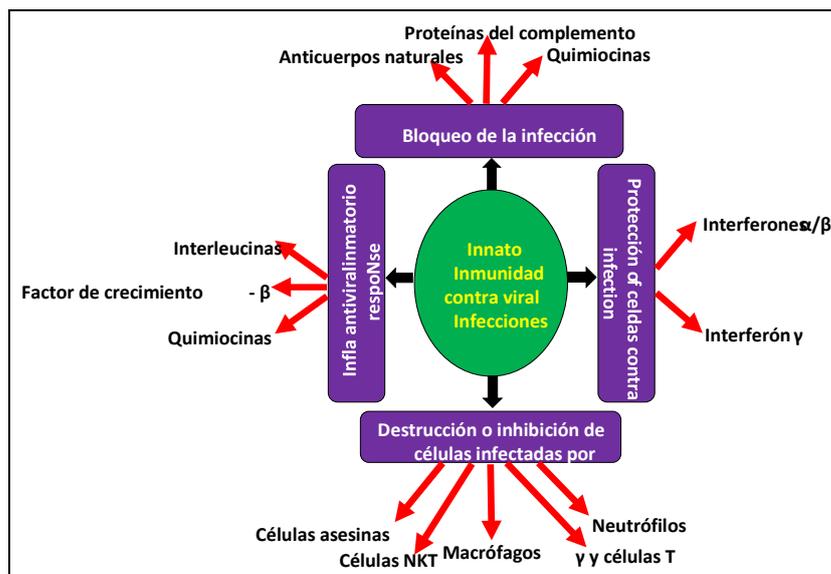
La infección por COVID-19 involucra las células del tracto respiratorio superior, principalmente las células del epitelio bronquial y los neumocitos [88]. El virus entra en los neumocitos del epitelio alveolar uniéndose al receptor ACE 2 [89]. Inmediatamente después de entrar en el huésped, el sistema inmune responde y regula a la baja la expresión de los receptores ACE-2 induciendo la autofagia y separando la membrana basal. Además de esto, el sistema inmunológico desencadena la liberación de interferones. Como estrategia de combate, los viriones se producen en grandes cantidades, lo que resulta en la propagación de la infección a las células vecinas y la circulación sistémica, ya que los receptores ACE-2 se expresan en muchos tipos de tejidos [90–93].

La patogénesis viral se caracteriza por dos eventos principales, uno es la caída en la producción de interferones, principalmente IFN-I e IFN-III, y la sobreexpresión de diferentes citoquinas inflamatorias, como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF e IL1RA [87]. El SARS-CoV-2 es único en evadir el sistema inmunitario al regular a la baja la producción de interferones, que son los mediadores antivirales más importantes, y también posee la capacidad de replicarse dentro del tejido pulmonar, rasgos que otros coronavirus no poseen [87,94].

Las interleucinas se liberan en cantidades abundantes y tienen un gran impacto en el proceso de inflamación y la gravedad de los síntomas de COVID-19 se rige por la liberación de interleucinas (IL-1 $\beta$  e IL-8) y TNF- $\alpha$  [87,95].

Un estudio de Carty et al. [96] mostró la contribución de la vía IL-1 en la patogénesis de COVID-19. Las citoquinas como IL2, IL6, TNF, IFN $\alpha$ 1/13, IL1A, IL1B y el receptor IL1 se sobreexpresaron solo en pacientes infectados en comparación con individuos sanos [97].

Aparte de esto, el sistema inmune innato consiste en un receptor de reconocimiento especializado conocido como receptores tipo toll expresados por una variedad de tipos de células, incluidas las células dendríticas (DC), macrófagos, linfocitos y células parenquimatosas que están involucradas en el reconocimiento de patrones específicos que se encuentran en la superficie de los patógenos [98]. Diferentes tipos de TLR se unen a productos virales específicos que pueden incluir ADN monocatenario (TLR3 y 8) o ADN de doble cadena (TLR9). Además de los TLR, la caja DExD/H y las helicasas de ARN también están involucradas en la identificación de patógenos virales. Se sabe que estimulan la expresión de interferones de tipo I (IFN) y una variedad de genes estimulados por IFN y citoquinas inflamatorias [99]. La inmunidad innata contra las infecciones virales por reposos inflamatorios antivirales, el bloqueo de la infección, la protección de las células contra la infección y la destrucción o inhibición de las células infectadas por el virus se representan en la Figura 3.



**Figura 3.** Representación esquemática de la inmunidad contra patógenos virales.

**Mecanismo de acción de los interferones**

Del mismo modo, también se ha informado que la respuesta inmune innata al ataque viral está mediada por proteínas especializadas conocidas como interferones que se unen a los receptores IFN tipo II y dan como resultado un estado antiviral. Estimulan la expresión de más de 100 genes IFN estimulados, y los eventos posteriores impulsan el fenómeno del estado antiviral que es responsable de la inhibición de la síntesis de proteínas en la célula infectada. Esto causa la detención de la replicación viral a medida que el virus se multiplica al piratear la maquinaria de síntesis de proteínas de la célula huésped. Además de esto, los IFN de tipo I también activan las células asesinas naturales (NK) y producen citoquinas que eventualmente desencadenan las respuestas antivirales mediadas por células NK [100].

Las células NK son una clase importante de células especializadas que están involucradas en la producción de citoquinas proinflamatorias. Matan las células infectadas e interactúan con las células dendríticas, actuando así como un componente importante de la respuesta inmune innata contra las infecciones virales [101].

**7.3. Papel del inflammasoma en la causa de la inflamación**

La infección por SARS-CoV-2 conduce a la activación del inflammasoma citoplasmático NLRP3 (Tabla 1). La activación del inflammasoma en macrófagos, células epiteliales y, a veces, células endoteliales libera citoquinas proinflamatorias, interleucina (IL)-1β e IL-18, que contribuyen a la inflamación patógena responsable de la gravedad de los síntomas de COVID-19 [102,103]. Además, la detección de ARN viral por receptores tipo toll (TLR)3, TLR7, TLR8 y TLR9 activa la vía de señalización NF-κB y varias citoquinas proinflamatorias con un papel importante en el inicio de la inflamación inducida por virus [104,105].

**7.3.1. Marcadores histopatológicos de inflamación**

Las observaciones histopatológicas de lesiones pulmonares en casos de SARS no solo muestran respuestas inflamatorias inespecíficas como edema e infiltración de células inflamatorias, sino que también exhiben una exfoliación severa de células epiteliales alveolares, ensanchamiento septal alveolar, daño a los septos alveolares e infiltración del espacio alveolar de una manera claramente organizada. La infección por SARS-CoV-2 puede causar cambios patológicos, como degeneración, infiltración e hiperplasia. El daño a las paredes arteriolas intersticiales pulmonares indica que la respuesta inflamatoria juega un papel importante en toda la enfermedad. Estos hallazgos sugieren que la capacidad innata del cuerpo para responder a la

infección juega un papel esencial en la inflamación de la enfermedad junto con la patogénesis viral [106,107].

#### 7.3.2. Papel del desencadenante de inflamación de patrones moleculares asociados al daño (DAMP)

Otra molécula que es responsable de causar inflamación en el tracto respiratorio superior después de la infección por COVID-19 es DAMP. Se libera solo en condiciones estresantes e induce inflamación por su unión al receptor P2X / P2Y. Además, DAMP también actúa a través de la activación del inflamasoma NLRP3, lo que lleva a la activación de la caspasa-1, para la producción de IL-1, que es una potente citoquina proinflamatoria [108-110].

#### 7.4. Papel del sistema inmune adaptativo frente a la COVID-19

Los síntomas graves se deben a una respuesta inmune desequilibrada. El sistema inmune adaptativo se dirige al virus patógeno mediante la liberación de anticuerpos específicos para la infección y células T citotóxicas que se defienden contra invasores extraños. Un estudio realizado por Clay et al. [90,111] mostró que en un modelo de infección de primates sars-CoV, a pesar de que el virus se replica en los pulmones durante 10 días de infección subsiguiente, la inflamación fue más evidente después del aclaramiento viral con un pico en el día 14 posterior a la infección hasta el día 28. Estos hallazgos indican que la fase temprana depende de la presencia viral, pero una fase viral independiente ocurre en una etapa mucho más tardía del aclaramiento post-viral que se caracteriza por la inflamación. Esta etapa independiente viral ocurre debido a la dispersión del epítipo, que es el resultado de la destrucción prolongada del tejido por el virus. Es necesario realizar estudios para mostrar si también se produce una progresión similar en dos fases en el caso de COVID-19. Las partículas virales son atacadas por linfocitos B y T del sistema inmune adaptativo. Hay una interacción dinámica que ocurre a nivel celular, donde los péptidos virales son presentados por las moléculas MHC clase 2 a las células T CD8 + que afectan significativamente el aclaramiento viral al actuar como asesinos. Este encuentro a través de las moléculas MHC de la partícula viral induce la activación de las células CD8 +, lo que lleva a su división y expansión clonal en efectores específicos del virus y células T de memoria. Las partículas virales se presentan a las células T CD4+ en un mecanismo similar a través de la molécula MHC clase 1. Las células B pueden identificar antígenos virales e interactuar con CD4+ Células T [112].

El anticuerpo IgM se libera dentro de una semana de la infección viral, seguido de la liberación del anticuerpo IgG que se traduce en inmunidad de por vida contra el virus. Las proteínas estructurales del SARS-CoV-2 comparten similitudes genéticas con el SARS-CoV, como los epítipos de células B y T con similitudes del 23% y 16%. Es necesario desarrollar una posible vacuna, teniendo en cuenta epítipos similares. La vacuna debe ser capaz de provocar una fuerte respuesta inmune contra el virus mediante la activación de las células B y T del sistema inmune adaptativo, lo que lleva al desarrollo de inmunidad de por vida contra el virus [113].

Pocos estudios sugieren el papel de los anticuerpos (locales y circulantes) en la protección contra el coronavirus. Muchos estudios demostraron la vida útil de los anticuerpos, con algunos estudios que indican que es de 5 a 6 meses y otros sugieren que dura al menos un año. Sin embargo, es necesario trabajar en estudios detallados para deducir la vida útil exacta de los anticuerpos y comprender la cinética de la producción de anticuerpos [59,114]. La transferencia del virus a las células vecinas ocurre directamente, a partir de la interacción célula-célula sin entrada en el entorno extracelular, considerando que las células T actúan como las principales células inmunes que pueden controlar la infección en lugar de los anticuerpos circulantes [115].

#### 7.5. Daño a los linfocitos T infligido por COVID-19

El coronavirus es poderoso para incapacitar el sistema inmunológico al dañar los linfocitos T. Un estudio realizado por Qin et al. [116] mostró que 452 pacientes con COVID-19 que fueron sometidos a examen se dividieron en dos grupos según la gravedad de sus síntomas. Hubo una elevación en el número de biomarcadores relacionados con la infección (es decir, procalcitonina,

velocidad de sedimentación de eritrocitos, ferritina sérica y proteína C reactiva) y citoquinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , interleucina (IL)-2R e IL-6). Hay una diferencia en los recuentos de células sanguíneas entre el grupo grave y el no grave, los casos graves exhiben recuentos más altos de leucocitos y neutrófilos con una mayor proporción de neutrófilos a linfocitos y recuentos de linfocitos más bajos. El recuento de células CD4 + se redujo significativamente en casos graves, sin embargo, los recuentos de CD8 + y células B se mantuvieron constantes en todo momento. La reducción de los linfocitos T es responsable de la respuesta inmune adaptativa comprometida contra COVID-19 [116]. La alta proporción de neutrófilos a linfocitos se considera una característica de la inflamación sistémica y también como un indicador de infección bacteriana [117]. Se han observado altos niveles de citoquinas proinflamatorias y quimiocinas en el caso de la infección por SARS-CoV y MERS-CoV, lo que corrobora los altos niveles en caso de infección por SARS-CoV-2 [86,87].

#### *7.6. Diferencias basadas en el género en la respuesta inmune frente a la COVID-19*

Existen diferencias basadas en el género, ya que el cuerpo humano percibe y responde de manera diferente al virus COVID-19. Los datos mundiales sugieren que los hombres sufren más de enfermedades del sistema respiratorio, incluidas las causadas por infecciones virales agudas, mientras que las mujeres son menos propensas a infectarse con un virus, debido a las diferencias en sus sistemas inmunes innatos y adaptativos. Se sabe que las hormonas sexuales regulan los mecanismos de defensa innatos del cuerpo. En el caso de la infección por COVID-19, las diferencias de género influyen en la respuesta inmune antiviral, la morbilidad, la transmisión y la patogénesis. La hormona estrógeno modula los receptores de citoquinas y regula la producción de citoquinas proinflamatorias [118,119]. La liberación de citoquinas es responsable de la patogénesis de COVID-19. El estrógeno influye en la respuesta inmune al unirse al receptor de estrógeno (ER  $\alpha$  o  $\beta$ ) [120], el receptor ER- $\alpha$  se encuentra en todas las células inmunes. La unión del estrógeno al receptor ER- $\alpha$  en las células inmunes resulta en su maduración y regulación y esta unión también desencadena la liberación de interferones que induce la activación de las células NK, ejerciendo un efecto protector inmunológico [120,121]. Por lo tanto, el sistema inmunológico puede ser modulado por la hormona estrógeno que se une a la ER  $\alpha$  o  $\beta$  receptores. La  $\beta$  ER tiene efectos opuestos a la  $\alpha$  ER y está involucrada en fenómenos proinflamatorios [122]. La pérdida de  $\alpha$  de ER en mujeres mayores conduce a la inmunosupresión, lo que demuestra que el estrógeno puede proteger contra COVID-19 [123,124].

COVID-19 provoca esta tormenta de citoquinas al interactuar con los TLR expresados en la superficie de las células del sistema inmune innato, incluidos los macrófagos, los mastocitos y las células dendríticas. Esta cascada de señalización desencadena la liberación de citoquinas y quimiocinas al promover la vascularización. Todos estos eventos conducen colectivamente a un empeoramiento del paciente, lo que resulta en la manifestación de síntomas graves. Es bien sabido que uno de los cromosomas X en las mujeres está inactivado; sin embargo, el único cromosoma X activado es el único responsable de estimular el sistema inmunológico en las mujeres. El cromosoma X regula la respuesta a las infecciones virales modulando la función de varios receptores como FOXP3, TLR7, TLR8, CD40L y CXCR3 dando lugar a su sobreexpresión en las mujeres [125]. Además, la comparación de la respuesta inmune en mujeres con hombres puede exhibir un comportamiento inmune alterado en términos de mostrar cargas virales plasmáticas más bajas, células T CD4 + más altas y niveles de anticuerpos más altos con una vida útil más larga [126]. Además, las hormonas sexuales también gobiernan la activación de las células inmunes mediante la activación de TLR7, causando la liberación de interferones que induce el estado antiviral y alerta a las células inmunes sobre una posible infección viral que debe eliminarse. Las hormonas sexuales femeninas son más competentes en la activación de las células inmunes en comparación con los hombres. La activación de las células inmunes resulta en la liberación de citoquinas que son críticas para activar las células T citotóxicas.

