



TRABAJO FIN DE MÁSTER

**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS BASADAS EN LA
NANOMEDICINA PARA LA ADMINISTRACIÓN DE
ANTICOAGULANTES. POTENCIAL APLICACIÓN EN
COVID-19**

CURSO 2020-2021

FACULTAD DE FARMACIA

MARÍA DEL ÁGUILA GÓMEZ



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN ESPECIALIZACIÓN PROFESIONAL EN
FARMACIA. ESPECIALIDAD INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS BASADAS EN LA NANOMEDICINA PARA LA ADMINISTRACIÓN DE ANTICOAGULANTES. POTENCIAL APLICACIÓN EN COVID-19

AUTORA: MARÍA DEL ÁGUILA GÓMEZ

TUTORA: MARIA DOLORES CAYERO OTERO

TIPOLOGÍA: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

DEPARTAMENTO: FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

Lugar y fecha de presentación: Sevilla, 12 de JULIO 2021

ÍNDICE

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCIÓN	2
2.1.	Descripción del virus	3
2.2.	Fisiopatología	6
2.3.	Estadios de la enfermedad y síntomas	8
2.4.	Síntomas extrapulmonares	11
2.5.	Prevención.....	14
3.	OBJETIVOS	14
4.	METODOLOGÍA	15
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
5.1.	Líneas de tratamiento.....	17
5.1.1.	Agentes antirretrovirales	19
5.1.2.	Corticoides.....	21
5.1.3.	Antirreumáticos y antiprotozoarios	22
5.1.4.	Inmunomoduladores.....	24
5.1.5.	Antihelmínticos.....	27
5.1.6.	Anticuerpos.....	27
5.1.7.	Antiplaquetarios y anticoagulantes	28
5.2.	Coagulación y COVID-19	29
5.3.	La terapia anticoagulante para el COVID-19.....	35
5.3.1.	Heparinas.....	37
5.3.2.	Alteplasa.....	39
5.3.3.	Dornasa alfa.....	41
5.4.	La nanomedicina	45
5.5.	Nanomedicina y anticoagulantes	48
5.5.1.	Nanotransportadores de heparinas	49
5.5.2.	Nanotransportadores de alteplasa	51
5.5.3.	Nanotransportadores de dornasa alfa	56
5.6.	Las vacunas y la nanomedicina. Pfizer y Moderna	56
6.	CONCLUSIONES	59
7.	BIBLIOGRAFÍA	60

ÍNDICE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Imagen de microscopio electrónico de transmisión (TEM) de viriones del SARS-CoV-2.....	2
Figura 2. (A) Distribución de la ACE2 en algunos órganos y síntomas por la infección del COVID-19. (B) Relación entre la ACE2 y el daño cardiovascular producido por el SARS-CoV-2.....	4
Figura 3. Principales proteínas estructurales del SARS-CoV-2.....	5
Figura 4. Fisiopatología del COVID-19.....	6
Figura 5. Papel de la ACE2 en la modulación de la presión arterial en sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	7
Figura 6. Clasificación de los síntomas del COVID-19 según la OMS.....	10
Figura 7. Fases clave en la progresión de la enfermedad.....	11
Figura 8. Manifestaciones extrapulmonares del COVID-19.....	12
Figura 9. Gráfico representativo de la evolución en el número de publicaciones en Scopus con la búsqueda “ <i>covid-19 and nanoparticles</i> ”.....	16
Figura 10. Gráfico representativo de la evolución en el número de publicaciones en Scopus con la búsqueda “ <i>nanoparticles and anticoagulants</i> ”.....	16
Figura 11. (A) Algoritmo propuesto del tratamiento para el COVID-19 basado en los estudios actuales. (B) Posibles estrategias de tratamiento para los síntomas progresivos de los pacientes con COVID-19.....	18
Figura 12. Posibles dianas celulares y moleculares donde actúan los fármacos utilizados para el tratamiento del COVID-19.....	19
Figura 13. Mecanismos de inhibición del SARS-CoV-2 por la cloroquina, hidroxicloroquina y el remdesivir.....	23
Figura 14. Mecanismos propuestos de la transmisión del SARS-CoV-2 y su relación con la trombosis.....	31

Figura 15. Representación esquemática de la activación del sistema del complemento por el SARS-CoV-2 que deriva en la formación de coágulos de sangre en diferentes órganos.....	34
Figura 16. Depósito de fibrina en los pulmones durante el ARDS y degradación por la administración nebulizada de tPa.....	40
Figura 17. Beneficios de la terapia anticoagulante en la infección por el COVID-19..	41
Figura 18. Hipótesis sobre la interacción entre los neutrófilos y la hiperinflamación en el COVID-19.....	41
Figura 19. Formación excesiva de NET puede derivar en una variedad de patologías serias.....	43
Figura 20. Actividad antiviral de la dornasa alfa.....	44
Figura 21. Estrategias basadas en nanomedicina para el desarrollo de fármacos y vacunas frente al COVID-19.....	46
Figura 22. Nanoportadores utilizados para el desarrollo de fármacos.....	47
Figura 23. Nano y micropartículas de heparinas de bajo peso molecular a través de diferentes rutas.....	49
Figura 24. Transportadores basados en nanomedicina para activadores de plasminógeno.....	51
Figura 25. Síntesis de nanogel. Esquema de la síntesis de partículas núcleo-capa y fabricación de FSN con la posterior carga de tPa mediante una técnica de rehidratación.....	52
Figura 26. Estrategia de administración de precisión utilizando la focalización magnética y la liberación activada por ultrasonido.....	55
Tabla 1. Relación entre la coagulopatía y el COVID-19.....	30

1. RESUMEN

A finales del año 2019, una nueva enfermedad de carácter vírico estallaba a nivel mundial provocando una pandemia que, a día de hoy, sigue vigente. Esta enfermedad, llamada COVID-19 es una infección provocada por el SARS-COV2. Un virus de la familia coronavirus, no desconocida para la población mundial ya que, previamente surgieron otros virus SARS y MERS aunque con tasas de infección mínimas. La alta incidencia de la enfermedad COVID-19 ha llevado a la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas no desarrolladas anteriormente.

La enfermedad provocada por el coronavirus se transmite, generalmente, por la inhalación de gotículas y partículas respiratorias muy pequeñas que contienen el virus. En función de la afectación de cada paciente, se pueden diferenciar estadios que abarcan desde los asintomáticos hasta la muerte del paciente.

En pacientes diagnosticados con COVID-19 severa, uno de los síntomas más representativos es la alteración de la cascada de coagulación, dando lugar a procesos trombóticos. El tratamiento de estos episodios puede incluir fármacos anticoagulantes para promover la disolución del trombo pero, como desventaja, dichos principios activos se caracterizan por poseer numerosos efectos secundarios. Uno de los más llamativos y graves es la probabilidad de hemorragia en otras partes del cuerpo diferentes a la zona donde se formó el trombo.

Dicho inconveniente podría solventarse por el uso de una nueva ciencia emergente, la nanotecnología. Ésta, aplicada a la medicina podría ofrecer numerosas ventajas para el tratamiento con estos fármacos ya que los nanosistemas pueden ser dirigidos específicamente al coágulo, sin provocar efecto en el resto del cuerpo y, por lo tanto, evitando así las posibles hemorragias. Aunque no estén orientadas para el tratamiento de la coagulación, prueba de la utilidad de esta ciencia en la enfermedad, es el desarrollo de las vacunas para el virus (Pfizer y Moderna). Vacunas formuladas con nanopartículas lipídicas que contienen el ARNm del virus.

Palabras clave: COVID-19, tratamiento, anticoagulantes, nanomedicina y nanopartículas.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad producida por el COVID-19 se ha convertido en uno de los mayores desafíos de salud desde la pandemia de gripe española 100 años atrás (McFadyen et al., 2020).

Dada la biología desconocida del virus y su elevada tasa de transmisión, ha habido un gran esfuerzo global para entender las dimensiones patológicas de la enfermedad, que incluyen el aislamiento del virus, la identificación de su secuencia genética y la búsqueda de opciones terapéuticas apropiadas para su tratamiento (Hushmandi et al., 2020).

El SARS-CoV-2 se trasmite de persona a persona principalmente a través de estornudos y tos con las gotitas de saliva o la secreción nasal, además del contacto directo con personas infectadas y el contacto indirecto con superficies utilizadas inmediatamente por personas infectadas (Ellah et al., 2020). El periodo de incubación es aproximadamente de 2-14 días, durante el cual las partículas del virus están presentes en las secreciones de las personas, pudiendo infectar a otras, incluso si la persona es asintomática. La OMS ha estimado el número reproductivo básico del virus entre 1'4-2'5, pero otros estudios asumieron que es alrededor de 3'3. Además, la transmisión viral podría ser posible hasta 10 días después del inicio de los primeros síntomas (Choi et al., 2021).