Sin embargo, las citoquinas son las principales responsables de la inflamación, que es un rasgo característico del agravamiento de la enfermedad COVID-19. A pesar de que la acción de las

hormonas sexuales en las mujeres resulta en una respuesta inmune altamente potente, hay altas posibilidades de desarrollar trastornos autoinmunes e inflamatorios. La respuesta autoinmune en el caso de las mujeres se debe a la sobreexpresión de TLR7 pero permite que el sistema sea menos sensible a las infecciones virales [127].

### *7.7. Contribución de las herramientas bioinformáticas para el diseño de enfoques teranósticos*

Como se discutió anteriormente, el sistema inmunológico es un sistema complejo con innumerables células que actúan de manera única para atacar a los invasores potenciales. Comprender el complejo sistema humano es un proceso laborioso y lento. La biología computacional viene al rescate aquí, años de arduo trabajo han llevado a ciertos modelos matemáticos que pueden predecir motivos inmunogénicos en el patógeno objetivo. Estos modelos pueden predecir la interacción de las células B o T con regiones específicas del patógeno. Este progreso en la biología computacional ha permitido a la comunidad científica diseñar una vacuna contra virus a tasas récord. Si uno conoce la secuencia del genoma objetivo, los investigadores pueden obtener un posible candidato a vacuna en un corto período de tiempo. La acumulación de mutaciones y la selección natural a lo largo de millones de años han fortalecido el sistema inmunológico en términos de diversidad y adaptabilidad, lo que le permite enfrentar cualquier problema que pueda existir. A pesar de que existe una comprensión profunda del sistema inmunológico del ratón, pero el sistema inmunológico humano está lejos de nuestra comprensión y necesita ser estudiado paso a paso. La biología computacional nos proporciona las herramientas relevantes necesarias para descifrar el sistema inmunológico. Esta necesidad urgente de decodificar el sistema inmunológico condujo al desarrollo de un campo distinto de "Inmunología de Sistemas". Es un campo de la biología de sistemas que utiliza enfoques matemáticos y métodos computacionales para evaluar las interacciones dentro de las redes celulares y moleculares del sistema inmune [128]. Debido al aumento de los casos de COVID-19, el enfoque de los investigadores se ha desplazado hacia la comprensión de la evolución y la patogénesis del virus. Están trabajando rigurosamente para decodificar la evolución de la secuencia a nivel genómico y proteómico a través de modelos filodinámicos y epidemiológicos para el diseño de posibles candidatos a fármacos [129].

La bioinmunoinformática es una rama de la bioinformática que utiliza enfoques matemáticos y computacionales para desarrollar datos inmunológicos y hacer predicciones sobre la inmunidad y la patogénesis de enfermedades. Las células B identifican epítopos específicos de patógenos y se pueden utilizar herramientas computacionales para predecir los epítopos que pueden ser reconocidos por las células inmunes. El proceso para modelar las secuencias de péptidos inmunogénicos implica la búsqueda de la secuencia COVID-19 disponible para todos los marcos de lectura abiertos (ORF), el mapeo y la detección de la expresión.

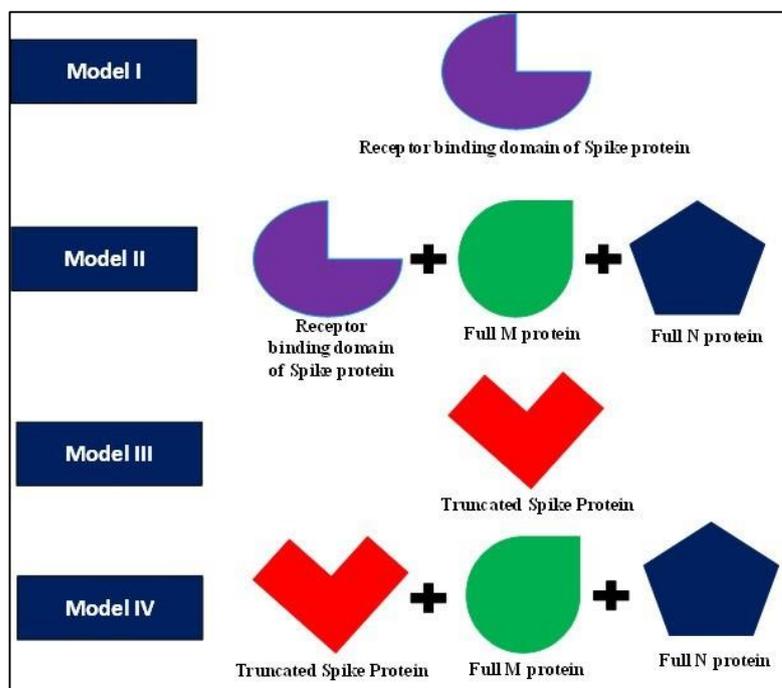
En el caso del diseño de vacunas convencionales, los patógenos atenuados o desarmados deben haber sido cultivados a gran escala para atender a la enorme población mundial. También se debe evaluar la antigenicidad de los agentes. Sin embargo, este es un proceso que consume mucho tiempo y puede tardar varios años en completarse. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de métodos que sean rápidos, efectivos y seguros para el desarrollo de vacunas. La tecnología de ADN recombinante se está utilizando junto con herramientas de BI para la validación y el análisis de posibles motivos antigénicos. Además del diseño de vacunas a través de la predicción de antígenos mediante BI, la reutilización de medicamentos existentes también es otra solución para resolver problemas en la situación de COVID-19, ya que no hay medicamentos antivirales aprobados contra COVID-19 [130].

### *7.8. Diseño de epítopos: el proceso*

El virus se vuelve infeccioso una vez que ingresa a la célula huésped y la entrada viral es asistida por el SP [131]. Sobre la base de estudios anteriores sobre los virus SARS y MERS, esta proteína se ha convertido en altamente inmunogénica capaz de inducir una fuerte respuesta inmune. A pesar de que la mayoría de los estudios han diseñado fármacos basados en la proteína

S, las mutaciones han surgido como el principal bloque en su desarrollo. Por lo tanto, es importante tener otras opciones a mano. Las vacunas se han diseñado incorporando otras proteínas COVID-19 como las proteínas N y M, proteínas accesorias, etc. Además, en un estudio realizado por Sikora et al. [132], se realizaron estudios de acoplamiento in silico para identificar posibles sitios de unión a anticuerpos en un sistema de 4,1 millones de átomos que contiene un parche de la membrana viral con cuatro proteínas S de longitud completa, totalmente glicosiladas y palmitoiladas. Identificaron nueve epítopos mediante la generación de una puntuación de epítipo de consenso que incluía la puntuación combinada de accesibilidad, rigidez, conservación e inmunogenicidad al tomar su producto y garantizar la inclusión de epítopos de alta puntuación en los cuatro estudios. Este estudio se centró en la importancia de identificar pequeños fragmentos del antígeno para el diseño de vacunas, sin necesidad de trabajar en proteínas de longitud completa. Se destacó la importancia de la glicosilación de la superficie de las proteínas S, los glicanos cubren la superficie de las proteínas S y proporcionan un obstáculo estérico y evitan la unión de anticuerpos neutralizantes a las proteínas S. Tanto la glicosilación pesada como la ligera se analizaron en el estudio, y se ha encontrado que la glicosilación ligera estortó la unión de anticuerpos neutralizantes al SP [132].

En otro estudio de Sadat et al. [133], se generaron cuatro modelos de proteínas a través de la predicción de epítopos. La predicción de epítopos para el diseño de vacunas implica un par de pasos. El primer paso es la recuperación de la secuencia SARS-CoV-2, que luego se somete a la predicción de epítopos que pueden ser los objetivos potenciales de las células B y T; la estructura y las propiedades de los epítopos se analizan a fondo para el posterior diseño de la vacuna. Este proceso de diseño de vacunas se conoce como "Vacunología Inversa" [133]. Esta predicción in silico y el cribado de vacunas candidatas acelera el proceso [134]. Los cuatro modelos que se analizaron por su antigenicidad incluyen RBD del COVID-19 SP, una proteína de fusión compuesta por RBD, proteínas M y N de longitud completa de COVID-19, proteína de espiga truncada y una proteína de fusión compuesta de proteína de espiga truncada y proteínas M y N de longitud completa. Un esquema de los cuatro modelos se presenta a continuación en la Figura 4.



**Figura 4.** Representación esquemática de los cuatro modelos.

Los resultados revelan que la proteína de fusión representada por el modelo IV tiene la mayor inmunogenicidad entre los cuatro modelos y consta de 24 regiones altamente inmunogénicas que son objetivos potenciales de las células B y T. Las proteínas fusionadas se están probando además

por su eficacia *in vitro* e *in vivo*. En otro estudio de Ayman et al. [135], estudios concluyentes *in silico* indican la relación evolutiva entre el SP del SARS-CoV-2 y el del SARS-CoV encontrado en murciélagos, mostrando una similitud de secuencia del 96%. Sus estudios también sugieren que el SARS-CoV-2 es un virus que se ha creado naturalmente a través de la selección natural del virus SARS-CoV. También han encontrado una estrecha relación evolutiva entre el receptor ACE-2 para la proteína espiga entre humanos y murciélagos. Los estudios de acoplamiento molecular realizados por Chaudhury et al. revelaron que las bolsas de unión para las proteínas espigas eran similares entre los murciélagos y los humanos [61].

Además, la patogénesis del virus se caracteriza por una liberación de citoquinas proinflamatorias como las interleucinas y los TNF, desencadenada por la vía de señalización del receptor toll-like. Se sabe que el SP del SARS-CoV-2 se une a los TLR e induce la cascada de señalización. Si la interacción entre los dos se previene mediante un inhibidor que se une competitivamente a los TLR, se podría prevenir la propagación de la infección viral. Los estudios de acoplamiento molecular revelaron la alta afinidad de unión de la proteína espiga para TLR-1,4 y 6, la interacción está mediada por los dominios extracelulares de los TLR. Afirman que la orientación selectiva de este complejo ligando-receptor puede allanar el camino para el diseño de vacunas contra COVID-19 [61]. En otro estudio realizado por Bhattacharya et al. [136], se ha analizado *in silico* un candidato a vacuna peptídica para su unión a TLR-5. La longitud corta y la estructura helicoidal del péptido facilitaron la unión con el TLR-5.

En un estudio realizado por Lee et al. [137], se realizaron estudios de validación computacional para formar una lista de 48 péptidos inmunogénicos potenciales que podrían usarse para el diseño de vacunas contra el SARS-CoV-2. Para este propósito, los marcos de lectura abiertos del SARS-CoV-2 fueron adquiridos del NCBI. La similitud de secuencia entre los péptidos inmunogénicos identificados estaba disponible en la base de datos de péptidos IEDB y se evaluó utilizando la función de alineación por pares del "paquete biostrings v2.40.2". Solo se eligieron aquellas secuencias peptídicas que exhibieron una similitud de secuencia o más de tres secuencias de aminoácidos para un mayor escrutinio. La inmunogenicidad de los péptidos seleccionados se determinó utilizando una herramienta de predicción online *ipred*<sup>5</sup> que relaciona las puntuaciones de un péptido con su reconocimiento prospectivo por una célula T. Además, la afinidad de unión de un péptido hacia las moléculas MHC se predijo utilizando el NetMHC pan V4. El estudio también demuestra la búsqueda de novo de péptidos SARS-CoV-2 9-mer que tienen una afinidad de unión hacia los alelos HLA que se encuentran en poblaciones chinas y europeas, y la capacidad de reconocer TCR utilizando un nuevo algoritmo de inmunogenicidad *iPred*, y se identificaron 63 de estos péptidos [137].

### 7.9. Enfoques para el desarrollo de vacunas

- Dirigido al sistema inmune celular: Para el desarrollo efectivo de vacunas contra patógenos intracelulares, la identificación de antígenos protectores de miles de candidatos es un requisito previo. Sin embargo, las propiedades relevantes de los antígenos que brindan protección a los patógenos endógenos contra el sistema inmune celular están mal caracterizadas [138,139], lo que retrasa el proceso de desarrollo de la vacuna. La abundancia de antígenos es una propiedad importante que puede ser explotada para este propósito [138,140]. El perfil de expresión de antígenos varía de unos pocos a millones de moléculas por célula y los antígenos que están altamente expresados pueden ser probados selectivamente para su inmunogenicidad [141,142]. En uno de estos estudios realizado por Rollenhagen et al., el reconocimiento selectivo de unos pocos antígenos altamente expresados por las células CD4<sup>+</sup> condujo a la inducción de una potente respuesta inmune que se demostró mediante la selección *in vivo* de antígenos abundantemente expresados. Por lo tanto, la selección de antígenos tan abundantes puede facilitar el desarrollo de vacunas efectivas contra enfermedades infecciosas como la gripe, la fiebre tifoidea, COVID-19, etc. Este proceso se puede mejorar estudiando los datos transcriptómicos de las interacciones viral-huésped [138].

- Agrupación de epítomos altamente inmunogénicos: El suero humano consiste en una gama de anticuerpos policlonales que pueden o no corresponder a antígenos inmunogénicos. Esto se debe a que un patógeno consiste en varias partículas / epítomos antigénicos que se han originado a partir de regiones de los patógenos que evolucionaron genéticamente para ser menos inmunogénicos. Esto engaña al sistema inmunológico para que reconozca los epítomos no inmunogénicos que sufren mutaciones constantes. Incluso después de tener un recuerdo de los antígenos, el sistema inmunológico falla en un segundo encuentro debido a la acumulación de mutaciones en los epítomos. La selección de tales antígenos asegurará que el sistema inmune pueda inducir la producción de anticuerpos específicos para el patógeno. Por lo tanto, agrupar los epítomos altamente conservados del virus que aparentemente no son inmunogénicos y aumentar una respuesta de anticuerpos contra ellos en ausencia de todo el virus mejoraría su inmunogenicidad y promovería una respuesta inmune robusta contra el virus [90, 143].
- Acoplamiento computacional: El diseño de vacunas también se puede hacer mediante estudios de acoplamiento. El primer paso en el proceso de diseño de la vacuna es la generación de estructuras cristalinas de los antígenos y sus respectivos anticuerpos. Una vez que se realiza esta tarea, el siguiente paso es el acoplamiento *in silico* de ambas estructuras en un intento por descubrir epítomos útiles que son inmunogénicos. Este enfoque fue intentado por Kuntz et al. en 1982 [144]. En su estudio, analizaron las geometrías de unión de diferentes ligandos y sus respectivos receptores para la superposición estérica mediante el diseño de un programa de acoplamiento DOCK. Esto ayudó a identificar sitios de unión en la superficie macromolecular. Estudiaron las interacciones de unión entre la hemoglobina y la hormona tiroidea y la prealbúmina. Desde entonces, este campo ha tenido grandes reformas y todavía está floreciendo a un ritmo rápido [144,145]. Algunos de los estudios también involucraron la utilización de plantas ayurvédicas *Piper longum* y *Ocimum sanctum* para el tratamiento del coronavirus dirigiéndose a las proteínas receptoras ACE2 y TMPRSS2 [146].
- Vacunas basadas en subunidades múltiples: En un estudio de Dar et al., se realizaron estudios *in silico* sobre la proteína espiga de COVID-19 y se identificaron múltiples epítomos por su capacidad para provocar una fuerte respuesta inmune. Todos estos epítomos se combinaron a través de enlazadores GPGPG flexibles junto con una secuencia de subunidades  $\beta$  de toxinas de cólera (CTB) en el terminal N unido por un enlazador EAAAK, como adyuvante para formar un candidato a vacuna de múltiples subunidades. Esta vacuna se sometió a estudios de acoplamiento molecular con receptores tipo toll para comprender su dinámica de interacción y verificar la inmunogenicidad de la vacuna multiunidad contra COVID-19. La evaluación de la calidad realizada por el servidor web proSA mostró una buena coincidencia con estructuras PDB similares resueltas experimentalmente. Los resultados de la gráfica de Ramachandran revelaron que el 95% de los residuos se encontraban en regiones favorables. Los servidores Discotope y Ellipro revelaron la competencia de la vacuna en términos de poseer 27% y 52% de epítomos reconocidos por las células B. El servidor HADDOCK mostró que la unión entre los grupos de proteínas exhibió una buena estabilidad y flexibilidad. Sin embargo, hubo una mejora en las puntuaciones de HADDOCK cuando se aplicaron refinamientos moleculares al complejo de proteínas atracadas. Además, las interacciones entre los grupos de proteínas también fueron energéticamente favorables. Por lo tanto, se deben realizar estudios *in vitro* para validar los resultados de acoplamiento para demostrar aún más la efectividad de la vacuna contra COVID-19 [147].

Las vacunas basadas en epítomos múltiples han atraído una enorme atención recientemente. Singh et al. han diseñado una vacuna basada en epítomos múltiples utilizando cuatro proteínas estructurales del SARS-CoV-2 (proteínas S, M, N y E), seguidas de simulaciones *in silico* para validar la capacidad inmunogénica del constructo. El diseño de la vacuna se logró mediante la identificación de los epítomos de células B y T e IFN-gamma en las cuatro proteínas estructurales.

Las glicoproteínas E obtuvieron los puntos más altos en términos de antigenicidad y surgieron como ganadoras en este departamento. La vacuna generada posee un peso molecular de 45.131 kDa. Otras propiedades de la vacuna incluyen una naturaleza básica y una alta estabilidad estructural. La vacuna exhibió una vida útil prolongada que es adecuada para desencadenar una respuesta inmune robusta [148].

La mejora de la vacuna y los estudios de validación adicionales revelaron la buena calidad del modelo con el 90% de los residuos cayendo en la región favorable. Otros estudios de acoplamiento han revelado que la vacuna exhibe una buena afinidad de unión hacia el TLR-3 y TLR-4, lo que podría resultar fundamental para reconocer el SARS-CoV-2 y montar una respuesta inmune innata y adaptativa robusta contra el antígeno. Se adoptó la adaptación del codón para mejorar los niveles de expresión de la vacuna candidata en el vector *de expresión de E. Coli*. La vacuna se clonó en un vector pET (+28) seguido de estudios de simulación que indican que la vacuna producirá una fuerte respuesta inmune primaria y secundaria como se predijo. Tres inyecciones posteriores fueron la dosis umbral requerida para inducir una respuesta inmune adecuada. Sin embargo, alrededor de 12 inyecciones repetidas de la vacuna candidata desencadenaron una respuesta inmune aún más fuerte. Los niveles de IFN- $\gamma$  también fueron elevados, confirmando la activación de una respuesta inmune innata [148].

En un estudio de Mitra et al., se ha diseñado una vacuna basada en subunidades múltiples que se ha construido utilizando dos subunidades S1 y S2 de la glicoproteína espiga del coronavirus en combinación con un adyuvante quimérico. La glicoproteína espiga ha sido conocida por su papel en la entrada viral mediada por una interacción dinámica entre el receptor ACE-2 que se encuentra en la célula huésped. Los estudios demuestran que al identificar epítomos antigénicos contra células B y T si se utilizan múltiples servidores en cada caso y se ejecutan diferentes algoritmos, se deben seleccionar aquellos epítomos que han sido validados por los resultados de los múltiples servidores [149-152]. Esto asegura que los epítomos seleccionados serán efectivos en su tarea. Mediante el uso de esta metodología, se encontró que los epítomos predichos habían sido mapeados en un estudio reciente de microarrays.

Los epítomos predichos poseían parámetros como antigenicidad, no alergenicidad, no toxicidad y un amplio rango a través de la glicoproteína espiga. Los epítomos también mostraron una buena similitud de secuencia con el repositorio de secuencias de Gujarat (QJC19491.1). Avanzaron un paso más al agregar un adyuvante quimérico para maximizar la respuesta inmune contra las construcciones. El adyuvante comprende agonistas TLR-4 y se ha encontrado que tiene similitud de secuencia con los epítomos de células B que se encuentran en el servidor IEDB. Los bits de secuencias adyuvantes se unieron entre sí mediante secuencias rígidas y las secuencias adyuvantes se combinaron con los epítomos utilizando EAAAK como enlazador. La disposición del adyuvante y los epítomos predichos se cambió varias veces para llegar a cinco construcciones de vacunas utilizando el software de modelado ROBETTA que se caracterizaron utilizando los parámetros ProtParam. Se predijo que eran inmunogénicos debido a la presencia de amplios epítomos de células B y la capacidad de inducir la respuesta inmune mediada por interferón gamma.

Las construcciones consisten en enlaces de cisteína que apuntan hacia su estabilidad química. Se realizó la simulación dinámica molecular para estudiar y validar la estructura del constructo. Se encontró que las construcciones de la vacuna tenían una estructura secundaria que consistía en bucles y regiones de hebras que indicaban su alta estabilidad dinámica. Los constructos modelados también se evaluaron para su vida media, utilizando el Expassy ProtParam basado en los supuestos de la hipótesis PEST (incluida la presencia de residuos de aminoácidos asparagina, lisina y glicina y un punto isoeléctrico básico o neutro en proteínas estables que tienen una vida media más larga) y se encontró que dos constructos, 4 y 5, tenían la mayor estabilidad basada en los supuestos y resultados de la gráfica de Ramachandran, ERRAT-3D y Z-scores utilizando una simulación de modelado molecular de 100 ns.

Además, se llevaron a cabo simulaciones dinámicas moleculares para estudiar la dinámica de interacción entre los constructos y TLR-4, y se encontró que el contrato 4 tenía una alta afinidad

de unión por el receptor con una puntuación de energía global de  $-24.18$  KJ / mol. La interacción entre el constructo y el TLR-4 es impulsada por la interacción no covalente y esto se visualizó utilizando la herramienta quimera UCSF (enlaces hidrófobos e hidrógeno) sobre la superficie del TLR-4. Los residuos que participaron en la interacción se mapearon a través de DimPlot. La evaluación posterior al acoplamiento utilizando MM/GBSA confirma la postura acoplada y los residuos involucrados en esta interacción [149].

## 8. Reutilización de medicamentos

La reutilización de medicamentos es otra estrategia buscada para combatir las infecciones por COVID-19. En este proceso, los nuevos usos terapéuticos de un medicamento aprobado o en investigación están destinados al tratamiento de otras dolencias. Esta estrategia es segura, económica y consume menos tiempo [153]. Según Wang et al. [153–156], los estudios de interacción fármaco-fármaco y el análisis de interacción fármaco-fármaco-diana son técnicas de uso común para la reutilización de fármacos. Los datos transcriptómicos pueden dar información sobre los perfiles de expresión génica del SARS-CoV-2 durante la infección [154]. Por lo tanto, herramientas como Genotype-Tissue Expression (GTEx) [157,158] y la base de datos lincs L1000 del programa [159,160] se han explotado para extraer los datos de expresión génica específicos del tejido.

La búsqueda de posibles candidatos a fármacos se ha visto facilitada por herramientas computacionales como Drug Bank [161], ChEMBL19 [161] y ZINC1520 [162]. Las herramientas bioinformáticas están siendo ampliamente exploradas para este propósito, que está exhibiendo resultados prometedores [157]. Se están empleando varias funciones de acoplamiento de puntuación, como el programa Glide Docking y el campo de fuerza mecánica molecular (MMFF) para preseleccionar medicamentos potenciales y sus estudios de optimización. Toda la integración termodinámica química (TI) y la perturbación de energía libre (FEP) son técnicas populares para el descubrimiento de fármacos basados en la estructura [154,163–166]. Hoy en día, las pruebas de dos o más agentes terapéuticos se utilizan en combinación para comprobar su acción sinérgica contra el SARS-CoV-2 [167-169]. Los ligandos dirigidos multiobjetivo (MTDL) son fármacos que son un ejemplo de este enfoque, donde dos o más agentes farmacéuticos con estructuras similares se unen en un solo complejo [168,170,171].

Utilizando el acoplamiento molecular, se simula la conformación de "mejor ajuste" de un ligando a su receptor. En un estudio realizado por Behera et al. [168] con 45 medicamentos antivirales aprobados por la FDA se analizaron por su potencial terapéutico contra COVID-19. Con este fin, se realizó el acoplamiento molecular de los fármacos a tres ARN polimerasa dependientes de ARN (RdRP) utilizando el software Autodock. Según la clasificación más alta en términos de energía de unión, 10 agentes antivirales superaron el rendimiento y Paritaprevir y Grazoprevir se encontraban entre esos ligandos. A pesar de que Paritaprevir tenía una mayor afinidad de unión hacia el receptor, Grazoprevir fue elegido para estudios posteriores debido a su capacidad para unirse a residuos clave en el receptor ACE-2 y el RdRP. Dinámica y mecánica moleculares Los estudios de análisis de área de superficie de Poisson-Boltzmann (MM-PBSA) mostraron que la formación compleja entre el ligando y las proteínas diana era altamente estable [168].

### *Apuntando a las proteínas de replicación viral para la reutilización de fármacos*

En un estudio realizado por Wang et al. [154], se llevaron a cabo exámenes virtuales jerárquicos de dos pasos en 2201 medicamentos aprobados (Banco de Medicamentos) para su reutilización contra el SARS-CoV-2. Han probado la eficacia de estos medicamentos contra la proteasa DEL SARS-CoV-2, que es crítica para la replicación viral. Este proceso implicó tres pasos principales:

- (a) Enriquecimiento de los candidatos a fármacos utilizando el software glide;
- (b) Evaluación de los golpes de acoplamiento utilizando el método MM-PBSA-WSAS; (c) Selección de los candidatos a fármacos en función de sus energías de unión.

Sobre la base de este análisis, se identificaron cinco posibles candidatos a fármacos que mostraron propiedades inhibitorias contra la enzima proteasa, a saber, carfilzomib, tetraciclina, valrubicina, lopinavir y elbasvir. Los virus de ARN sufren mutaciones rápidas; sin embargo, los sitios activos de proteínas esenciales permanecen evolutivamente conservados, por lo que dirigirse a estas regiones es una estrategia efectiva para derrotar al virus [154].

En otro estudio realizado por Balasubramaniam et al., tres proteínas conservadas evolutivamente, a saber, RdRP, proteinasa similar a la papaína y helicasa, fueron seleccionadas para probar la capacidad antiviral de ~ 3300 medicamentos en investigación y 54 medicamentos aprobados por la FDA. Estas proteínas son críticas para la replicación viral y bloquear una o todas ellas podría resultar fatal para el virus COVID-19 [172-175].

Se emplearon los modelos estructurales de las proteínas anteriores desarrolladas por Zhang et al. [176] y las regiones de estas proteínas que podrían actuar como sitios de unión para los medicamentos se predijeron utilizando Discovery Studio Suite. Se realizaron simulaciones dinámicas moleculares para analizar la estabilidad de las bolsas de unión a lo largo del tiempo y los resultados confirmaron su alta estabilidad. Estas bolsas de unión predichas se examinaron contra los 3300 medicamentos en investigación y los 54 aprobados por la FDA. Los resultados de las pruebas de detección mostraron que el fármaco elbasvir es un agente potente que tenía una amplia afinidad de unión para las tres proteínas diana [174]. Sin embargo, los autores afirmaron que el fármaco es altamente reactivo y que también podría influir en los efectos fuera del objetivo [177], pero no se informa que la dosis a la que se administra induzca ningún efecto secundario grave [178].

La razón de la fuerte afinidad del fármaco hacia las tres proteínas diana es que el fármaco interactúa principalmente con proteínas cargadas positivamente y la liberación de las partículas virales de la célula huésped se rige por el ensamblaje de la proteína viral alrededor de su material genético (ARN). Esta interacción ocurre a través de la unión electrostática de las proteínas cargadas positivamente con la columna vertebral de ARN cargada negativamente. Esto promueve la unión de la droga a las bolsas de unión [174].

### **9. Técnicas de visualización de fagos para comprender la dinámica molecular de Patogénesis viral**

Los bacteriófagos son virus que infectan las células bacterianas. En las últimas tres décadas, los fagos se están utilizando ampliamente para la visualización de ciertas secuencias peptídicas como proteínas de fusión en la superficie de la capa de proteínas bacteriófagos [179]. Esta técnica se utilizó por primera vez para establecer el vínculo entre el fenotipo y el genotipo y llegó a conocerse como pantalla de fagos [180]. Como se discutió en las secciones anteriores, el virus SARS-CoV-2 ha sufrido varias mutaciones, dando lugar a cepas virales con mayor infectividad y capacidades de evasión inmune. Además, las mutaciones virales que confieren resistencia inmune y conducen a estructuras alternativas de la proteína espiga que permiten que el virus se adhiera a un número variado de receptores celulares se seleccionan a lo largo de la evolución [181-185]. Otros receptores que pueden servir como sitios de entrada potenciales para el virus incluyen el motivo de unión a la integrina que media la entrada a través de la unión de las integrinas, lo que resulta en la activación del factor de crecimiento transformador (TGF)- $\beta$  [186]. Además, la basigina CD147 o el receptor de tirosina proteína quinasa también son otros receptores que facilitan la unión viral y la entrada en el huésped [187,188]. Para comprender los mecanismos que fortalecen la patogénesis viral y estudiar la dinámica de la evasión inmune se pueden utilizar fagos filamentosos recombinantes. Las bibliotecas de fagos consisten en distintas partículas de fagos que muestran proteínas fusionadas en el terminal N de su proteína de capa principal p-8. El fago lleva 4000 copias de la proteína de la capa p-8 que se puede utilizar para la visualización de una serie de péptidos cuyas funcionalidades están influenciadas por sus interacciones con los péptidos vecinos y el cuerpo de la partícula de fago [189,190]. Pentrenko et al. [191] han discutido secuencias de péptidos que se asemejan a los dominios de unión al receptor de la proteína espiga viral conocida como "mimotopes" que se hacen para expresarse en la superficie de las partículas

de fagos. Estos mimotopes son herramientas de sondeo efectivas para comprender la dinámica molecular de la infección viral. Pueden ser explotados para exhibir especificidad hacia las proteínas de unión del SARS-CoV-2 para su aplicación en el diseño de vacunas.