A escala microscópica, los viriones del SARS-CoV-2 tienen el siguiente aspecto mostrado en la Figura 1:

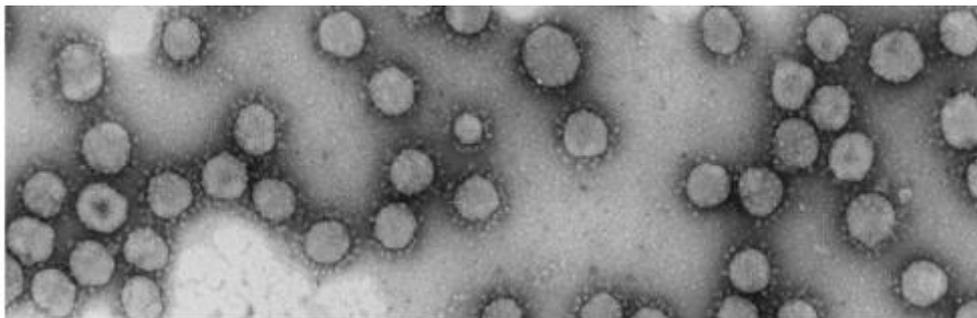


Figura 1. Imagen de microscopio electrónico de transmisión (TEM) de viriones del SARS-CoV-2 (Ruiz-Hitzky et al., 2020).

2.1. Descripción del virus

El síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) es un virus de ARN localizado genéticamente dentro de la familia Coronaviridae y concretamente dentro del género de los Betacoronavirus (junto con los virus MERS-CoV y SARS-CoV), que son capaces de infectar al hombre y que usa la glicoproteína (proteína 180-kDa *spike*) para unirse al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), principal receptor de entrada viral (Brodin, 2021; Stasi et al., 2020). Esta proteína *spike*, está formada por dos subunidades, la S1 que induce la unión viral a los receptores de la superficie de la célula huésped y la S2 que media la fusión de la célula del hospedador con la membrana viral (Choi et al., 2021; McFadyen et al., 2020). Dentro de la subunidad S1, es donde se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD) (Choi et al., 2021). Esta proteína S es el mayor determinante inmunogénico del SARS-CoV-2 (Abdellatif et al., 2021; Jones et al., 2020).

Después de la unión de S1 con ACE2, para que se dé la fusión de la membrana es necesaria la presencia de la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2), que se unirá a la subunidad S2 para así producirse la completa entrada del virus en la célula del huésped (Ghebrehiwet y Peerschke, 2020; Gupta et al., 2020; Matheson y Lehner, 2020). La interacción entre el SARS-CoV-2 y la ACE2 es crucial para determinar el tropismo tisular y la progresión desde los estadios tempranos de la enfermedad hasta la enfermedad en sí del COVID-19 (Matheson y Lehner, 2020). Otra proteína que interviene en la entrada del virus a las células es la Neuropilina 1 (NRP1); aunque su funcionamiento no está claro hoy en día, ésta podría aumentar las células infectadas y, por consiguiente, la infectividad del virus (Matheson y Lehner, 2020). Este virus, el SARS-CoV-2 descubierto por primera vez en Wuhan (China), es el responsable de la enfermedad de la COVID-19 que ha infectado a alrededor de 176 millones de personas y ha provocado la muerte de más de 3,81 millones de personas globalmente, a fecha del 15 de junio de 2021.

La ACE2 es una proteína transmembrana, cuya amplia distribución está estrechamente relacionada con las secuelas clínicas del COVID-19 (Figura 2A) (Wu et al., 2020). Sus manifestaciones fisiopatológicas se muestran a través del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), el sistema del complemento y la cascada de coagulación (Curran et al., 2020). Tal es su distribución, que varios informes han mostrado abundante expresión de la misma enzima en el epitelio intestinal, lo que conlleva a la diseminación viral a través de las heces (Brodin, 2021). En condiciones

normales, esta enzima desempeña un papel protector cardiovascular ya que transforma la angiotensina II en angiotensina 1-7 la cual promueve una actividad antiinflamatoria, antifibrinolítica, antioxidativa y vasodilatadora; no obstante, al ser a la vez esta enzima la principal receptora de entrada viral del SARS-CoV-2, se desregula y provoca un aumento de la cantidad de angiotensina II que conlleva el daño cardiovascular (Wu et al., 2020). En este contexto, los daños cardiovasculares producidos en los pacientes con COVID-19 resultan de la pérdida de protección cardiovascular mediada por la ACE2 (Figura 2B) (Wu et al., 2020).

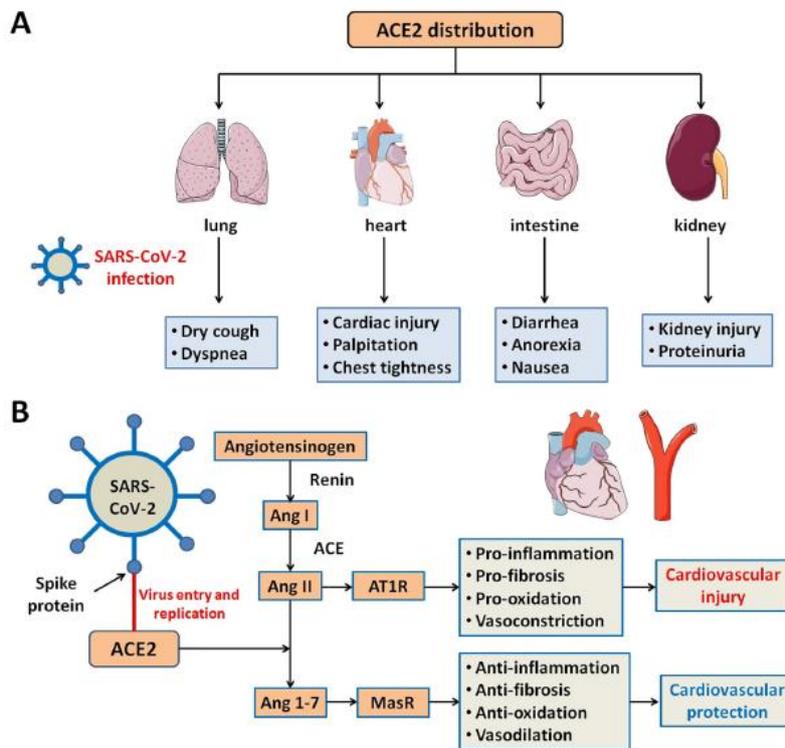


Figura 2. (A) Distribución de la ACE2 en algunos órganos y síntomas por la infección del COVID-19. (B) Relación entre la ACE2 y el daño cardiovascular producido por el SARS-CoV-2 (Wu et al., 2020).

En los últimos estudios se ha demostrado la elevada afinidad del SARS-CoV-2 por la ACE2 frente a otro virus como el SARS-CoV. Esto podría explicar la rápida transmisibilidad del virus en cuestión, aun cuando se presenta la enfermedad de forma asintomática en los pacientes dificultando así el aislamiento para contener la expansión del virus (Gupta et al., 2020; Matheson y Lehner, 2020); y aunque la tasa de mortalidad de este virus con respecto al SARS-CoV y el MERS-CoV sea menor, esta alta afinidad por el receptor hace que sea un virus más peligroso (Al-Hatamleh et al., 2021). Andersen et al (2020) en sus estudios también resaltan la alta afinidad de la proteína *spike* frente a

la ACE2 humana en el caso del SARS-CoV-2. Para explicarlo, se apoyan en la idea de la selección natural en el hombre como la causa de esta elevada afinidad ya que el RBD de la proteína *spike* es distinto del SARS-CoV, traduciéndose en una mayor capacidad patógena del virus.

Además de la proteína *spike* (S), el genoma del virus codifica las siguientes proteínas estructurales principales: la proteína de membrana M, la proteína de envoltura E y la proteína de la nucleocápside N (Curran et al., 2020). Éstas se encuentran representadas en la Figura 3:

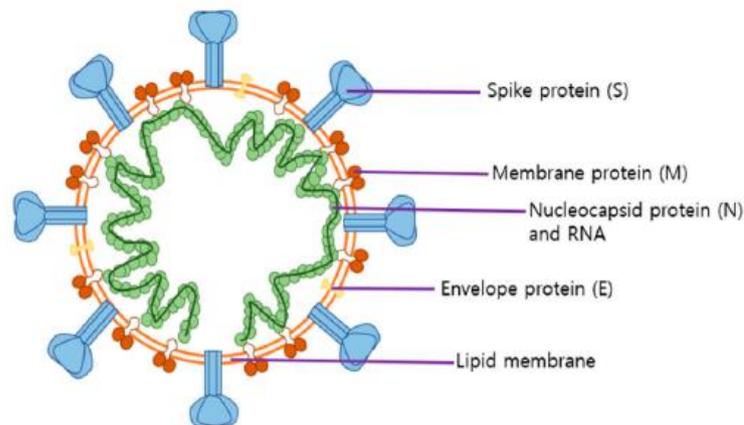


Figura 3. Principales proteínas estructurales del SARS-CoV-2 (Choi et al., 2021).