En su estudio, han desarrollado mimotopes de fagos de la proteína SARS-CoV-2 Spike S1 a través de la visualización de fagos y los conceptos de mimetismo molecular, denominados aquí "mimetismo de fagos", mediante el uso de métodos bioinformáticos. El mimetismo molecular se utiliza para comprender la reactividad cruzada de ciertos péptidos antigénicos hacia los péptidos conformacionales o secuencias de aminoácidos de un receptor que pueden causar una respuesta autoinmune no deseada [192,193]. Se ha identificado un panel de mimotopes de fagos estrechamente relacionados que imitan los sitios de unión al receptor en la superficie del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF1), NRP1 y la proteína espiga del SARS-CoV-2, y su unión a FGFR3 fue mostrada por ELISA y confirmada por modelos moleculares. Se encontró que los grupos de AA de unión de NRP-1 tienen un parecido sorprendente con el FGF-1 y el dominio de unión al receptor de la proteína espiga SARS-CoV-2. Se reveló que los mimotopes de fagos que exhibieron patrones de aminoácidos similares a la RBD de la proteína espiga, que median las interacciones con el FGFR3, no se encontraron en la variante SARS-CoV [194]. Se dedujo que estos residuos mutados han otorgado aptitud evolutiva a las nuevas variantes del virus SARS-CoV-2 permitiéndole alcanzar un fenotipo más agresivo [195]. El fago EDYSELVSQ ha sido aislado por selección de afinidad de células Calu-3, que es una línea celular del cáncer de pulmón de células no pequeñas que sobre expresan los receptores del factor de crecimiento humano y otros receptores celulares importantes. Esta línea celular se utiliza para estudiar la patogénesis de los virus SARS-CoV y SARS-CoV-2 en cultivo celular [196]. Los hallazgos sugieren que la evolución de las cepas virales en la población humana puede ocurrir a través de la evasión inmune o a través del intercambio de receptores virales y co-receptores [197,198]. Si las vías moleculares de la patogénesis viral se comprenden a fondo utilizando las herramientas bioinformáticas, la conceptualización de estos mecanismos abrirá nuevas vías para el diseño de vacunas candidatas que sean efectivas contra cepas virales mutantes. Los métodos computacionales se pueden utilizar para determinar el propósito de los cambios de aminoácidos que ocurren en las variantes virales circulantes y ayudar en la predicción de residuos de aminoácidos que pueden sufrir mutaciones en breve para allanar el camino para nuevos mutantes virales. Las herramientas computacionales populares que se emplean para estudiar el efecto de las mutaciones de aminoácidos en las interacciones proteína-proteína incluyen el cambio basado en la mutación de aminoácido único en la energía libre de unión (SAAMBE) [199] y BindProfX [197,200].

#### **10. Diseño de vacunas basadas en inteligencia artificial (IA) y reutilización de medicamentos contra el virus SARS-CoV-2**

Las últimas dos décadas se han convertido en un testimonio de la popularidad de las herramientas de IA en el descubrimiento de posibles vacunas candidatas contra infecciones virales. Las herramientas de IA ayudan en el análisis de grandes cantidades de datos y permiten predicciones precisas sobre los datos [201]. El concepto general detrás de la IA es el desarrollo de técnicas que son capaces de imitar las habilidades / funciones cognitivas del cerebro para la resolución de problemas y el aprendizaje [202]. La IA se divide en dos ramas principales, a saber,

- Aprendizaje automático (ML): ML permite la generación de modelos que analizan y aprenden de los datos disponibles para identificar patrones y derivar inferencias a partir de datos nunca antes vistos [203]. Algunos de los algoritmos de ML populares incluyen máquinas vectoriales de soporte, clasificadores de bosques aleatorios, k-medias, agrupación jerárquica, etc., y recientemente redes neuronales artificiales (ANN) [204].
- Aprendizaje profundo (DL): Por otro lado, el aprendizaje profundo permite la extracción automática de características a partir de datos sin procesar [205]. DL permite un análisis profundo de los datos utilizando algoritmos avanzados de ML basados en ANN mediante el uso de unidades de procesamiento de múltiples capas [206].

Los algoritmos de IA pueden acelerar el proceso de descubrimiento de fármacos contra COVID-19. Se han realizado estudios en los que se han utilizado algoritmos basados en DL como DeepCE para el análisis profundo de posibles candidatos a medicamentos que podrían reutilizarse contra la infección por COVID-19 [207]. Además, otro modelo de diana farmacológica basado en DL se ha desarrollado en otro estudio para reutilizar compuestos farmacológicos que tienen el potencial de dirigirse a las proteínas del SARS-CoV-2 [5]. En otro estudio de Wallach et al., la tecnología de red neuronal convolucional profunda AtomNet R se ha empleado para desarrollar antivirales de amplio espectro dirigiéndose a sitios de unión a proteínas que se conservan evolutivamente en todas las especies de coronavirus [208]. En otro estudio realizado por Ton et al., se identificaron 1000 inhibidores de la proteasa del SARS-CoV-2 mediante la creación y utilización del enfoque de tecnología de red Deep Docking (DD) [209]. La IA también se está explorando ampliamente para el desarrollo de vacunas contra COVID-19, mediante el desarrollo de programas como MARIA (análisis complejo de histocompatibilidad mayor con arquitectura integrada recurrente) y MoDec que predice la presentación de antígenos [210-212]. Además, también se han utilizado herramientas de IA para analizar la presentación de proteínas virales a las moléculas MHC de los pacientes para comprender los mecanismos que confieren inmunidad en el huésped. En otro estudio de Ong et al., se descubrieron seis proteínas que podrían servir como dianas para las vacunas en el proteoma del SARS-CoV-2 utilizando una combinación de vacunología inversa y aprendizaje automático [204,213]. El diseño de vacunas basadas en IA y la reutilización de medicamentos han llevado a un cambio de paradigma en el desarrollo de estrategias terapéuticas contra COVID-19.

## 11. Conclusiones

La aparición de la pandemia de COVID-19 se encuentra actualmente en un estado de masacre global extrema y la condición está empeorando día a día de manera catastrófica. En este escenario de una alta tasa de mortalidad, existe la necesidad de comprender las respuestas desencadenantes inmunogénicas contra el coronavirus. Existen varios métodos de diagnóstico ideados con diferentes tejidos infecciosos. Sin embargo, el virus está mutando rápidamente, lo que lleva a la aparición de variantes como B.1.1.7 B.1.351/501.YV2, B.1.1.248/B1.1.28/P1 y el Cluster 5. Por lo tanto, la secuenciación regular de los genomas virales que causan fallas en las pruebas de diagnóstico es una estrategia efectiva para identificar los sitios de mutaciones que podrían afectar la unión objetivo en las pruebas de diagnóstico. ACE-2 se informa como la primera proteína diana que facilita la entrada viral en el huésped. Una vez que entra, el virus se superpone a la maquinaria del huésped y se somete a replicación, traducción y ensamblaje. Las cuatro glicoproteínas del virus son esenciales en la transmisión de la enfermedad. Los linfocitos B y T se activan en su acción e inician una cascada de señalización para luchar contra el virus. Sin embargo, una respuesta inmune deteriorada, debido a una reducción en los linfocitos T, contribuye a la gravedad de COVID-19. Además, la liberación de inflamomas, DAMP, TLR y varias citoquinas proinflamatorias juegan un papel crítico en la escalada de los síntomas de COVID-19.

Con el tiempo, la bioinformática y el aprendizaje automático han llevado el campo al siguiente nivel al predecir objetivos e interacciones. Diversos estudios demostraron el uso de herramientas de BI y machine learning para estudiar la relación evolutiva entre dos virus, el desarrollo de vacunas, la puesta en común de epítomos altamente inmunogénicos, la reutilización de fármacos, etc. estableciendo su potencial en la lucha contra el COVID-19.

**Contribuciones del autor:** D.Y. y M.S. conceptualizaron, escribieron y editaron el manuscrito y realizaron la encuesta de literatura. S.A. idearon el esquema, realizaron obras de arte y redactaron el manuscrito. P.P., D.J., V.A., P.K.D., S.K.J., S.M., R., A.D., N.K.J. y K.K.K. editaron el manuscrito. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

**Financiación:** Esta investigación no recibió financiación externa.

**Declaración de la Junta de Revisión Institucional:** No aplicable.

**Declaración de consentimiento informado:** No aplicable.

**Declaración de disponibilidad de datos:** No aplicable.

**Conflictos de intereses:** Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

## Referencias

- Zheng, J. SARS-CoV-2: Un coronavirus emergente que causa una amenaza global. *Int. J. Biol. Sci.* **2020**, *16*, 1678–1685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Liu, D.X.; Liang, J.Q.; Fung, T.S. Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63 y -HKU1 (Coronaviridae). *Encíclica. Virol.* **2021**, págs. 428–440.
- Malik, Y.A. Propiedades del coronavirus y el SARS-CoV-2. *Malayos. J. Pathol.* **2020**, *págs. 42*, 3–11.
- Schoeman, D.; Gordon, B.; Fielding, B.C. Coronavirus humanos patógenos. En *Módulo de Referencia en Ciencias Biomédicas*; Elsevier: Ámsterdam, Países Bajos, 2021.
- Beck, B.R.; Shin, B.; Choi, Y.; Parque, S.; Kang, K. Predicción de medicamentos antivirales disponibles comercialmente que pueden actuar sobre el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) a través de un modelo de aprendizaje profundo de interacción fármaco-objetivo. *Informática. Estructura. Biotechnol. J.* **2020**, *págs. 18*, 784–790. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kowalik, M.M.; Trzonkowski, P.; Łasin'ska-Kowara, M.; Mital, A.; Smiatacz, T.; Jaguszewski, M. COVID-19—Hacia una comprensión integral de la enfermedad. *Cardiol. J.* **2020**, *págs. 27*, 99–114. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bhattacharya, S.; Sharma, P.; Mathur, H.; Rasheed, H.; Singh, S.; Rajput, G.; Agnihotri, S.; Nirmal, P.; Kaur, S. Reciente informe sobre el coronavirus y sus terribles insinuaciones. *Virusdisease* **2020**, *31*, 121–127. [[CrossRef](#)]
- Bhattacharya, M.; Sharma, A.R.; Patra, P.; Ghosh, P.; Sharma, G.; Patra, B.C.; Saha, R.P.; Lee, S.S.; Chakraborty, C. Un candidato a vacuna contra el SARS-CoV-2: clonación y validación in-silico. *Informar. Med. Desbloqueado* **2020**, *20*, 100394. [[CrossRef](#)]
- Woo, P.C.; Lau, S.K.; Lam, C.S.; Lai, K.K.; Huang, Y.; Lee, P.; Luk, G.S.; Dyrting, K.C.; Chan, K.H.; Yuen, K.Y. El análisis comparativo de secuencias completas del genoma de tres coronavirus aviares revela un nuevo coronavirus del grupo 3c. *J. Virol.* **2009**, *págs. 83*, 908–917. [[CrossRef](#)]
- Woo, P.C.; Wang, M.; Lau, S.K.; Xu, H.; Poon, R.W.; Guo, R.; Wong, B.H.; Gao, K.; Tsoi, H.W.; Huang, Y.; et al. El análisis comparativo de doce genomas de tres nuevos coronavirus de grupo 2c y grupo 2d revela características únicas de grupos y subgrupos. *J. Virol.* **2007**, *81*, 1574–1585. [[CrossRef](#)]
- Woo, P.C.; Lau, S.K.; Chu, C.M.; Chan, K.H.; Tsoi, H.W.; Huang, Y.; Wong, B.H.; Poon, R.W.; Cai, J.J.; Luk, W.K.; et al. Caracterización y secuencia completa del genoma de un nuevo coronavirus, el coronavirus HKU1, de pacientes con neumonía. *J. Virol.* **2005**, *págs. 79*, 884–895. [[CrossRef](#)]
- V'kovski, P.; Kratzel, A.; Steiner, S.; Stalder, H.; Thiel, V. Biología y replicación del coronavirus: implicaciones para el SARS-CoV-2. *Nat. Rev. Microbiol.* **2021**, *19*, 155–170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Alluwaimi, A.M.; Alshubaihi, I.H.; Al-Ali, A.M.; Abohelala, S. Los coronavirus de animales y aves: su zoonosis, Vacunas y modelos para SARS-CoV y SARS-CoV2. *Frente. Veterinario. Sci.* **2020**, *7*, 582287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Woo, P.C.; Huang, Y.; Lau, S.K.; Yuen, K.Y. Genómica del coronavirus y análisis bioinformático. *Virus* **2010**, *2*, 1804–1820. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Harvey, W.T.; Carabelli, A.M.; Jackson, B.; Gupta, R.K.; Thomson, E.C.; Harrison, E.M.; Ludden, C.; Reeve, R.; Rambaut, A.; Pavo Real, S.J.; et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape (variantes del SARS-CoV-2, mutaciones de pico y escape inmunológico). *Nat. Rev. Microbiol.* **2021**, *págs. 19*, 409–424. [[CrossRef](#)]
- Duchene, S.; Featherstone, L.; Haritopoulou-Sinanidou, M.; Rambaut, A.; Lemey, P.; Baele, G. Señal temporal y umbral filodinámico del SARS-CoV-2. *Virus Evol.* **2020**, *6*, veaa061. [[CrossRef](#)]
- Worobey, M.; Pekar, J.; Larsen, B.B.; Nelson, M.I.; Hill, V.; Alegría, J.B.; Rambaut, A.; Suchard, M.A.; Wertheim, J.O.; Lemey, P. La aparición del SARS-CoV-2 en Europa y América del Norte. *Ciencia* **2020**, *370*, 564–570. [[CrossRef](#)]
- Banoun, H. Evolución del SARS-CoV-2: Revisión de mutaciones, papel del sistema inmunitario del huésped. *Nefrona* **2021**, *págs. 145*, 392–403. [[CrossRef](#)]
- Muth, D.; Corman, V.M.; Roth, H.; Binger, T.; Dijkman, R.; Gottula, L.T.; Gloza-Rausch, F.; Balboni, A.; Battilani, M.; Rihtaric, D.; et al. Atenuación de la replicación por una delección de 29 nucleótidos en el coronavirus SARS adquirida durante las primeras etapas de la transmisión de persona a persona. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 15177. [[CrossRef](#)]
- Cosar, B.; Karagulleoglu, Z.Y.; Unal, S.; Ince, A.T.; Uncuoglu, D.B.; Tuncer, G.; Kilinc, B.R.; Ozkan, Y.E.; Ozkoc, H.C.; Demir, I.N.; et al. Mutaciones del SARS-CoV-2 y sus variantes virales. *Factor de crecimiento de citoquinas Rev.* **2022**, *págs. 63*, 10–22. [[CrossRef](#)]
- Viana, R.; Moyo, S.; Amoako, D.G.; Tegally, H.; Scheepers, C.; Althaus, C.L.; Anyaneji, U.J.; Bester, P.A.; Boni, M.F.; Chand, M.; et al. Rápida expansión epidémica de la variante Omicron del SARS-CoV-2 en el sur de África. *Naturaleza* **2022**, *603*, 679–686. [[CrossRef](#)]
- QUIÉN. *Nuevas variantes de COVID-19: brechas de conocimiento e investigación*; Plan de I+D de la OMS: Ginebra, Suiza, 2021.
- Naveca, F.; Nascimento, V.; Souza, V.; Corado, A.; Nascimento, F.; Silva, G.; Costa, Á.; Duarte, D.; Pessoa, K.; Gonçalves, L.; et al. Relación filogenética de secuencias de SARS-CoV-2 de Amazonas con variantes brasileñas emergentes que albergan mutaciones