La proteína N, involucrada en el ensamblaje viral y la transcripción, encierra el genoma viral ya que se une al ARN del coronavirus. En particular, el dominio de unión al ARN de la proteína N, modula su interacción con el ARN y la señalización celular con la célula huésped. Por ejemplo, inhibe la producción de citocinas al interrumpir las vías de señalización. La proteína M, que se encuentra entre la membrana y la cápside, determina la forma viral a medida que se une a la nucleocápside y es esencial para la maduración del SARS-CoV-2. Y por último la proteína E, es la proteína estructural más pequeña que actúa como canal de iones virales y aunque parece participar en el ensamblaje, la gemación y la formación de la envoltura, el papel específico de dicha proteína no se conoce a ciencia cierta (Choi et al., 2021).

2.2. Fisiopatología

El ciclo de replicación del virus incluye seis etapas: entrada viral, traducción de maquinaria de replicación, replicación, traducción de proteínas estructurales, ensamblaje del virión y liberación (Hushmandi et al., 2020).

Una vez que el virus ya se encuentra establecido en el organismo, éste es conocido por causar tanto enfermedad pulmonar, incluyendo neumonía y ARDS (Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda), como síntomas extrapulmonares del COVID-19. Se han identificado numerosos mecanismos de infección y, en función del mecanismo que se produzca en el paciente se darán síntomas extrapulmonares o pulmonares; estos posibles mecanismos se encuentran recogidos en la Figura 4 (Gupta et al., 2020).

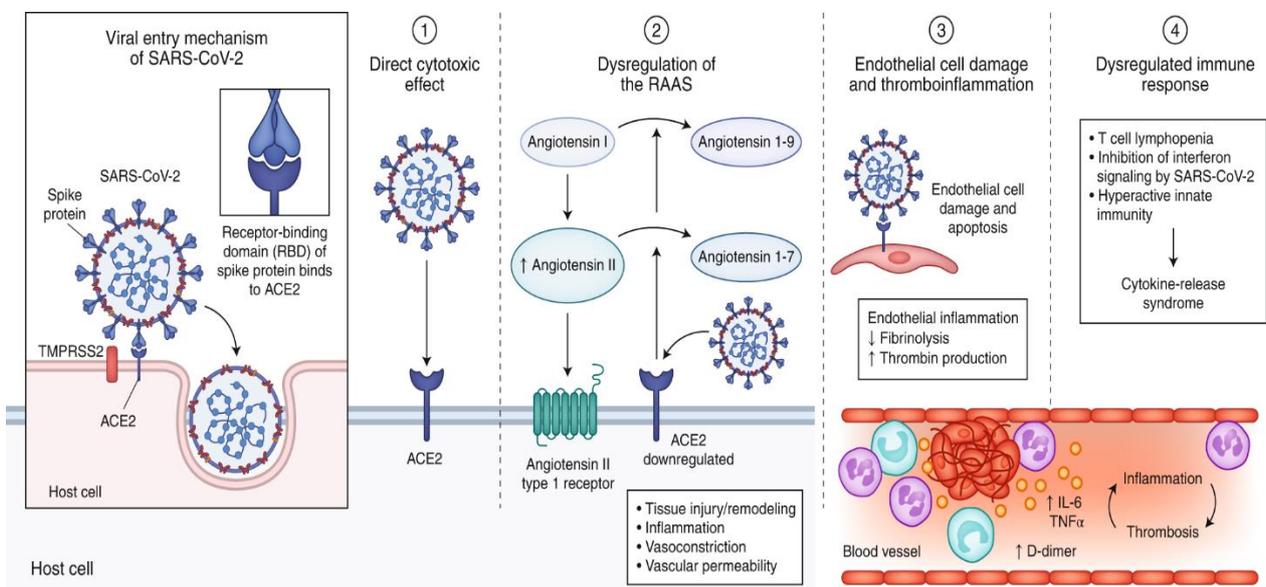


Figura 4. Fisiopatología del COVID-19 (Gupta et al., 2020)

Los mecanismos propuestos son los siguientes (Gupta et al., 2020):

1. **Toxicidad viral directa:** como se ha comentado anteriormente, este virus se transmite principalmente a través de la exposición directa o indirecta con las secreciones del tracto respiratorio, esta afinidad por el tracto respiratorio es debido a la alta expresión de su receptor de entrada, ACE2, presente en numerosos tipos de células epiteliales del tracto (epiteliales pulmonares, macrófagos alveolares o células calciformes entre otros). Además, los estudios histopatológicos, han informado de tropismo del SARS-CoV-2 en otros órganos más allá del tracto

respiratorio, incluyendo renal, miocárdico, neurológico, faríngeo y gastrointestinal.

2. **Desregulación del RAAS:** funciones desadaptativas del RAAS constituyen otro mecanismo fisiopatológico plausible de daño tisular relacionado con la infección por el SARS-CoV-2. El RAAS, está compuesto por una cascada de péptidos reguladores que participan en procesos fisiológicos del cuerpo, incluyendo el equilibrio de electrolitos líquidos, regulación de la presión arterial, permeabilidad vascular y crecimiento de tejido. La ACE2 ha surgido como un potente contrarregulador de la vía RAAS, ya que escinde la angiotensina I en angiotensina 1-9 inactiva y la angiotensina II en angiotensina 1-7, con propiedades vasodilatadoras, antiproliferativa y antifibrinolíticas.

Este mecanismo se encuentra representado en la siguiente Figura 5 (Choi et al., 2021):

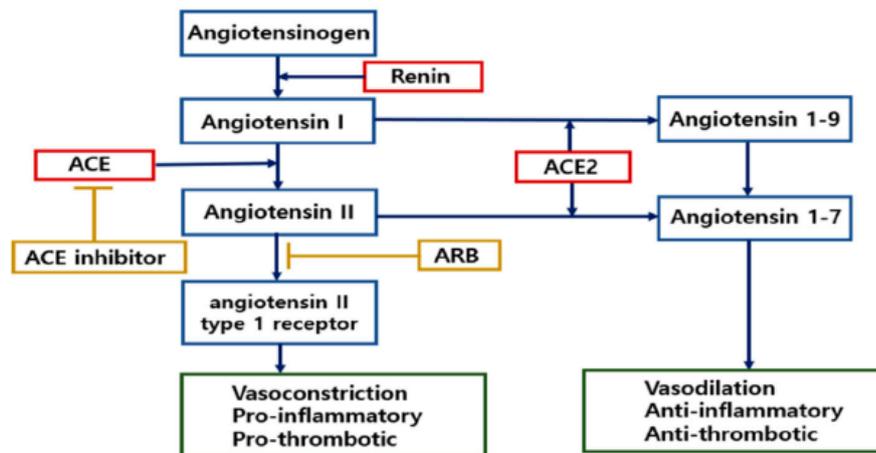


Figura 5. Papel de la ACE2 en la modulación de la presión arterial en sistema renina-angiotensina-aldosterona (Choi et al., 2021).

Maiuolo et al (2020), plantea que al ser la ACE2 análoga a la ACE y ésta última clave para la regulación del sistema RAAS, la relación equilibrada entre ambas es fundamental para el mantenimiento de la integridad endotelial de los vasos. Una desregulación podría estar asociada con la trombosis vascular (Maiuolo et al., 2020). En definitiva, la infección por este virus induce la regulación negativa de ACE2 y empeora la inflamación (Choi et al., 2021).

3. Daño endotelial celular y tromboinflamación: se ha demostrado la expresión de la ACE2 en el endotelio arterial y venoso de diversos órganos. La lesión endotelial mediada por infección y endotelialitis que se da en múltiples lechos vasculares en pacientes con COVID-19, puede desencadenar en producción de trombina, inhibición de la fibrinólisis y activación de la vía del complemento, dando lugar a tromboinflamación, depósito de microtrombos y disfunción microvascular.
4. Desregulación de la respuesta inmune: la desregulación de la respuesta inmune y el síndrome de liberación de citoquinas debido a la sobreactivación de la inmunidad innata, caracteriza las presentaciones severas de COVID-19. La elevación de los marcadores inflamatorios del suero como la proteína C-reactiva, la ferritina, la tasa de sedimentación eritrocitaria, el dímero D, el fibrinógeno y la lactato deshidrogenasa son indicativo de la enfermedad crítica y mortalidad en los pacientes con COVID-19. Elevados niveles de IL-6 también en suero, se ha relacionado con un peor pronóstico de la enfermedad.

2.3. Estadios de la enfermedad y síntomas

Se ha publicado recientemente estudios que señalan la importancia del balance entre la exposición viral y la eficacia de la respuesta inmune innata local: IgA, IgM y anticuerpos MBL (lectina de unión a la manosa), como crucial en la evolución de la enfermedad por la COVID-19 (Stasi et al., 2020). En particular, este estudio identifica distintos estadios de la enfermedad (además de los asintomáticos) que son los siguientes (Stasi et al., 2020):

- 1º estadio: caracterizado por infección del tracto respiratorio agudo, acompañado de fiebre, fatiga muscular y dolor. Las náuseas, vómitos y la diarrea son infrecuentes en este estado inicial de la enfermedad.
- 2º estadio: caracterizado por disnea y neumonía.
- 3º estadio: se produce un peor escenario de la enfermedad dominado por una tormenta de citoquinas y la consecuente hiperinflamación. Ello provoca consecuencias locales y sistémicas causando vasculopatía arterial y venosa en los pulmones con trombosis en los pequeños vasos que evolucionan hasta ARDS, lesiones serias en los mismos, incluyendo en algunos casos coagulación intravascular diseminada (CID). Los daños renales y cardiacos, la sepsis y las infecciones secundarias son otras de las complicaciones frecuentes en esta fase.