- E484K y N501Y en la proteína Espiga. 2021. Disponible en línea: <https://virological.org/t/phylogenetic-relationship-of-sars-cov-2-sequences-from-amazonas-with-emerging-brazilian-variants-harboring-mutations-e484k-and-n501y-in-the-spike-protein/585> (consultado el 26 de abril de 2022).
24. Zhang, W.; Davis, B.D.; Chen, S.S.; Sincuir Martínez, J.M.; Plummer, J.T.; Vail, E. Aparición de una nueva variante del SARS-CoV-2 en el sur de California. *JAMA* **2021**, *325*, 1324–1326. [CrossRef] [PubMed]
  25. Tian, D.; Sol, Y.; Xu, H.; Ye, Q. La aparición y las características epidémicas de la variante altamente mutada del SARS-CoV-2 Omicron. *J. Med. Virol.* **2022**, *94*, 2376–2383. [CrossRef] [PubMed]
  26. Kar, S. Alerta de COVID-19: La OMS dice que la nueva cepa del virus 'XE' podría ser la más contagiosa hasta ahora. 2022. Disponible en línea: <https://www.hindustantimes.com/world-news/covid19-alert-who-says-new-virus-strain-xe-could-be-most-contagious-sofar-101648894695415.html> (consultado el 26 de abril de 2022).
  27. Zhang, J.; Zhang, Y.; Kang, J.-Y.; Chen, S.; Él, Y.; Han, B.; Liu, M.-F.; Lu, L.; Li, L.; Yi, Z.; et al. Cadenas de transmisión potenciales de la variante B.1.1.7 y comutaciones del SARS-CoV-2. *Celda Discov.* **2021**, *7*, 44. [CrossRef] [PubMed]
  28. Tegally, H.; Wilkinson, E.; Giovanetti, M.; Iranzadeh, A.; Fonseca, V.; Giandhari, J.; Doolabh, D.; Pillay, S.; San, E.J.; Msomi, N.; et al. Detección de una variante preocupante del SARS-CoV-2 en Sudáfrica. *Naturaleza* **2021**, *592*, 438–443. [CrossRef] [PubMed]
  29. Negi, S.S.; Schein, C.H.; Braun, W. Patrones de mutación coordinados regionales y temporales en la proteína espiga del SARS-CoV-2 revelados por un análisis de agrupamiento y red. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 1128. [CrossRef] [PubMed]
  30. Yang, X.-J. La variante γ del SARS-CoV-2 adquiere un pico P681H o P681R para mejorar la condición viral. *bioRxiv* **2021**. [CrossRef]
  31. Kemp, S.A.; Collier, D.A.; Datir, R.P.; Ferreira, I.A.T.M.; Gayed, S.; Jahun, A.; Hosmillo, M.; Rees-Spear, C.; Mlcochova, P.; Lumb, I.U.; et al. SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection (Evolución del SARS-CoV-2 durante el tratamiento de la infección crónica). *Naturaleza* **2021**, *592*, 277–282. [CrossRef]
  32. Bal, A.; Destras, G.; Gaymard, A.; Bouscambert-Duchamp, M.; Valette, M.; Escuret, V.; Frobert, E.; Billaud, G.; Trouillet-Assant, S.; Cheynet, V.; et al. La caracterización molecular del SARS-CoV-2 en el primer grupo de COVID-19 en Francia revela una delección de aminoácidos en nsp2 (Asp268del). *CMI* **2020**, *26*, 960–962. [CrossRef]
  33. Robson, F.; Khan, K.S.; Le, T.K.; París, C.; Demirbag, S.; Barfuss, P.; Rocchi, P.; Ng, W.-L. Corrección de ARN del coronavirus: bases moleculares y orientación terapéutica. *Mol. Celda* **2020**, *79*, 710–727. [CrossRef]
  34. Fehr, A.R.; Perlman, S. Coronaviruses: Una visión general de su replicación y patogénesis. *Métodos Mol. Biol.* **2015**, *1282*, págs. 1–23.
  35. Jacob, C.O. Sobre la genética y la inmunopatogenia de COVID-19. *J. Clin. Immunol.* **2020**, *220*, 108591. [CrossRef] [PubMed]
  36. Banerjee, A.; Kulcar, K.; Misra, V.; Frieman, M.; Mossman, K. Murciélagos y Coronaviruses. *Virus* **2019**, *11*, 41. [CrossRef] [PubMed]
  37. Astuti, I.; Ysrafil. Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2): una visión general de la estructura viral y la respuesta del huésped. *Diabetes Metab. Sindr.* **2020**, págs. 14, 407–412. [CrossRef] [PubMed]
  38. Harapan, H.; Itoh, N.; Yufika, A.; Winardi, W.; Keam, S.; Te, H.; Megawati, D.; Hayati, Z.; Wagner, A.L.; Mudatsir, M. Enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19): Una revisión de la literatura. *J. Infectar. Salud Pública* **2020**, *13*, 667–673. [CrossRef]
  39. Mathuria, J.P.; Yadav, R. Rajkumar, Diagnóstico de laboratorio del SARS-CoV-2—Una revisión de los métodos actuales. *J. Infectar. Salud Pública* **2020**, *13*, 901–905. [CrossRef]
  40. Deng, H.; Jayawardena, A.; Chan, J.; Tan, S.M.; Alan, T.; Kwan, P. Una prueba de amplificación de ácido nucleico en el punto de atención ultraportátil y autónoma para el diagnóstico de la infección activa por COVID-19. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 15176. [CrossRef]
  41. FDA. Prueba OPTI SARS-CoV-2 RT-PCR. 2020. Disponible en línea: <https://www.fda.gov/media/137739/download> (consultado el 26 de abril de 2022).
  42. QUIÉN. *Protocolo: Ensayos rt-PCR en tiempo real para la detección del SARS-CoV-2*; Institut Pasteur: París, Francia, 2019.
  43. Él, J.-L.; Luo, L.; Luo, Z.-D.; Lyu, J.-X.; Ng, M.-Y.; Shen, X.-P.; Wen, Z. Rendimiento diagnóstico entre la TC y la RT-PCR inicial en tiempo real para pacientes con sospecha clínica de enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) fuera de Wuhan, China. *Respiración. Med.* **2020**, *168*, 105980. [CrossRef]
  44. Dzimianski, J.V.; Lorig-Roach, N.; O'Rourke, S.M.; Alejandro, D.L.; Kimmey, J.M.; DuBois, R.M. Detección rápida y sensible de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 mediante interferometría de biocapa. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 21738. [CrossRef]
  45. FDA. Megna Health Rapid COVID-19 IgM / IgG Combo Test Kit. 2020. Disponible en línea: <https://www.fda.gov/media/140297/download> (consultado el 26 de abril de 2022).
  46. Corman, V.M.; Landt, O.; Kaiser, M.; Molenkamp, R.; Meijer, A.; Chu, D.K.W.; Bleicker, T.; Brünink, S.; Schneider, J.; Schmidt, M.L.; et al. Detección del nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV) mediante RT-PCR en tiempo real. *Vigilancia del euro.* **2020**, *25*, 2000045. [CrossRef]
  47. Ai, T.; Yang, Z.; Hou, H.; Zhan, C.; Chen, C.; Lv, W.; Tao, Q.; Sol, Z.; Xia, L. Correlación de la TC de tórax y las pruebas RT-PCR para la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en China: un informe de 1014 casos. *Radiología* **2020**, *296*, E32–E40. [CrossRef]
  48. Gheblawi, M.; Wang, K.; Viveiros, A.; Nguyen, P.; Zhong, J.-C.; Turner, A.J.; Raizada, M.K.; Grant, M.B.; Oudit, G.Y. AngiotensinaEnzima convertidora 2: Receptor del SARS-CoV-2 y regulador del sistema renina-angiotensina: Celebrando el 20 aniversario del descubrimiento de ACE2. *Circ. Res.* **2020**, *126*, 1456–1474. [CrossRef] [PubMed]
  49. Huang, Y.; Yang, C.; Xu, X.-F.; Xu, W.; Liu, S.-W. Propiedades estructurales y funcionales de la proteína espiga del SARS-CoV-2: Posible desarrollo de fármacos antivirales para COVID-19. *Acta Pharmacol. Pecado.* **2020**, *41*, 1141–1149. [CrossRef] [PubMed]

50. Samavati, L.; Uhal, B.D. ACE2, mucho más que un receptor para el SARS-CoV-2. *Frente. Celda. Infecta. Microbiol.* **2020**, *10*, 317. [CrossRef] [PubMed]
51. Wang, D.; Él, S.; Wang, X.; Yan, Y.; Liu, J.; Wu, S.; Liu, S.; Lei, Y.; Chen, M.; Li, L.; et al. Inmunoensayo de flujo lateral rápido para la detección de fluorescencia del ARN del SARS-CoV-2. *NAT. Biomédica. Eng.* **2020**, págs. 4, 1150–1158. [CrossRef]
52. Soleimani, R.; Khoussaji, M.; Gruson, D.; Rodríguez-Villalobos, H.; Berghmans, M.; Belkhir, L.; Yombi, J.C.; Kabamba-Mukadi, B. Utilidad clínica del inmunoensayo quimioluminiscente totalmente automatizado para mediciones cuantitativas de anticuerpos en pacientes con COVID-19. *J. Med. Virol.* **2021**, *93*, 1465–1477. [CrossRef]
53. MacMullan, M.A.; Ibrayeva, A.; Trettner, K.; Deming, L.; Das, S.; Tran, F.; Moreno, J.R.; Casian, J.G.; Chellamuthu, P.; Kraft, J.; et al. ELISA detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en saliva. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 20818. [CrossRef]
54. FDA. Autorización acelerada de uso de emergencia (EUA) Resumen covid-19 Elisa IGG Prueba de anticuerpos (Mount Sinai Laboratory, Nueva York). 2020. Disponible en línea: <https://www.fda.gov/media/137029/download> (consultado el 26 de abril de 2022).
55. Guglielmi, G. Pruebas rápidas de coronavirus: lo que pueden y no pueden hacer. *Naturaleza* **2020**, *585*, 496–498. [CrossRef]
56. Poudel, A.; Poudel, Y.; Adhikari, A.; Aryal, B.B.; Dangol, D.; Bajracharya, T.; Maharjan, A.; Gautam, R. D-dímero como biomarcador para la evaluación del pronóstico de COVID-19: niveles de dímero D al ingreso y su papel en la predicción del resultado de la enfermedad en pacientes hospitalizados con COVID-19. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0256744. [CrossRef]
57. Yamamoto, K.; Ohmagari, N. Pruebas microbiológicas para la enfermedad por coronavirus. *JMA J.* **2021**, págs. 4, 67–75.
58. Liu, Y.; Zhan, L.; Qin, Z.; Sackrison, J.; Bischof, J.C. Ensayos de flujo lateral ultrasensibles y altamente específicos para el diagnóstico en el punto de atención. *ACS Nano* **2021**, *15*, 3593–3611. [CrossRef]
59. Khoury, D.S.; Cromer, D.; Reynaldi, A.; Schlub, T.E.; Wheatley, A.K.; Juno, J.A.; Subbarao, K.; Kent, S.J.; Triccas, J.A.; Davenport, M.P. Los niveles de anticuerpos neutralizantes son altamente predictivos de la protección inmune contra la infección sintomática por SARS-CoV-2. *NAT. Med.* **2021**, *27*, 1205–1211. [CrossRef] [PubMed]
60. Yang, J.; Petitjean, S.J.L.; Koehler, M.; Zhang, P.; Dumitru, A.C.; Chen, W.; Derclaye, S.; Vicente, S.P.; Soumillion, P.; Alsteens, D. Interacción molecular e inhibición de la unión del SARS-CoV-2 al receptor ACE2. *NAT. Comunidad.* **2020**, *11*, 4541. [CrossRef] [PubMed]
61. Choudhury, A.; Mukherjee, S. Estudios in silico sobre la caracterización comparativa de las interacciones de la glicoproteína espiga del SARS-CoV-2 con homólogos de receptores ACE-2 y TLR humanos. *Virol.* **2020**, *92*, 2105–2113. [CrossRef] [PubMed]
62. McBride, R.; Van Zyl, M.; Fielding, B.C. La nucleocápside del coronavirus es una proteína multifuncional. *Virus* **2014**, *6*, 2991–3018. [CrossRef] [PubMed]
63. Surjit, M.; Lal, S.K. La proteína nucleocápside del SARS-CoV: Proteína con múltiples actividades. *Infecta. Jineta. Evol.* **2008**, págs. 8, 397–405. [CrossRef] [PubMed]
64. Thomas, S. La estructura de la proteína de membrana del SARS-CoV-2 se asemeja al transportador de azúcar SemiSWEET. *Patopatólogo. Inmune.* **2020**, págs. 5, 342–363. [CrossRef] [PubMed]
65. Mandala, V.S.; McKay, M.J.; Shcherbakov, A.A.; Dregni, A.J.; Kolocouris, A.; Hong, M. Estructura y unión farmacológica del dominio transmembrana de la proteína de la envoltura del SARS-CoV-2 en bicapas lipídicas. *NAT. Estructura. Mol. Biol.* **2020**, *27*, 1202–1208. [CrossRef]
66. Schoeman, D.; Fielding, B.C. Proteína de la envoltura del coronavirus: Conocimiento actual. *Virol.* **2019**, *16*, 69. [CrossRef]
67. García-Olivé, I.; Sintés, H.; Radua, J.; Abad Capa, J.; Rosell, A. Dímero D en pacientes infectados con COVID-19 y sospecha de embolia pulmonar. *Respiración. Med.* **2020**, *169*, 106023. [CrossRef]
68. Salvatore, P.P.; Shah, M.M.; Ford, L.; Delaney, A.; Hsu, C.H.; Tate, J.E.; Kirking, H.L. Comparación cuantitativa de la prueba de amplificación de ácido nucleico SARS-CoV-2 y algoritmos de prueba de antígenos: un modelo de simulación de análisis de decisiones. *BMC Salud Pública* **2022**, *22*, 82. [CrossRef]
69. Chau, C.H.; Strobe, J.D.; Figg, W.D. COVID-19 Clinical Diagnostics and Testing Technology. *Farmacoterapia* **2020**, *40*, 857–868. [CrossRef] [PubMed]
70. Zoabi, Y.; Deri-Rozov, S.; Shomron, N. Predicción basada en el aprendizaje automático del diagnóstico de COVID-19 basada en los síntomas. *dígito npj. Med.* **2021**, *4*, 3. [CrossRef] [PubMed]
71. Ahsan, M.M.; Nazim, R.; Siddique, Z.; Huebner, P. Detección de pacientes con COVID-19 a partir de tomografía computarizada y datos de rayos X de tórax utilizando MobileNetV2 y LIME modificados. *Salud* **2021**, *9*, 1099. [CrossRef] [PubMed]
72. Sidiq, Z.; Hanif, M.; Dwivedi, K.K.; Chopra, K.K. Beneficios y limitaciones de los ensayos serológicos en la infección por COVID-19. *India J. Tuberc.* **2020**, *67* (Supl. S4), S163–S166. [CrossRef]
73. Chantal Babb de Villiers, L.B.; Cocinero, S.; Janus, J. Variantes del SARS-CoV-2. 2021. Disponible en línea: <https://www.finddx.org/wpcontent/uploads/2021/03/COVID-variants-report-FINAL-12MAR2021.pdf> (consultado el 26 de abril de 2022).
74. MacKay, M.J.; Hooker, A.C.; Afshinnekoo, E.; Salit, M.; Kelly, J.; Feldstein, J.V.; Haft, N.; Schenkel, D.; Nambi, S.; Cai, Y.; et al. El COVID-19 XPRIZE y la necesidad de pruebas escalables, rápidas y generalizadas. *NAT. Biotechnol.* **2020**, *38*, 1021–1024. [CrossRef]