- 4° estadio: donde se produce la muerte o la recuperación. La mortalidad está asociada a la edad avanzada, la presencia de comorbilidades, enfermedades serias, fallo respiratorio, elevados niveles de dímero D, de proteína C-reactiva y bajos niveles de linfocitos e infecciones.

Choi et al han expuesto en sus trabajos como principales causas de muerte la neumonía y el posterior ARDS. El ARDS, reconocido por primera vez en 1967, es un síndrome clínico relacionado con la insuficiente oxigenación debido a daño pulmonar o sistémico (Choi et al., 2021). Es la razón más común de insuficiencia respiratoria en pacientes críticamente enfermos, caracterizado por sepsis, daño alveolar (tanto epitelial como endotelial), alta permeabilidad, edema pulmonar no cardiogénico e hipoxemia (Prasanna et al., 2021).

Curran et al (2020), proponen tres estadios posibles de la enfermedad: infección temprana, afección pulmonar e hiperinflamación sistémica, a veces con sepsis. Todo comienza con la combinación de fiebre, cansancio, tos seca, dificultad para respirar, dolor de cabeza, faringitis, rinorrea, hemoptisis, náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. Algunos pacientes muestran manifestaciones cutáneas o alteración del gusto y del olfato. Los hallazgos clínicos comunes al ingreso incluyen opacidad en vidrio delustrado y sombras parciales bilaterales en las imágenes de tórax, linfocitopenia y niveles elevados de proteína C reactiva. La progresión de la enfermedad es más común en pacientes con hipertensión, diabetes, cardiopatía coronaria y sistema inmunológico con deficiencias y esta población tiene un mayor riesgo de insuficiencia orgánica múltiple y muerte. Una mayor gravedad de la enfermedad se asocia con niveles altos de alanina aminotransferasa, IL-6, factor de necrosis pulmonar (TNF) y productos de degradación de fibrina (dímero D) (Curran et al., 2020).

La mayoría de los infectados, entre un 50-70%, son asintomáticos, es decir, no desarrollan ninguno de los síntomas citados o pacientes con síntomas leves o moderados que se recuperan en dos semanas. Sin embargo, el 14% de los pacientes presentan serios problemas y requieren hospitalización y oxígeno, mientras que el 5% necesitan cuidados intensivos (Tsai et al., 2021). La severidad de dichos síntomas está relacionado con la carga viral de los pacientes con COVID-19 (Choi et al., 2021).

De forma gráfica, en la siguiente Figura 6 están representado los principales síntomas que se dan en los pacientes con COVID-19 de acuerdo con la OMS y clasificados según su severidad:

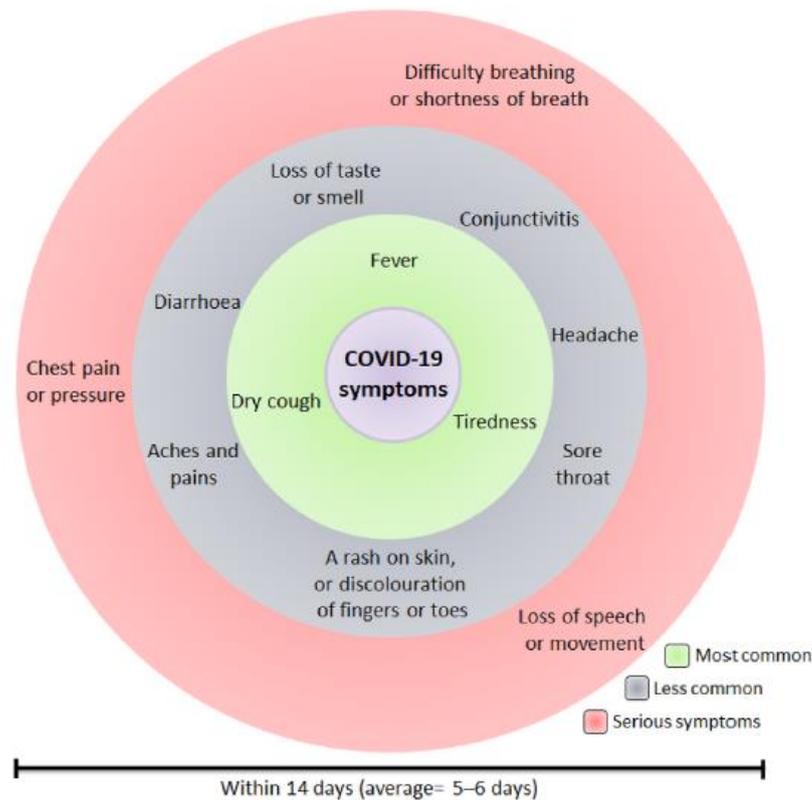


Figura 6. Clasificación de los síntomas del COVID-19 según la OMS (Al-Hatamleh et al., 2021).

La neumonitis viral está presente en más del 90% de los casos sintomáticos después de los 3-5 días desde el comienzo de la infección. Esto refleja, presuntamente, la replicación del virus en el tracto respiratorio bajo, con infección de los neumocitos tipo II y acompañado de inflamación como se observa en la Figura 7. La patología pulmonar en esta fase temprana está escasamente documentada ya que la mayoría de los pacientes se recuperan, (aproximadamente 80%) mientras que el 20% de los pacientes empeoran rápidamente (7-10 días desde el comienzo de los síntomas). En este punto, es cuando los pacientes ingresan en el hospital más frecuentemente con fiebre preocupante, hipoxia, linfopenia, marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva, la interleucina 1 (IL-1) y la interleucina 6 (IL-6), coagulopatía y alteraciones cardiovasculares (Matheson y Lehner, 2020).

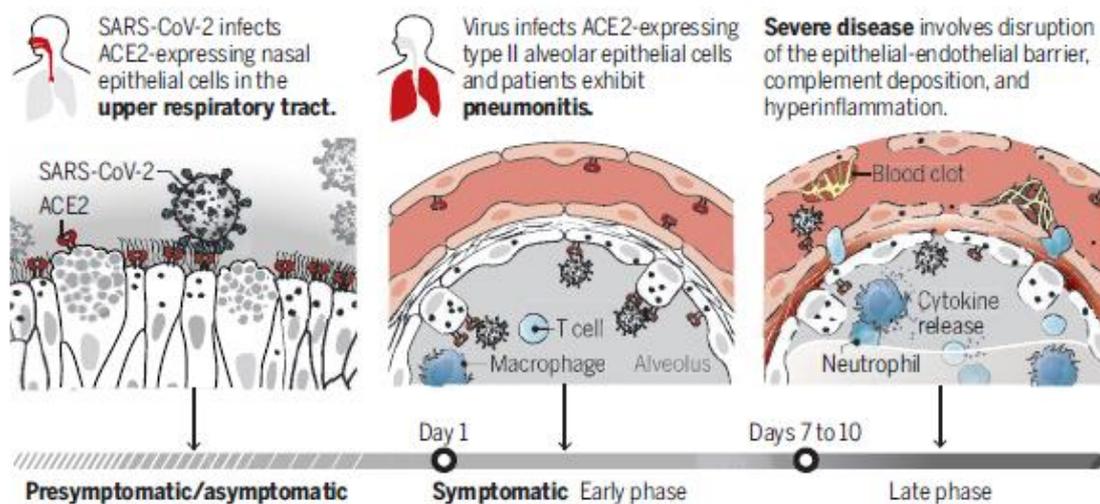


Figura 7. Fases clave en la progresión de la enfermedad. El SARS-CoV-2 se une a la ACE2. La infección inicial en el tracto respiratorio superior suele ser asintomática, pero esos pacientes pueden transmitir el virus. Para aquellos que desarrollan síntomas, alrededor del 90% tienen neumonitis, causado por la infección de las células del tracto respiratorio bajo. Alguno de estos pacientes puede sufrir una progresión severa de la enfermedad con disrupción de la barrera epitelial-endothelial e intervención multiorgánica (Matheson y Lehner, 2020).

2.4. Síntomas extrapulmonares

Las derivaciones sistémicas o extrapulmonares de la infección por COVID-19 puede deberse a la infección (mediada por ACE2) de los neumocitos tipo II dando lugar, como se ha citado previamente, a una neumonitis viral. Ello provoca la extensión de la lesión pulmonar aguda con la concomitante ruptura del epitelio respiratorio y daño endotelial, pudiendo llegar la infección de esta forma al resto del organismo. El reto clínico es la parada de este deterioro, el cual se cree que está relacionado con el sistema inmune adaptativo, los anticuerpos y células T, centrando la atención en el uso de terapias inmunomoduladoras en pacientes que presentan un caso grave de la enfermedad (Matheson y Lehner, 2020).

Una de las principales causas de los síntomas o complicaciones extrapulmonares, se debe a la alta expresión del receptor viral ACE2 en muchas partes del cuerpo (Liu et al., 2020). Por todo ello, las consecuencias del COVID-19 no se limitan exclusivamente a manifestaciones pulmonares, sino que también se puede presentar en forma de

complicaciones sistémicas (Figura 8) en algunos órganos y/o alteraciones en los valores normales fisiológicos (Gupta et al., 2020).

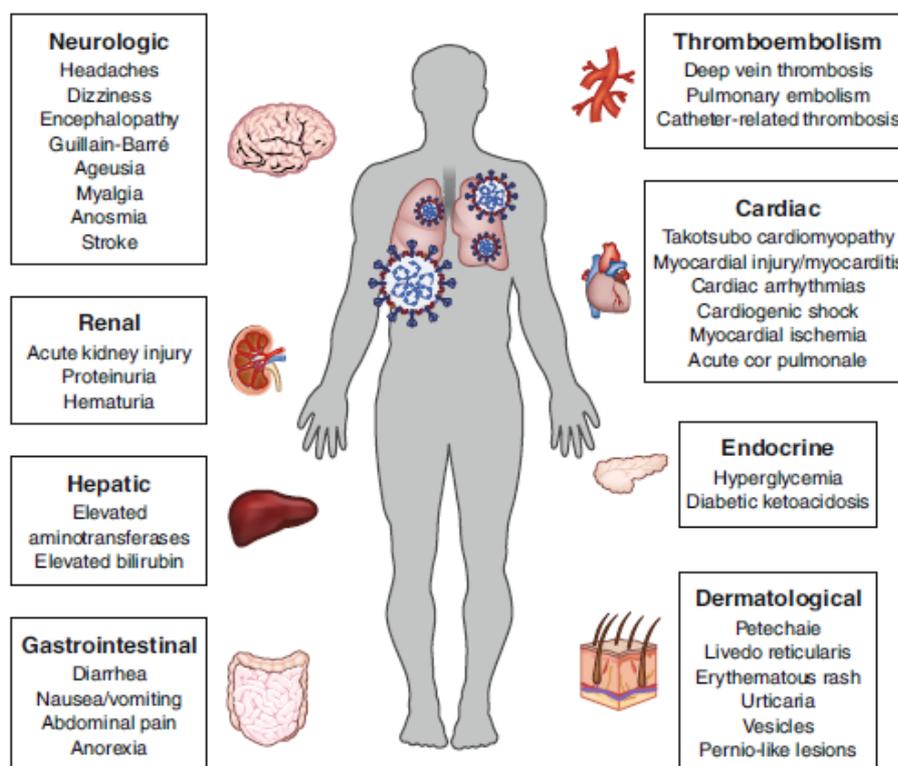


Figura 8. Manifestaciones extrapulmonares del COVID-19 (Gupta et al., 2020).

De forma detallada, las complicaciones principales extrapulmonares, a día de hoy, son las siguientes (Gupta et al., 2020):

- Manifestaciones hematológicas y relacionadas con el sistema inmune: los pacientes presentan linfopenia, leucocitosis, neutrofilia, trombocitopenia (complicación común asociado a un elevado riesgo de mortalidad) (Abu-Farha et al., 2020). En cuanto a los marcadores inflamatorios, se darán elevaciones de la tasa de sedimentación globular, proteína C-reactiva, ferritina, IL-6, lactato deshidrogenasa, elevados niveles de dímero D, fibrinógeno y tiempo de protrombina elevados, lo que lleva a microtrombosis. Según los estudios de Choi et al (2021), el estado de hipercoagulabilidad es una característica distintiva en los pacientes de COVID-19 (Choi et al., 2021).
- Manifestaciones cardiovasculares: isquemia miocárdica e infarto de miocardio (tipo 1 y 2), miocarditis, arritmia, miocardiopatía y shock cardiogénico.

La expresión de ACE2 es alta en los cardiomiocitos lo que permite una lesión viral directa; en particular, los pacientes con enfermedad vascular previa tienden a expresar ACE2 en grandes proporciones en el endotelio, por ello tienen mayor riesgo (Choi et al., 2021).

- Manifestaciones renales: lesión renal aguda, anormalidades de electrolitos (hiperpotasemia, hiponatremia e hipernatremia), proteinuria, hematuria y acidosis metabólica.
- Manifestaciones gastrointestinales y hepatobiliares: náuseas y/o vómitos, diarrea, dolor abdominal, anorexia, casos raros de isquemia mesentérica y gastrointestinal.
- Manifestaciones endocrinas: hiperglucemia, cetoacidosis, cetosis euglucémica y enfermedad grave en pacientes con diabetes preexistente y/u obesidad.
- Manifestaciones neurológicas y oftalmológicas: dolor de cabeza, mareos, anosmia, ageusia, anorexia, mialgias, fatiga, encefalopatía, encefalitis, síndrome de Guillain-Barré, encefalopatía necrosante hemorrágica y conjuntivitis.

Aunque en gran parte es desconocido, el SARS-CoV-2 parece invadir el cerebro por transporte axonal retrógrado a través de la placa cribiforme o del sistema circulatorio sistémico dañando así los tejidos neuronales. Sin embargo, algunos estudios han inferido que el daño a los nervios se debe a la inflamación y trombosis causada por el virus (Choi et al., 2021).

La enfermedad producida por la COVID-19, se puede presentar de forma aguda o severa en función de la clínica de los pacientes y en algunos casos, incluso algunos síntomas pueden permanecer durante un tiempo conociéndose como COVID persistente. En el primero de los casos, dependerá de factores como el sexo, la presencia de comorbilidades como la obesidad, la hipertensión, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y enfermedades cardiovasculares que se asocian con un desarrollo de la enfermedad del COVID de forma seria o grave. También el tabaco se considera otro factor de riesgo a tener en cuenta ya que induce la expresión de la ACE2, lo que le permite al virus como hemos comentado anteriormente, entrar en las células pudiendo influir en la invasión viral y los efectos negativos en los pulmones (Brodin et al., 2021).

Por otra parte, el COVID persistente ocurre cuando los típicos síntomas tienen una duración superior a los dos meses de duración. Entre éstos encontramos cansancio persistente, mialgias, desregulación autonómica manifestada como el síndrome de taquicardia ortostática postural, termorregulación anormal, alteraciones intestinales y manifestaciones en la piel (Brodin, 2021).

2.5. Prevención

Siempre es mejor prevenir que curar para combatir cualquier infección. Para hacer frente al COVID-19 y su rápida difusión, lo recomendable es seguir las medidas preventivas: lavarse las manos con frecuencia y utilizar desinfectantes, usar mascarillas de protección individual, mantener al menos un metro de distancia y cubrir la boca/nariz al toser o estornudar. También es clave que las personas sospechosas hagan cuarentena y las infectadas se aíslen; fundamental para cortar la propagación del virus en los distintos grupos de población (Bhavana et al., 2020).

3. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo de revisión bibliográfica es el estudio de la aplicación de la nanomedicina para la administración de agentes fibrinolíticos y/o anticoagulantes para el tratamiento de COVID severo.

Esto se ha llevado a cabo mediante una serie de objetivos parciales:

- Conocer la etiología, fisiopatología, estadios y síntomas de la enfermedad del COVID-19.
- Revisar los últimos avances en los tratamientos que se están utilizando para tratar la infección.
- Dilucidar los efectos secundarios que producen los anticoagulantes o fibrinolíticos fuera de su diana de acción.
- Presentar la nanomedicina como posible solución potencial antes los problemas de los anticoagulantes y su aplicación frente al SARS-CoV-2.
- Poner de manifiesto las ya demostradas ventajas de la nanomedicina en forma de vacunas contra el COVID-19.

4. METODOLOGÍA

Este Trabajo Fin de Máster es una Revisión Bibliográfica y, para su realización, se ha consultado diferentes artículos de revistas científicas obtenidas de numerosas bases de datos como son: Pubmed, ISI web of Knowledge, Public Library of Science (PLOS), Medline, Science direct, Intramed.

Las palabras clave para la búsqueda han sido: *COVID-19, symptoms of COVID-19, COVID treatment, coagulation and COVID-19, anticoagulants and COVID-19, problems of anticoagulants in COVID-19, use of polymer nanoparticles in COVID-19, alteplase and COVID-19, rtPa and COVID-19, recombinant tissue plasminogen activator and COVID-19, nanomedicine and anticoagulants in COVID-19, anticoagulants and polymer nanoparticles, heparins in polymer nanoparticles, heparins encapsulated por COVID-19, heparins and nanomedicine for COVID-19, PLGA nanocarriers and COVID-19, nanomedicine and COVID-19.*

Los criterios de selección o filtros utilizados fueron: review, free full text, clinical trial. No se ha tenido en cuenta el filtro por años porque se trata de una enfermedad reciente, surgida en 2019. En resumen, para el desarrollo del presente trabajo de revisión bibliográfica se ha tenido en cuenta un total de 74 referencias (incluyendo artículos científicos, libros y capítulos de libros)

En la búsqueda bibliográfica realizada y como se observa en los siguientes gráficos (Figura 9 y 10), se comprueba como el número de publicaciones en relación con dicha investigación ha ido aumentando en los últimos años a partir de los primeros casos de COVID-19, y por el avance progresivo en las investigaciones sobre la nanomedicina y nanopartículas, que no deja de ser a día de hoy, una ciencia emergente.