75. Artesi, M.; Bontems, S.; Göbbels, P.; Franckh, M.; Maes, P.; Boreux, R.; Meex, C.; Melin, P.; Hayette, M.P.; Bours, V.; et al. Una mutación recurrente en la posición 26340 del SARS-CoV-2 se asocia con el fracaso de la transcripción inversa cuantitativa del gen EPCR utilizada en un ensayo de diagnóstico comercial de doble objetivo. *J. Clin. Microbiol.* **2020**, *58*, e01598-20. [CrossRef]
76. QUIÉN. Transmisión del SARS-CoV-2: Implicaciones para las precauciones de prevención de infecciones. 2020. Disponible en línea: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions> (consultado el 26 de abril de 2022).
77. Hamming, I.; Timens, W.; Bulthuis, M.L.; Lely, A.T.; Navis, G.; van Goor, H. Distribución tisular de la proteína ACE2, el receptor funcional del coronavirus SARS. Un primer paso para entender la patogénesis del SARS. *J. Pathol.* **2004**, *203*, 631–637. [CrossRef]
78. Lodish, H.; Berk, A.; Zipursky, L.; Matsudaira, P.; Baltimore, D.; Darnell, J. *Molecular Cell Biology*; W. H. Freeman: New York, NY, USA, 2000; Volumen 4.
79. Janeway, C.A. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*; Garland Science: Nueva York, NY, EE.UU., 2001; Volumen 5.
80. Dotiwala, F.; Mulik, S.; Polidoro, R.B.; Ansara, J.A.; Burleigh, B.A.; Walch, M.; Gazzinelli, R.T.; Lieberman, J. Los linfocitos asesinos usan granulinas, perforina y granzimas para matar parásitos intracelulares. *NAT. Med.* **2016**, *22*, 210–216. [CrossRef]
81. Le Page, C.; Génin, P.; Baines, M.G.; Hiscott, J. Activación del interferón e inmunidad innata. *Rev. Immunogenet.* **2000**, págs. 2, 374–386.
82. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Biología Molecular de la Célula*; Garland Science: Nueva York, NY, EE.UU., 2002; Volumen 4.
83. Hosseini, A.; Hashemi, V.; Shomali, N.; Asghari, F.; Gharibi, T.; Akbari, M.; Gholizadeh, S.; Jafari, A. Respuestas inmunes innatas y adaptativas contra el coronavirus. *Biomed Pharm.* **2020**, *132*, 110859. [CrossRef]
84. Catanzaro, M.; Fagiani, F.; Racchi, M.; Corsini, E.; Govoni, S.; Lanni, C. Respuesta inmune en COVID-19: Abordar un desafío farmacológico dirigiéndose a las vías desencadenadas por el SARS-CoV-2. *Transducto de señal. Taregt. Ther.* **2020**, *5*, 84. [CrossRef] [PubMed]
85. Tay, M.Z.; Poh, C.M.; Rénia, L.; MacAry, P.A.; Ng, L.F.P. La trinidad del COVID-19: inmunidad, inflamación e intervención. *Nat. Rev. Immunol.* **2020**, *20*, 363–374. [CrossRef] [PubMed]
86. Coperchini, F.; Chiovato, L.; Croce, L.; Magri, F.; Rotondi, M. La tormenta de citoquinas en COVID-19: Una visión general de la participación del sistema quimiocina/quimiocina-receptor. *Factor de crecimiento de citoquinas Rev.* **2020**, págs. 53, 25–32. [CrossRef] [PubMed]
87. Costela-Ruiz, V.J.; Illescas-Montes, R.; Puerta-Puerta, J.M.; Ruiz, C.; Melguizo-Rodríguez, L. Infección por SARS-CoV-2: El papel de las citoquinas en la enfermedad COVID-19. *Factor de crecimiento de citoquinas Rev.* **2020**, págs. 54, 62–75. [CrossRef]
88. Subbarao, K.; Mahanty, S. Infecciones por virus respiratorios: Entendiendo COVID-19. *Inmunidad* **2020**, *52*, 905–909. [CrossRef] 89. Verdecchia, P.; Cavallini, C.; Spanevello, A.; Angeli, F. El vínculo fundamental entre la deficiencia de ACE2 y la infección por SARS-CoV-2. *Eur. J. Pasante. Med.* **2020**, págs. 76, 14–20. [CrossRef]
90. García, L.F. Respuesta inmune, inflamación y espectro clínico de COVID-19. *Frente. Immunol.* **2020**, *11*, 1441. [CrossRef] 91. Shah, V.K.; Fimal, P.; Alam, A.; Ganguly, D.; Chattopadhyay, S. Descripción general de la respuesta inmune durante la infección por SARS-CoV-2: lecciones del pasado. *Frente. Immunol.* **2020**, *11*, 1949. [CrossRef]
92. Felsenstein, S.; Herbert, J.A.; McNamara, P.S.; Hedrich, C.M. COVID-19: Inmunología y opciones de tratamiento. *Clin. Immunol.* **2020**, *215*, 108448. [CrossRef]
93. Fung, T.S.; Liu, D.X. Coronavirus humano: interacción huésped-patógeno. *Annu. Rev. Microbiol.* **2019**, págs. 73, 529–557. [CrossRef] 94. Ramasamy, S.; Subbian, S. Determinantes críticos de la tormenta de citoquinas y la respuesta al interferón tipo I en la patogénesis de COVID-19. *Clin. Microbiol. Rev.* **2021**, *34*, e00299-20. [CrossRef] [PubMed]
95. Del Valle, D.M.; Kim-Schulze, S.; Huang, H.-H.; Beckmann, S.F.; Nirenberg, S.; Wang, B.; Lavín, Y.; Swartz, T.H.; Madduri, D.; Stock, A.; et al. Una firma de citoquinas inflamatorias predice la gravedad y la supervivencia de COVID-19. *NAT. Med.* **2020**, *26*, 1636-1643. [CrossRef] [PubMed]
96. Carty, M.; Guy, C.; Bowie, A.G. Detección de infecciones virales por inmunidad innata. *Bioquímica. Farmacol.* **2021**, *183*, 114316. [CrossRef] [PubMed]
97. Ong, E.Z.; Chan, Y.F.Z.; Leong, Nueva York; Lee, N.M.Y.; Kalimuddin, S.; Haja Mohideen, S.M.; Chan, K.S.; Tan, A.T.; Bertolotti, A.; Ooi, E.E.; et al. A Dynamic Immune Response Shapes COVID-19 Progression (Una respuesta inmune dinámica da forma a la progresión de COVID-19). *Cell Host Microbe* **2020**, *27*, 879–882.e2. [CrossRef]
98. Mogensen, T.H. Reconocimiento de patógenos y señalización inflamatoria en defensas inmunes innatas. *Clin. Microbiol. Rev.* **2009**, págs. 22, 240–273. [CrossRef] [PubMed]
99. Fullam, A.; Schröder, M. DExD/H-box ARN helicasas como mediadores de la inmunidad innata antiviral y factores esenciales del huésped para la replicación viral. *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, *1829*, 854–865. [CrossRef]
100. Weber, F. Inmunidad innata antiviral: Introducción. *Encíclica. Virol.* **2021**, págs. 577–583. [CrossRef]
101. Pablo, S.; Lal, G. El mecanismo molecular de la función de las células asesinas naturales y su importancia en la inmunoterapia contra el cáncer. *Frente. Immunol.* **2017**, *8*, 1124. [CrossRef]
102. Zhao, N.; Di, B.; Xu, L.-L. El inflammasoma NLRP3 y COVID-19: Activación, patogénesis y estrategias terapéuticas. *Factor de crecimiento de citoquinas Rev.* **2021**, págs. 61, 2–15. [CrossRef]

103. de Rivero Vaccari, J.C.; Dietrich, W.D.; Keane, R.W.; de Rivero Vaccari, J.P. El inflammasoma en tiempos de COVID-19. *Frente. Immunol.* **2020**, *11*, 583373. [[CrossRef](#)]
104. Kawasaki, T.; Kawai, T. Vías de señalización del receptor toll-like. *Frente. Immunol.* **2014**, *5*, 461. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Lester, S.N.; Li, K. Receptores tipo Toll en la inmunidad innata antiviral. *J. Mol. Biol.* **2014**, *426*, 1246–1264. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Li, G.; Fan, Y.; Lai, Y.; Han, T.; Li, Z.; Zhou, P.; Pan, P.; Wang, W.; Hu, D.; Liu, X.; et al. Infecciones por coronavirus y respuestas inmunes. *J. Med. Virol.* **2020**, págs. 92, 424–432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Lauxmann, M.; Santucci, N.; Autran-Gomez, A. El coronavirus SARS-CoV-2 y el brote de COVID-19. *Int. Braz. J. Urol. Apagado. J. Braz. Soc. Urol.* **2020**, págs. 46, 6–18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Bolívar, B.E.; Vogel, T.P.; Bouchier-Hayes, L. Regulación de la caspasa inflamatoria: Mantener el equilibrio entre la inflamación y la muerte celular en la salud y la enfermedad. *FEBS J.* **2019**, *286*, 2628–2644. [[CrossRef](#)]
109. Zahid, A.; Li, B.; Kombe, A.J.K.; Jin, T.; Tao, J. Inhibidores farmacológicos del inflammasoma NLRP3. *Frente. Immunol.* **2019**, *10*, 2538. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Conti, P.; Younes, A. El coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 afecta menos a las mujeres que a los hombres: Respuesta clínica a la infección viral. *J. Biol. Regul. Homeost* **2020**, págs. 34, 339–343.
111. Arcilla, C.; Donart, N.; Fomukong, N.; Caballero, J.B.; Lei, W.; Precio, L.; Hahn, F.; Van Westrienen, J.; Harrod, K.S. La infección primaria por coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo limita la replicación, pero no la inflamación pulmonar al retoque homólogo. *J. Virol.* **2012**, págs. 86, 4234–4244. [[CrossRef](#)]
112. Yewdell, J.W.; Bennink, J.R. Mecanismos de interferencia viral con el procesamiento y la presentación del antígeno MHC Clase I. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1999**, págs. 15, 579–606. [[CrossRef](#)]
113. Gaebler, C.; Wang, Z.; Lorenzi, J.C.C.; Muecksch, F.; Finkin, S.; Tokuyama, M.; Cho, A.; Jankovic, M.; Schaefer-Babajew, D.; Oliveira, T.Y.; et al. Evolución de la inmunidad de anticuerpos al SARS-CoV-2. *Naturaleza* **2021**, *591*, 639–644. [[CrossRef](#)]
114. Callow, K.A.; Parry, H.F.; Sargento, M.; Tyrrell, D.A. El curso temporal de la respuesta inmune a la infección experimental por coronavirus del hombre. *Epidemiol. Infecta.* **1990**, págs. 105, 435–446. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
115. Punt, J.; Owen, J.A.; Stranford, S.A.; Jones, P.P.; Kuby, J. *Kuby Immunology*, 8ª ed.; W.H. Freeman/Macmillan Learning: New York, NY, USA, 2019.
116. Qin, C.; Zhou, L.; Hu, Z.; Zhang, S.; Yang, S.; Tao, Y.; Xie, C.; Ma, K.; Shang, K.; Wang, W.; et al. Desregulación de la respuesta inmune en pacientes con COVID-19 en Wuhan, China. *Clin. Infecta. Dis. Apagado. Publ. Infecta. Dis. Soc. AM.* **2020**, págs. 71, 762–768. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Yang, A.-P.; Liu, J.-P.; Tao, W.-Q.; Li, H.-M. El papel diagnóstico y predictivo de NLR, d-NLR y PLR en pacientes con COVID-19. *Int. Immunofarmacológico.* **2020**, *84*, 106504. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
118. Gadi, N.; Wu, S.C.; Spihlman, A.P.; Moulton, V.R. ¿Qué tiene que ver el sexo con COVID-19? Diferencias basadas en el género en la respuesta inmune del huésped a los coronavirus. *Frente. Immunol.* **2020**, *11*, 2147. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
119. Pivonello, R.; Auriemma, R.S.; Pivonello, C.; Isidori, A.M.; Corona, G.; Colao, A.; Millar, R.P. Disparidades sexuales en la gravedad y el resultado de COVID-19: ¿Son los hombres más débiles o las mujeres más fuertes? *Neuroendocrinología* **2020**, *111*, 1066–1085. [[CrossRef](#)]
120. Paterni, I.; Granchi, C.; Katzenellenbogen, J.A.; Minutolo, F. Receptores de estrógeno alfa (ER $\alpha$ ) y beta (ER $\beta$ ): Ligandos selectivos de subtipos y potencial clínico. *Esteroides* **2014**, *90*, 13–29. [[CrossRef](#)]
121. Kovats, S. Los receptores de estrógeno regulan las células inmunes innatas y las vías de señalización. *Celda. Immunol.* **2015**, págs. 294, 63–69. [[CrossRef](#)]
122. Koenig, A.; Buskiewicz, I.; Huber, S.A. Los cambios asociados a la edad en las proporciones de receptores de estrógeno se correlacionan con una mayor susceptibilidad femenina a la miocarditis inducida por Coxsackievirus B3. *Frente. Immunol.* **2017**, *8*, 1585. [[CrossRef](#)]
123. Stilhano, R.S.; Costa, A.J.; Nishino, M.S.; Shams, S.; Bartolomeo, C.S.; Breithaupt-Faloppa, A.C.; Silva, E.A.; Ramírez, A.L.; Prado, C.M.; Ureshino, R.P. SARS-CoV-2 y la posible conexión con ERs, ACE2 y RAGE: Enfoque en los factores de susceptibilidad. *FASEB J.* **2020**, *34*, 14103–14119. [[CrossRef](#)]
124. Ghosh, M.; Rodríguez-García, M.; Wira, C.R. El sistema inmunológico en la menopausia: Pros y contras de la terapia hormonal. *J. Esteroides. Bioquímica. Mol. Biol.* **2014**, *142*, 171–175. [[CrossRef](#)]
125. Rubtsova, K.; Marrack, P.; Rubtsov, A.V. TLR7, IFN $\gamma$  y T-bet: Sus roles en el desarrollo de ABC en la autoinmunidad sesgada por las mujeres. *Celda. Immunol.* **2015**, págs. 294, 80–83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
126. Takahashi, T.; Ellingson, M.K.; Wong, P.; Israelow, B.; Lucas, C.; Klein, J.; Silva, J.; Mao, T.; Oh, J.E.; Tokuyama, M.; et al. Diferencias de sexo en las respuestas inmunes que subyacen a los resultados de la enfermedad COVID-19. *Naturaleza* **2020**, *588*, 315–320. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. Souyris, M.; Mejía, J.E.; Chaumeil, J.; Guéry, J.C. Predisposición femenina a la autoinmunidad impulsada por TLR7: dosificación de genes y el escape de la inactivación del cromosoma X. *Semin. Immunopatol.* **2019**, págs. 41, 153–164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
128. Ji, Z.; Yan, K.; Li, W.; Hu, H.; Zhu, X. Modelado matemático y computacional en sistemas biológicos complejos. *Biomed Res. Int.* **2017**, *2017*, 5958321. [[PubMed](#)]