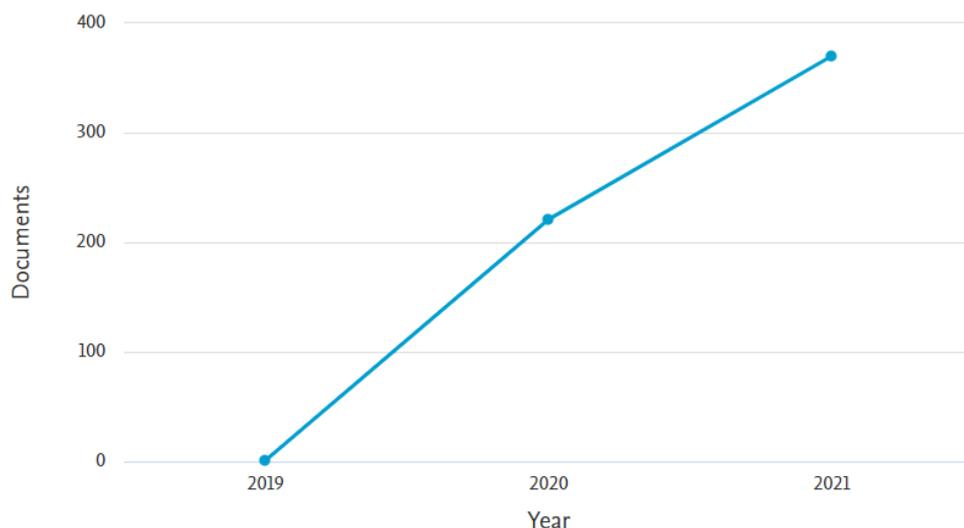


Figura 9. Gráfico representativo de la evolución en el número de publicaciones en Scopus con la búsqueda “covid-19 and nanoparticles”

En la Figura 9 se puede comprobar como las investigaciones y la generación de publicaciones científicas en este campo de la nanomedicina y su aplicación en el COVID-19, ha ido aumentando de forma acusada desde que surgió la citada enfermedad en el año 2019 y según el gráfico, se espera que esta tendencia continúe en los próximos años.

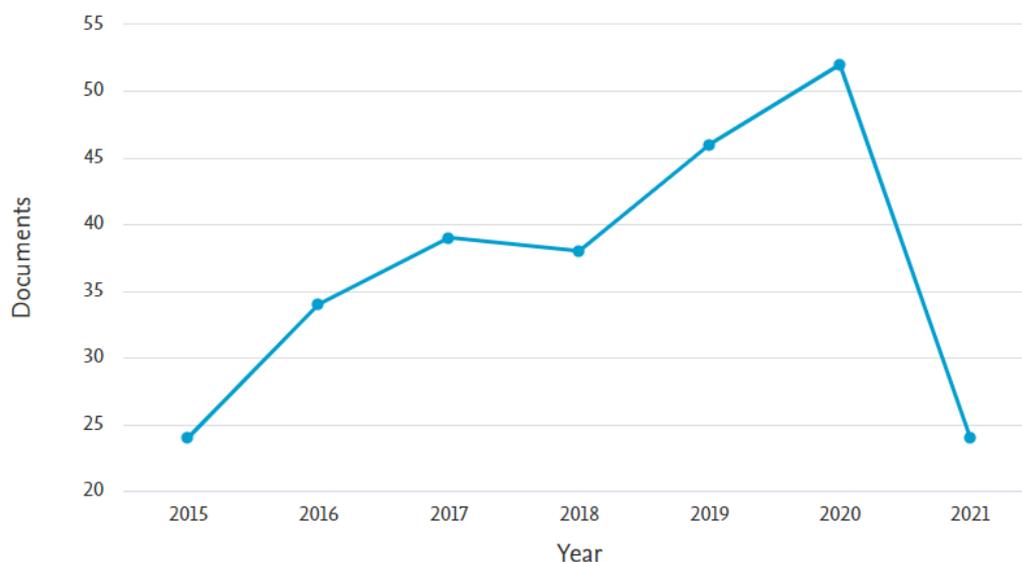


Figura 10. Gráfico representativo de la evolución en el número de publicaciones en Scopus con la búsqueda “nanoparticles and anticoagulants”

En esta otra gráfica (Figura 10), se observa como con las palabras de búsqueda “nanoparticles and anticoagulants” la tendencia en la publicación de artículos también ha ido aumentando en los últimos años, con sus picos y valles, hasta principios del 2020,

año en el que se observa una pronunciada caída en el número de publicaciones de forma drástica; no obstante, se tendría que comprobar la evolución a lo largo del presente año 2021, ya que los últimos estudios y como se pretende recoger en dicha revisión, se muestra la prometedora implicación de la nanomedicina en el uso de anticoagulantes para los estadios más graves de la enfermedad del COVID-19.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez conocida la fisiopatología de la enfermedad, los estadios, los síntomas... a lo largo de este año se han buscado numerosas alternativas de tratamiento frente a este nuevo virus.

La nanomedicina, ofrece numerosas oportunidades contra las infecciones por coronavirus en el campo de la vacunación, diagnóstico y tratamiento; sin embargo, a pesar de estas intervenciones, sigue siendo un gran desafío traducir las nanopartículas de forma segura de la innovación del laboratorio a la clínica. Esto es evidente por ejemplo en el caso de las vacunas RBD basadas en nanopartículas, donde RBD es una secuencia variable en el genoma del CoV, o también desde el punto de vista de la ampliación de producción de nanopartículas (Ellah et al., 2020).

5.1. Líneas de tratamiento

Actualmente, no hay fármacos efectivos para la infección por el SARS-CoV-2 y se sabe que llevará tiempo desarrollar medicamentos que sean efectivos y específicos para el tratamiento de esta enfermedad (Choi et al., 2021). Por ello, la atención se centra en el reposicionamiento terapéutico, siendo las principales clases de fármacos utilizados los siguientes: agentes antivirales, inhibidores de la inflamación, heparinas de bajo peso molecular, anticoagulantes, plasma e inmunoglobulinas hiperinmunes (Choi et al., 2021; Stasi et al., 2020).

Basándose en los diferentes estadios de esta enfermedad y en las investigaciones, durante el comienzo de la infección se utilizará los agentes antivirales para prevenir la progresión de la enfermedad. Esta clase de fármacos bloquea la entrada o la replicación del virus en las células del hospedador, traducándose en una disminución de la carga viral, un acortamiento del tiempo de recuperación y un alivio de los síntomas en las vías respiratorias. Si se utilizaran en esta fase fármacos inmunosupresores, se podría producir un crecimiento viral explosivo y, por ello, los agentes inmunomoduladores se utilizarán para los pacientes críticos, junto con los antiinflamatorios, para prevenir el daño tisular

mediado por la inflamación sistémica (Choi et al., 2021; Matheson y Lehner, 2020; Stasi et al., 2020).

En definitiva, lo ideal sería una combinación de terapia dirigida en los puntos críticos de los diversos sistemas activados por la COVID-19 como lo son: (i) el sitio de unión viral, (ii) la activación del sistema de complemento, (iii) la coagulación de la sangre y (iv) los receptores de citocinas, que podrían proporcionar una opción terapéutica más eficiente (Ghebrehiwet y Peerschke, 2020).

Los algoritmos actuales que se utiliza para hacer frente a la enfermedad del COVID-19, se muestra en la Figura 11A Y 11B:

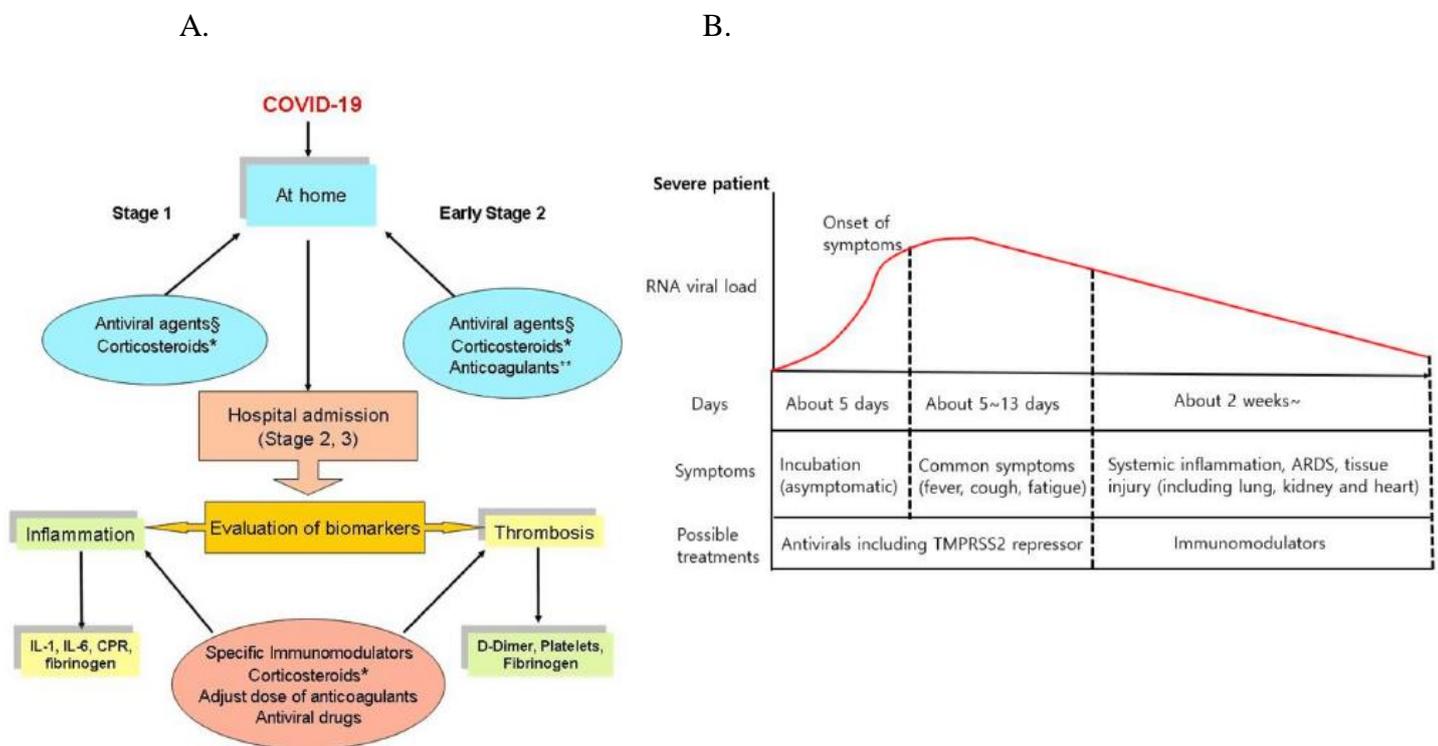


Figura 11. (A) Algoritmo propuesto del tratamiento para el COVID-19 basado en los estudios actuales (Stasi et al., 2020). (B). Posibles estrategias de tratamiento para los síntomas progresivos de los pacientes con COVID-19 (Choi et al., 2021).

§ En las primeras etapas de COVID-19, uno o una combinación de agentes antivirales podría usarse como una opción de tratamiento profiláctico o temprano para disminuir la carga viral, transmisión y prevenir la progresión a la etapa posterior de la enfermedad.

*En la etapa inicial, se podría realizar un ajuste específico de la terapia con glucocorticoides, necesario en función de razones específicas por ejemplo, en pacientes con insuficiencia suprarrenal.

** Según el estado clínico, los anticoagulantes podrían administrarse para prevenir fenómenos trombóticos a partir de la circulación pulmonar como consecuencia de la hiperinflamación.

Un resumen de los fármacos en uso para el tratamiento de la COVID-19 se muestra en la siguiente Figura 12, donde están clasificados en función de la diana celular o molecular sobre las que actúan:

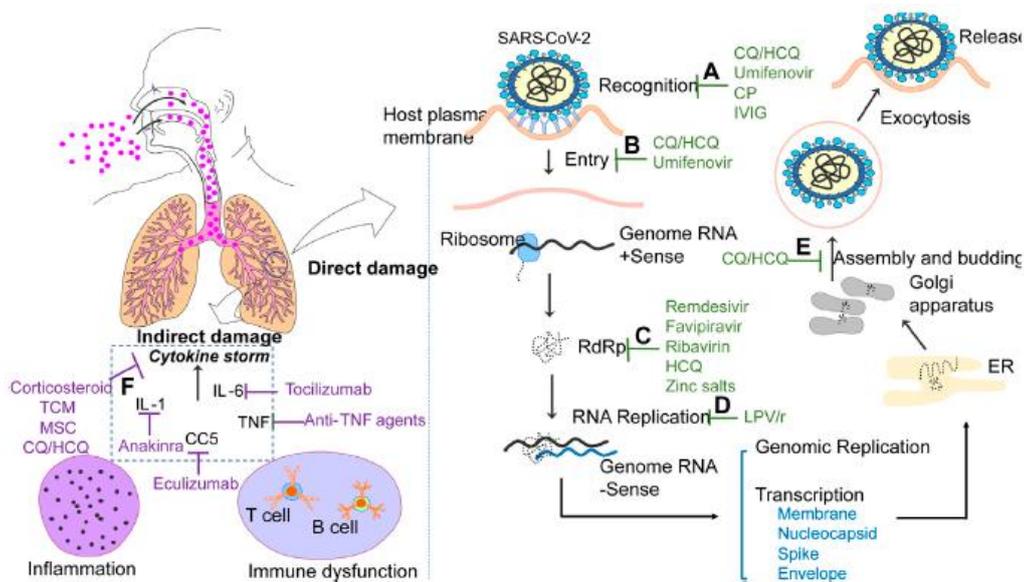


Figura 12. Posibles dianas celulares y moleculares donde actúan los fármacos utilizados para el tratamiento del COVID-19 (Zuo et al., 2021).

A continuación, se muestran los fármacos que se utilizan para el tratamiento de los síntomas provocados por el virus como aquellos que se emplean para frenar la diseminación/replicación viral:

5.1.1. Agentes antirretrovirales

Lopinavir / ritonavir: combinación de fármacos antirretrovirales usados para el tratamiento del VIH/SIDA (Scarabel et al., 2021); actualmente con los resultados de diversos estudios se ha establecido que la combinación de ambos fármacos resulta beneficiosa en el momento del diagnóstico de la enfermedad del COVID-19 (Hushmandi et al., 2020). El lopinavir actúa inhibiendo la proteasa de aspartato del VIH, mientras que el ritonavir aumenta la concentración del lopinavir inhibiendo el citocromo P450 (Chen et al., 2020). Esta combinación de medicamentos han sido uno de los más usados en esta emergencia sanitaria para los pacientes con síntomas poco severos y en los primeros

estadios de la enfermedad, tratados tanto en su domicilio como en el hospital. Previa experiencias con el SARS-CoV-1 y el MERS, sugieren que estos medicamentos pueden mejorar los parámetros clínicos de los pacientes (Stasi et al., 2020).

También se ha probado su combinación con el interferón beta-1b, mostrando un alivio de los síntomas y menor duración de la diseminación viral y la estancia hospitalaria en pacientes con COVID-19 leve y moderado (Zuo et al., 2021).

Algunos de los efectos secundarios reportados son gastrointestinales principalmente como náuseas, vómitos y diarrea, pérdida de apetito y en algunos casos serios como reacciones alérgicas, arritmias, pancreatitis y problemas en el hígado (Haushmandi et al., 2020).

En la actualidad, la eficacia y la seguridad de dicho tratamiento no se ha confirmado aún debido a la controversia en los resultados, por lo que se requiere más evidencia clínica para su evaluación (Zuo et al., 2021).

Remdesivir: es un profármaco análogo del nucleótido adenosina que fue descubierto para el tratamiento del virus del Ébola, el MERS y el SARS (Scarabel et al., 2021) y usado actualmente en los casos severos y moderados de COVID-19. Inhibe la replicación del virus de ARN bloqueando la actividad enzimática de la ARN-polimerasa dependiente de ARN (RdRP), como se muestra en la Figura 11 (Choi et al., 2021; Stasi et al., 2020). Se trata de un profármaco cuya forma activa es GS-441524, que además de bloquear a la enzima RdRP, provoca mutaciones y una disminución en la producción de ARN del virus (Hushmandi et al., 2020).

La información disponible de distintos estudios muestra que los pacientes tratados con este fármaco tienen de media un periodo de hospitalización en torno a los 11 días, frente a los 15 días de los placebos. La mortalidad estimada es de aproximadamente el 7% cuando los pacientes son tratados con remdesivir, frente al 11,9% de los tratados con el placebo. Los resultados de los estudios sugieren empezar el tratamiento con este fármaco antes de que comience la progresión del daño en los pulmones y la posterior ventilación mecánica (Stasi et al., 2020). También en población especial como las mujeres embarazadas y de postparto con COVID-19 grave, recibieron este fármaco como uso compasivo obteniendo altas tasas de recuperación, con bajo riesgo de sufrir eventos adversos graves (Zuo et al., 2021).

El remdesivir generalmente es bien tolerado en los grupos de tratamiento y la mayoría de los efectos adversos son náuseas, diarrea y dolor de cabeza (Hushmandi et al., 2020). Se han asociado también otros efectos no deseados como problemas gastrointestinales y disfunción hepática; además, no se recomienda la terapia con este medicamento en pacientes con una tasa de filtración glomerular estimada inferior a 30 ml/min (Chen et al., 2020).