129. Hufsky, F.; Lamkiewicz, K.; Almeida, A.; Aouacheria, A.; Arighi, C.; Bateman, A.; Baumbach, J.; Beerenwinkel, N.; Brandt, C.; Cacciabue, M.; et al. Estrategias computacionales para combatir el COVID-19: Herramientas útiles para acelerar la investigación del SARS-CoV-2 y el coronavirus. *Breve. Bioinform.* **2021**, *págs. 22*, 642–663. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
130. Abdellatiif, M.H.; Ali, A.; Ali, A.; Hussien, M.A. Los estudios computacionales por acoplamiento molecular de algunos medicamentos antivirales con receptores COVID-19 son un enfoque de la medicación para COVID-19. *Abra Chem.* **2021**, *págs. 19*, 245–264. [[CrossRef](#)]
131. Abel, R.; Paredes Ramos, M.; Chen, Q.; Pérez-Sánchez, H.; Coluzzi, F.; Rocco, M.; Marchetti, P.; Mura, C.; Simmaco, M.; Bourne, P.E.; et al. Computational Prediction of Potential Inhibitors of the Main Protease of SARS-CoV-2 (Predicción computacional de inhibidores potenciales de la proteasa principal del SARS-CoV-2). *Frente. Chem.* **2020**, *8*, 590263. [[CrossRef](#)]
132. Sikora, M.; von Bülow, S.; Blanc, F.E.C.; Gecht, M.; Covino, R.; Hummer, G. Mapa de epítomos computacionales de la proteína espiga del SARS-CoV-2. *PLoS Computación. Biol.* **2021**, *17*, e1008790. [[CrossRef](#)]
133. Sadat, S.M.; Aghadadeghi, M.R.; Yousefi, M.; Khodaei, A.; Sadat Larijani, M.; Bahramali, G. Análisis bioinformático del SARSCoV-2 para abordar un candidato a vacuna eficaz contra el COVID-19. *Mol. Biotechnol.* **2021**, *págs. 63*, 389–409. [[CrossRef](#)]
134. Hwang, W.; Lei, W.; Katritsis, N.M.; MacMahon, M.; Chapman, K.; Han, N. Enfoques computacionales actuales y futuros y desafíos para el desarrollo de vacunas COVID-19. *Adv. Droga Deliv. Rev.* **2021**, *págs. 172*, 249–274. [[CrossRef](#)]
135. Al-Qaaneh, A.M.; Alshammari, T.; Aldahhan, R.; Aldossary, H.; Alkhalifah, Z.A.; Borgio, J.F. Composición del genoma y caracterización genética del SARS-CoV-2. *Saudi J. Biol. Sci.* **2021**, *28*, 1978–1989. [[PubMed](#)]
136. Bhattacharya, M.; Sharma, A.R.; Patra, P.; Ghosh, P.; Sharma, G.; Patra, B.C.; Lee, S.S.; Chakraborty, C. Desarrollo de la vacuna peptídica de base epitopélica contra el nuevo coronavirus 2019 (SARS-COV-2): Enfoque inmunoinformático. *J. Med. Virol.* **2020**, *págs. 92*, 618–631. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
137. Lee, C.H.; Koohy, H. Identificación in silico de objetivos de vacunas para 2019-nCoV. *F1000Res* **2020**, *9*, 145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
138. Rollenhagen, C.; Sörensen, M.; Rizos, K.; Hurvitz, R.; Bumann, D. La selección de antígenos basada en los niveles de expresión durante la infección facilita el desarrollo de vacunas para un patógeno intracelular. *Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos* **2004**, *101*, 8739–8744. [[PubMed](#)]
139. Adu-Bobie, J.; Capecchi, B.; Serruto, D.; Rappuoli, R.; Pizza, M. Dos años después de la vacunología inversa. *Vacuna* **2003**, *21*, 605–610. [[CrossRef](#)]
140. Zinkernagel, R.M.; Ehl, S.; Aichele, P.; Oehen, S.; Kündig, T.; Hengartner, H. La localización del antígeno regula las respuestas inmunes de una manera dependiente de la dosis y el tiempo: una visión geográfica de la reactividad inmune. *Immunol. Rev.* **1997**, *156*, 199–209. [[CrossRef](#)]
141. Pedersen, S.; Bloch, P.L.; Reeh, S.; Neidhardt, F.C. Patrones de síntesis de proteínas en *E. coli*: Catálogo de la cantidad de 140 proteínas individuales a diferentes tasas de crecimiento. *Celda* **1978**, *14*, 179–190.
142. Ghaemmaghami, S.; Eh, W.K.; Bower, K.; Howson, R.W.; Belle, A.; Dephoure, N.; O'Shea, Reino Unido; Weissman, J.S. Análisis global de la expresión de proteínas en levaduras. *Nature* **2003**, *págs. 425*, 737–741. [[CrossRef](#)]
143. Kushwaha, S.K.; Kesarwani, V.; Choudhury, S.; Gandhi, S.; Sharma, S. Análisis del transcriptoma del SARS-CoV-2 y catalogación molecular de epítomos inmunodominantes para el diseño de vacunas basadas en múltiples epítomos. *Genómica* **2020**, *112*, 5044–5054.
144. Kuntz, I.D.; Blaney, J.M.; Oatley, S.J.; Langridge, R.; Ferrin, T.E. Un enfoque geométrico de las interacciones macromolécula-ligando. *J. Mol. Biol.* **1982**, *161*, 269–288. [[CrossRef](#)]
145. Desjarlais, R.L.; Sheridan, R.P.; Dixon, J.S.; Kuntz, I.D.; Venkataraghavan, R. Acoplamiento de ligandos flexibles a receptores macromoleculares por forma molecular. *J. Mol. Chem.* **1986**, *29*, 2149–2153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
146. Jindal, D.; Rani, V. Estudios in silico de fitoconstituyentes de *Piper longum* y *Ocimum sanctum* como inhibidores de ACE2 y TMRSS2: estrategias para combatir el COVID-19. *Appl. Bioquímica. Biotechnol.* **2022**, *págs. 194*, págs. 1–18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
147. Dar, H.A.; Waheed, Y.; Najmi, M.H.; Ismail, S.; Hetta, H.F.; Ali, A.; Muhammad, K. Multiepitope Subunit Vaccine Design against COVID-19 Based on the Spike Protein of SARS-CoV-2: An In Silico Analysis. *J. Immunol.* **2020**, *2020*, 8893483. [[CrossRef](#)]
148. Singh, A.; Thakur, M.; Sharma, Reino Unido; Chandra, K. Diseño de una vacuna multi-epitopo basada en péptidos contra el SARS-CoV-2. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 16219. [[CrossRef](#)]
149. Mitra, D.; Pandey, J.; Jain, A.; Swaroop, S. Diseño in silico de la vacuna peptídica a base de epítomos múltiples contra el SARS-CoV-2 utilizando su proteína espiga. *J. Biomol. Estructura. Dyn.* **2021**, *págs. 1–14*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
150. Grifoni, A.; Sidney, J.; Zhang, Y.; Scheuermann, R.H.; Peters, B.; Sette, A. Una homología de secuencia y un enfoque bioinformático pueden predecir objetivos candidatos para las respuestas inmunes al SARS-CoV-2. *Cell Host Microbe* **2020**, *27*, 671–680.e2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
151. Greenbaum, J.; Sidney, J.; Chung, J.; Brander, C.; Peters, B.; Sette, A. La clasificación funcional de las moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA) de clase II revela siete supertipos diferentes y un sorprendente grado de intercambio de repertorio entre supertipos. *Inmunogenética* **2011**, *63*, 325–335. [[CrossRef](#)]
152. Weiskopf, D.; Angelo, M.A.; de Azeredo, E.L.; Sidney, J.; Greenbaum, J.A.; Fernando, A.N.; Broadwater, A.; Kolla, R.V.; De Silva, D.C.; de Silva, A.M.; et al. El análisis exhaustivo de las respuestas específicas del virus del dengue respalda un papel protector vinculado a HLA para las células T CD8+. *Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos* **2013**, *110*, E2046–E2053. [[CrossRef](#)]
153. Pushpakom, S.; Iorio, F.; Eyers, P.A.; Escott, K.J.; Hopper, S.; Wells, A.; Doig, A.; Williams, T.; Latimer, J.; McNamee, C.; et al. Reutilización de drogas: Progresos, desafíos y recomendaciones. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, *págs. 18*, 41–58. [[CrossRef](#)]

154. Wang, J. Identificación rápida del posible tratamiento farmacológico de la enfermedad por coronavirus-19 (COVID-19) a través del estudio computacional de reutilización de medicamentos. *J. Chem. Inf. Modelo.* **2020**, *60*, 3277–3286. [[CrossRef](#)]
155. Ashburn, T.T.; Thor, K.B. Reposicionamiento de medicamentos: Identificación y desarrollo de nuevos usos para medicamentos existentes. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, págs. 3, 673–683. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
156. Breckenridge, A.; Jacob, R. Superando las barreras legales y regulatorias para la reutilización de drogas. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, págs. 18, 1–2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
157. Galíndez, G.; Matschinske, J.; Rose, T.D.; Sadegh, S.; Salgado-Albarrán, M.; Späth, J.; Baumbach, J.; Pauling, J.K. Lecciones de la Pandemia de COVID-19 para avanzar en estrategias computacionales de reutilización de fármacos. *NAT. Informática. Sci.* **2021**, págs. 1, 33–41. [[CrossRef](#)]
158. El proyecto Genotype-Tissue Expression (GTEx). *Nat. Gen.* **2013**, págs. 45, 580–585. [[CrossRef](#)]
159. Musa, A.; Tripathi, S.; Dehmer, M.; Emmert-Streib, F. L1000 Viewer: Un motor de búsqueda e interfaz web para el repositorio de datos LINCS. *Fronte General.* **2019**, *10*, 557. [[CrossRef](#)]
160. Duan, Q.; Flynn, C.; Niepel, M.; Hafner, M.; Muhlich, J.L.; Fernández, S.F.; Rouillard, D.C.; Tan, C.M.; Chen, E.Y.; Golub, T.R.; et al. LINCS Canvas Browser: Aplicación web interactiva para consultar, navegar e interrogar firmas de expresión génica LINCS L1000. *Ácidos nucleicos Res.* **2014**, *42*, W449–W460. [[CrossRef](#)]
161. Wishart, D.S.; Feunang, Y.D.; Guo, A.C.; Lo, E.J.; Marcu, A.; Grant, J.R.; Sajed, T.; Johnson, D.; Li, C.; Sayeeda, Z.; et al. Banco de Drogas 5.0: Una actualización importante de la base de datos de DrugBank para 2018. *Ácidos nucleicos Res.* **2018**, *46*, D1074–D1082. [[CrossRef](#)]
162. Sterling, T.; Irwin, J.J. ZINC 15—Descubrimiento de ligandos para todos. *J. Chem. Inf. Modelo.* **2015**, *55*, 2324–2337. [[CrossRef](#)]
163. Reddy, M.R.; Reddy, C.R.; Rathore, R.S.; Erion, M.D.; Aparoy, P.; Reddy, R.N.; Reddanna, P. Cálculos de energía libre para estimar las afinidades de unión a ligandos en el diseño de fármacos basados en la estructura. *Curr. Pharm. DES.* **2014**, *20*, 3323–3337. [[CrossRef](#)]
164. Friesner, R.A.; Bancos, J.L.; Murphy, R.B.; Halgren, T.A.; Klicic, J.J.; Maguncia, D.T.; Repasky, M.P.; Knoll, E.H.; Shelley, M.; Perry, J.K.; et al. Glide: Un nuevo enfoque para el acoplamiento y la puntuación rápidos y precisos. 1. Método y evaluación de la precisión del acoplamiento. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1739–1749. [[CrossRef](#)]
165. Wang, J.; Morin, P.; Wang, W.; Kollman, P.A. Uso de MM-PBSA en la reproducción de las energías libres de unión a HIV-1 RT de derivados de TIBO y predicción del modo de unión a HIV-1 RT de efavirenz por acoplamiento y MM-PBSA. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, págs. 123, 5221–5230. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
166. Wang, J.; Kang, X.; Kuntz, I.D.; Kollman, P.A. Exámenes jerárquicos de la base de datos para la transcriptasa inversa del VIH-1 utilizando un modelo de farmacóforo, acoplamiento rígido, acoplamiento de solvatación y MM-PB / SA. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2432–2444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
167. Bang, S.; Hijo, S.; Kim, S.; Shin, H. Disease Pathway Cut for Multi-Target drugs. *BMC Bioinform.* **2019**, *20*, 74. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
168. Behera, S.K.; Vhora, N.; Contratista, D.; Shard, A.; Kumar, D.; Kalia, K.; Jain, A. Estudio computacional de reutilización de fármacos que aclara la inhibición simultánea de la entrada y replicación del nuevo coronavirus por Grazoprevir. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 7307. [[CrossRef](#)]
169. Bobrowski, T.; Chen, L.; Eastman, R.T.; Itkin, Z.; Shinn, P.; Chen, C.; Guo, H.; Zheng, W.; Miguel, S.; Simeonov, A.; et al. Descubrimiento de combinaciones de fármacos sinérgicos y antagonistas contra el SARS-CoV-2 in vitro. *bioRxiv* **2020**. [[CrossRef](#)]
170. Abatematteo, F.S.; Niso, M.; Contino, M.; Leopoldo, M.; Abate, C. Multi-Target Directed Ligands (MTDLs) Binding the  $\sigma(1)$  Receptor as Promising Therapeutics: State of the Art and Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 6359. [[CrossRef](#)]
171. Agis-Torres, A.; Sölhuber, M.; Fernández, M.; Sanchez-Montero, J.M. Ligandos dirigidos a múltiples dianas y otras estrategias terapéuticas en la búsqueda de una solución real para la enfermedad de Alzheimer. *Curr. Neurofarmacélico.* **2014**, págs. 12, 2–36. [[CrossRef](#)]
172. Balasubramanian, S.; Rao, N.M.; Goenka, A.; Roderick, M.; Ramanan, A.V. Enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en niños: lo que sabemos hasta ahora y lo que no. *Pediatra indio.* **2020**, págs. 57, 435–442. [[CrossRef](#)]
173. Agostini, M.L.; Andrés, E.L.; Sims, A.C.; Graham, R.L.; Sheahan, T.P.; Lu, X.; Smith, E.C.; Caso, J.B.; Feng, J.Y.; Jordania, R.; et al. Coronavirus Susceptibility to the Antiviral Remdesivir (GS-5734) Is Mediated by the Viral Polymerase and the Proofreading Exoribonuclease. *mBio* **2018**, *9*, e00221-18. [[CrossRef](#)]
174. Balasubramaniam, M.; Reis, R.J.S. Reutilización computacional de elbasvir, un medicamento antiviral que se predice que se unirá a múltiples proteínas del SARS-CoV-2. *Preparador ChemRxiv. Serv. Chem.* **2020**. [[CrossRef](#)]
175. De Clercq, E.; Li, G. Medicamentos antivirales aprobados en los últimos 50 años. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, págs. 29, 695–747. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
176. Zhang, H.; Yang, Y.; Li, J.; Wang, M.; Saravanan, K.M.; Wei, J.; Ng, J.T.-Y.; Hossain, T.; Liu, M.; Zhang, H.; Un nuevo procedimiento de detección virtual identifica el pralatrexato como inhibidor del SARS-CoV-2 RdRp y reduce la replicación viral in vitro. *PLoS Computación. Biol.* **2020**, *16*, e1008489. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
177. Chaudhari, R.; Tan, Z.; Huang, B.; Zhang, S. Polifarmacología computacional: Un nuevo paradigma para el descubrimiento de fármacos. *Opinión Experta. Droga Discov.* **2017**, *12*, 279–291. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

178. Jacobson, I.M.; Lawitz, E.; Kwo, P.Y.; Hézode, C.; Peng, C.-Y.; Howe, A.Y.M.; Hwang, P.; Wahl, J.; Robertson, M.; Barr, E.; et al. Seguridad y eficacia de Elbasvir/Grazoprevir en pacientes con infección por el virus de la hepatitis C y cirrosis compensada: un análisis integrado. *Gastroenterología* **2017**, *152*, 1372–1382.e2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
179. Smith, G.P.; Petrenko, V.A. Pantalla de fagos. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 391–410. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
180. Burton, D.R. Pantalla de fagos. *Inmunotecnología* **1995**, *1*, 87–94. [[CrossRef](#)]
181. Valdés-Balbin, Y.; Santana-Mederos, D.; Paquet, F.; Fernández, S.; Climent, Y.; Chiodo, F.; Rodríguez, L.; Sánchez Ramírez, B.; León, K.; Hernández, T.; et al. Molecular Aspects Concerning the Use of the SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain as a Target for Preventive Vaccines (Aspectos moleculares relativos al uso del dominio de unión al receptor sars-CoV-2 como diana para las vacunas preventivas). *ACS Cent. Sci.* **2021**, *págs. 7*, 757–767. [[CrossRef](#)]
182. Devarakonda, C.K.V.; Meredith, E.; Ghosh, M.; Shapiro, L.H. Receptores del coronavirus como moduladores inmunes. *J. Immunol.* **2021**, *206*, 923–929. [[CrossRef](#)]
183. Costa, L.B.; Pérez, L.G.; Palmeira, V.A.; Macedo e Cordeiro, T.; Ribeiro, V.T.; Lanza, K.; Simões e Silva, A.C. Perspectivas sobre el SARS-CoV-2 Interacciones moleculares con el sistema renina-angiotensina. *Frente. Celda. Dev. Biol.* **2020**, *8*, 559841. [[CrossRef](#)]
184. Li, F. Estructura, función y evolución de las proteínas de espiga del coronavirus. *Annu. Rev. Virol.* **2016**, *págs. 3*, 237–261. [[CrossRef](#)]
185. Wang, N.; Shi, X.; Jiang, L.; Zhang, S.; Wang, D.; Tong, P.; Guo, D.; Fu, L.; Cui, Y.; Liu, X.; et al. Estructura del dominio de unión al receptor de púas merS-CoV complejo con el receptor humano DPP4. *Cell Res.* **2013**, *págs. 23*, 986–993. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
186. Carvacho, I.; Piesche, M. Integrinas de unión a RGD y TGF- $\beta$  en infecciones por SARS-CoV-2: ¿nuevos objetivos para tratar a pacientes con COVID-19? *Clin. Trad. Immunol.* **2021**, *10*, e1240. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
187. Chen, Z.; Mi, L.; Xu, J.; Yu, J.; Wang, X.; Jiang, J.; Xing, J.; Shang, P.; Qian, A.; Li, Y.; et al. Función de HAb18G/CD147 en la invasión de células huésped por coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo. *J. Infectar. Dis.* **2005**, *191*, 755–760. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
188. Wang, K.; Chen, W.; Zhang, Z.; Deng, Y.; Lian, J.-Q.; Du, P.; Wei, D.; Zhang, Y.; Sol, X.-X.; Gong, L.; La proteína CD147-spike es una nueva ruta para la infección por SARS-CoV-2 a las células huésped. *Transducto de señal. Blanco. Ther.* **2020**, *5*, 283. [[CrossRef](#)]
189. Kuzmicheva, G.A.; Jayanna, P.K.; Eroshkin, A.M.; Grishina, M.A.; Pereyaslavskaya, E.S.; Potemkin, V.A.; Petrenko, V.A. Las mutaciones en la proteína de la capa principal del fago fd modulan la afinidad del péptido mostrado. *Proteína Eng. DES. Sel.* **2009**, *págs. 22*, 631–639. [[CrossRef](#)]
190. Petrenko, V.A.; Smith, G.P.; Gong, X.; Quinn, T. Una biblioteca de paisajes orgánicos sobre fagos filamentosos. *Proteína Eng. DES. Sel.* **1996**, *págs. 9*, 797–801. [[CrossRef](#)]
191. Petrenko, V.A.; Gillespie, J.W.; De Plano, L.M.; Shokhen, M.A. Mimotopes exhibidos por fagos de la proteína espiga del SARS-CoV-2 dirigida a receptores celulares auténticos y alternativos. *Virus* **2022**, *14*, 384. [[CrossRef](#)]
192. Thaper, D.; Prabha, V. Mimetismo molecular: Una explicación para las enfermedades autoinmunes y la infertilidad. *Escaneado. J. Immunol.* **2018**, *88*, e12697. [[CrossRef](#)]
193. Wildner, G.; Diedrichs-Möhrling, M. Mimetismo molecular y uveítis. *Frente. Immunol.* **2020**, *11*, 580636. [[CrossRef](#)]
194. Zhou, P.; Yang, X.-L.; Wang, X.-G.; Hu, B.; Zhang, L.; Zhang, W.; Si, H.-R.; Zhu, Y.; Li, B.; Huang, C.-L.; et al. Addendum: Un brote de neumonía asociado con un nuevo coronavirus de probable origen de murciélago. *Naturaleza* **2020**, *588*, E6. [[CrossRef](#)]
195. Li, Q.; Wu, J.; Nie, J.; Zhang, L.; Hao, H.; Liu, S.; Zhao, C.; Zhang, P.; Liu, H.; Nie, L.; et al. The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity (El impacto de las mutaciones en el pico del SARS-CoV-2 en la infectividad viral y la antigenicidad). *Celda* **2020**, *182*, 1284–1294.e9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
196. Kumar, S.; Sarma, P.; Kaur, H.; Prajapat, M.; Bhattacharyya, A.; Avti, P.; Sehkhari, N.; Kaur, H.; Bansal, S.; Mahendiratta, S.; et al. Modelos de cultivo celular clínicamente relevantes y su importancia en el aislamiento, la patogénesis, el desarrollo de vacunas, la reutilización y el cribado de nuevos fármacos para el SARS-CoV-2: una revisión sistemática. *Célula tisular* **2021**, *70*, 101497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
197. Chen, C.; Boorla, V.S.; Banerjee, D.; Chowdhury, R.; Cavener, V.S.; Nissly, R.H.; Gontu, A.; Boyle, N.R.; Vandegriff, K.; Nair, M.S.; et al. Predicción computacional del efecto de los cambios de aminoácidos en la afinidad de unión entre sars-CoV-2 picos RBD y ACE2 humano. *Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos* **2021**, *118*, e2106480118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
198. Millet, J.K.; Jaimes, J.A.; Whittaker, G.R. Diversidad molecular de los receptores de entrada de células huésped del coronavirus. *FEMS Microbiol. Rev.* **2020**, *45*, fuaa057. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
199. Petukh, M.; Dai, L.; Alexov, E. SAAMBE: Servidor web para predecir la carga de energía libre de unión causada por mutaciones de aminoácidos. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 547. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
200. Xiong, P.; Zhang, C.; Zheng, W.; Zhang, Y. BindProfX: Evaluación del cambio de afinidad de unión inducida por mutaciones mediante perfiles de interfaz de proteínas con pseudo-recuentos. *J. Mol. Biol.* **2017**, *págs. 429*, 426–434. [[CrossRef](#)]
201. Shah, P.; Kendall, F.; Khozin, S.; Goosen, R.; Hu, J.; Laramie, J.; Ringel, M.; Schork, N. Inteligencia artificial y aprendizaje automático en el desarrollo clínico: una perspectiva traslacional. *Cifra. Med.* **2019**, *2*, 69. [[CrossRef](#)]
202. Dias, R.; Torkamani, A. Inteligencia artificial en el diagnóstico clínico y genómico. *Genoma Med.* **2019**, *11*, 70. [[CrossRef](#)]
203. Viena, J.; Shenoy, E.S. Machine Learning for Healthcare: On the Verge of a Major Shift in Healthcare Epidemiology. *Clin. Infecta. Dis.* **2018**, *págs. 66*, 149–153. [[CrossRef](#)]

204. Bansal, A.; Padappayil, R.P.; Garg, C.; Singal, A.; Gupta, M.; Klein, A. Utilidad de la inteligencia artificial en medio de la pandemia de COVID 19: una revisión. *J. Med. Syst.* **2020**, *44*, 156. [[CrossRef](#)]
205. LeCun, Y.; Bengio, Y.; Hinton, G. Aprendizaje profundo. *Nature* **2015**, *521*, 436–444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
206. Cao, C.; Liu, F.; Tan, H.; Canción, D.; Shu, W.; Li, W.; Zhou, Y.; Bo, X.; Xie, Z. Deep Learning y sus aplicaciones en biomedicina. *General Prot. Bioinform.* **2018**, *16*, 17–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
207. Pham, T.-H.; Qiu, Y.; Zeng, J.; Xie, L.; Zhang, P. Un marco de aprendizaje profundo para la detección de compuestos de fenotipo impulsada por mecanismos de alto rendimiento y su aplicación a la reutilización de medicamentos COVID-19. *NAT. Mach. Intell.* **2021**, *págs. 3*, 247–257. [[CrossRef](#)]
208. Wallach, I.; Dzamba, M.; Heifets, A. AtomNet: A Deep Convolutional Neural Network for Bioactivity Prediction in Structure baseded Drug Discovery. *arXiv* **2015**, arXiv:1510.02855.
209. Ton, A.T.; Gentil, F.; Hsing, M.; Ban, F.; Cherkasov, A. Identificación rápida de inhibidores potenciales de la proteasa principal del SARS-CoV-2 mediante el acoplamiento profundo de 1.300 millones de compuestos. *Mol. Informar.* **2020**, *39*, e2000028. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
210. Chen, B.; Khodadoust, M.S.; Olsson, N.; Wagar, L.E.; Rápido, E.; Liu, C.L.; Muftuoglu, Y.; Espadachín, B.J.; Diehn, M.; Levy, R.; et al. Predicción de la presentación del antígeno HLA clase II a través del aprendizaje profundo integrado. *NAT. Biotechnol.* **2019**, *37*, 1332–1343. [[CrossRef](#)]
211. Moore, T.V.; Nishimura, M.I. Predicción mejorada del epítipo MHC II: un paso hacia la medicina personalizada. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2020**, *págs. 17*, 71–72. [[CrossRef](#)]
212. Racle, J.; Michaux, J.; Rockinger, G.A.; Arnaud, M.; Bobisse, S.; Chong, C.; Guillaume, P.; Coukos, G.; Harari, A.; Jandus, C.; et al. Predicción robusta de epítomos HLA clase II por deconvolución profunda de inmunopeptidomas. *NAT. Biotechnol.* **2019**, *37*, 1283–1286. [[CrossRef](#)]
213. Ong, E.; Wong, M.U.; Huffman, A.; He, Y. DISEÑO DE LA VACUNA CONTRA EL CORONAVIRUS COVID-19 UTILIZANDO VACUNOLOGÍA INVERSA Y APRENDIZAJE AUTOMÁTICO. *Frente. Immunol.* **2020**, *11*, 1581. [[CrossRef](#)]