Aunque en un estudio Choi et al (2021) no aprecien un gran beneficio frente a los tratados con placebo, el remdesivir es considerado, a día de hoy, como una terapia potencial para el tratamiento de la enfermedad con una excelente actividad *in vitro* frente al SARS-CoV-2, con una EC50 y una EC90 de 0'77 y 1'76 micromolar, respectivamente (Chen et al., 2020). El régimen de dosificación de este fármaco bajo investigación es una única dosis de carga de 200 mg, seguida de una infusión diaria de 100 mg, mostrando de esta forma una farmacocinética lineal dentro de este rango de dosis y una vida media intracelular de más de 35 horas (Chen et al., 2020).

El 19 de noviembre de 2020 fue aprobado por la FDA para su uso de emergencia en pacientes hospitalizados graves; sin embargo, la eficacia y la óptima duración del tratamiento (5 días frente a 10) requiere más investigación (Choi et al., 2021).

5.1.2. Corticoides

Glucocorticoides: Uno de los grupos de fármacos más comunes dentro de los tratamientos antiinflamatorios que inhiben la transcripción de mediadores inflamatorios y disminuye los niveles de IL-6 o TNF-alpha. Han sido utilizados para mitigar la inflamación pulmonar en los casos severos de MERS y SARS; sin embargo, en los últimos estudios se ha reportado que dicho tratamiento podría aumentar el riesgo de mortalidad e infecciones secundarias en pacientes con neumonía inducida por el virus Influenza. Es por eso por lo que se está utilizando con precaución en los pacientes con COVID-19 grave que necesitan suplementación de oxígeno, mostrando una reducción en la mortalidad y en el tiempo de duración de la ventilación mecánica; como ejemplo de este grupo tenemos la dexametasona. Las dosis y las formulaciones se ajustarán a cada paciente (Choi et al., 2021).

En otros estudios, según la evidencia actual y la experiencia clínica, se establece que el uso rutinario de corticosteroides se desaconseja en pacientes que reciben ventilación mecánica y no tienen ARDS, pero si se recomienda en aquellos que sufren ARDS. No

obstante, se necesitan más ensayos clínicos para aclarar los beneficios de la administración específica de corticosteroides en el COVID-19 (Zuo et al., 2021).

La OMS sugiere no usar corticosteroides en COVID-19 no grave ya que el tratamiento no reportó beneficios (Stasi et al., 2020).

5.1.3. Antirreumáticos y antiprotozoarios

Cloroquina e hidroxicloroquina: La cloroquina ha sido utilizada en la clínica desde hace más de 70 años. Fue aprobado para tratar la malaria y también se utiliza para enfermedades autoinmunes. *In vitro* se ha comprobado su eficacia frente a la infección por el SARS-CoV-2 en la entrada del virus y en los primeros estadios de la enfermedad (Chen et al., 2020), por lo tanto con estos resultados se presupone los efectos antivirales de amplio espectro de este fármaco (Jones et al., 2020).

La hidroxicloroquina es más soluble y tiene un perfil de seguridad mejor que la cloroquina (Scarabel et al., 2021); ambos actúan frente al virus SARS-CoV-2 mediante distintos mecanismos: aumenta el pH endosómico y lisosómico al difundirse pasivamente lo cual induce la interrupción de la fusión viral y la entrada en la célula del virus al escindir la proteína spike. También es capaz de bloquear la glicosilación terminal de los receptores ACE2, regular negativamente la MAP-quinasa que necesita el virus para ensamblarse y, por último, muestra efectos antiinflamatorios debido a su capacidad de interferir con el receptor Toll y las vías de señalización del interferón tipo I (Choi et al., 2021). Sus propiedades antivirales también se relacionan con la posibilidad de que este fármaco al actuar como un ionóforo de zinc, podría relacionarse con una posible inhibición de la RdRp (Jones et al., 2020). Estos mecanismos de acción se encuentran recogidos en la siguiente Figura 13 (Choi et al., 2021):

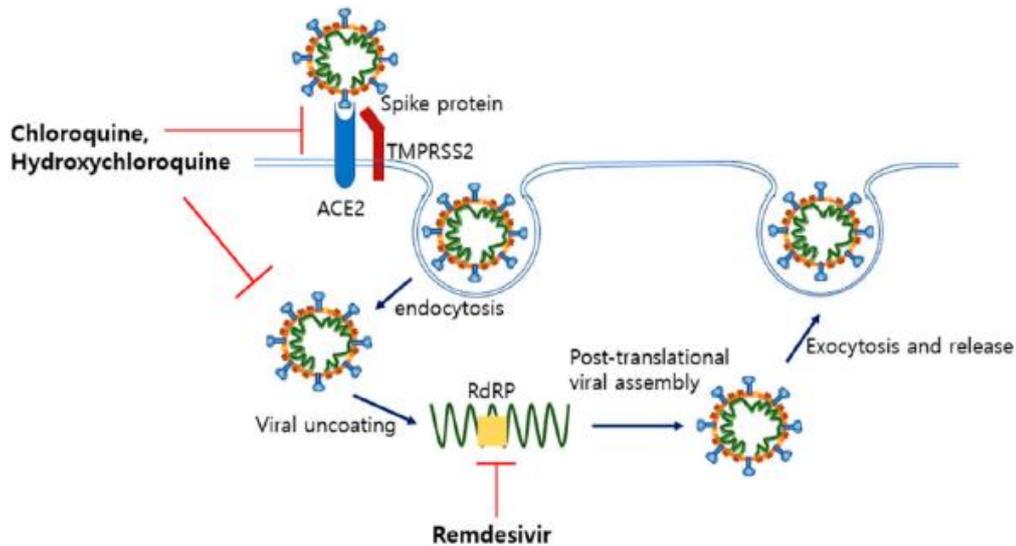


Figura 13. Mecanismos de inhibición del SARS-CoV-2 por la cloroquina, hidroxicloroquina y el remdesivir (Choi et al., 2021).

Se propone como tratamiento para esta enfermedad ya que se ha comprobado como el fosfato de cloroquina, puede ser útil en el tratamiento de pacientes. Éste mejora la neumonía, las imágenes de los hallazgos pulmonares y la disminución del curso de la enfermedad en más de 100 pacientes con SARS-CoV-2 (Hushmandi et al., 2020).

A su vez también se ha planteado la posibilidad de la potenciación del efecto de la hidroxicloroquina cuando se combina con la azitromicina (Hushmandi et al., 2020). Otros autores también defienden esta idea, en la que la disminución de la carga viral está favorecida por la combinación de la hidroxicloroquina con dicho antibiótico (Zu et al., 2021).

En varios estudios se ha visto que el tratamiento con estos fármacos puede dar lugar a un mayor riesgo de sufrir arritmias ventriculares y mayor riesgo de fallecimiento en los hospitales (Stasi et al., 2020). Esto se asoció a la toxicidad cardiovascular de la cloroquina y la hidroxicloroquina, particularmente debido a su relación con la inestabilidad eléctrica al prolongar el intervalo QT (Stasi et al., 2020; Zuo et al., 2021). Por tanto, deben utilizarse con precaución en pacientes con comorbilidades y, en aquellos que toman medicamentos que prolongan el intervalo QT, se debe llevar a cabo un electrocardiograma al comenzar y al finalizar la terapia. Con todo ello, se recomienda que este tratamiento no se use fuera de los ensayos clínicos y que se confirme dichos resultados a través de ensayos clínicos aleatorios (Chen et al., 2020; Stasi et al., 2020). Este perfil de toxicidad

cardiaca podría mejorar usando uno solo de los enantiómeros del fármaco (Zuo et al., 2021).

Algunos de los efectos no deseados de ambos medicamentos son la pérdida del apetito, problemas musculares, erupción cutánea, problemas gastrointestinales y en algunos casos, convulsiones, problemas en la visión y daños musculares (Hushmandi et al., 2020). Por otro lado, la cloroquina podría disminuir la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, por lo que se debe utilizar con precaución en pacientes con actividad deficiente de esta enzima, los cuales son más susceptibles de infección por el SARS-CoV-2 (Zuo et al., 2021).

Con todo lo expuesto, la FDA no recomienda el uso de la cloroquina y revocó su uso de emergencia ya que los eventos adversos cardiacos graves y otros posibles efectos secundarios, superan los beneficios; tampoco como profiláctico en cuyo uso se han centrado estudios recientes (Bhavana et al., 2020; Choi et al., 2021).

5.1.4. Inmunomoduladores

Muchas evidencias han demostrado que una importante parte del daño causado por el virus es debido a una alterada respuesta inflamatoria y, en algunos pacientes, a una liberación anormal de las citoquinas proinflamatorias como la interleucina-6 (IL-6), el interferón gamma (IFN-gamma) y el factor Alpha de necrosis tumoral (TNF-alpha), lo cual se traduce en un fallo multiorgánico, principal causa de muerte en los pacientes con COVID-19 (Choi et al., 2021; Stasi et al., 2020).

Por esta razón, y basándose en las experiencias previas del SARS y los inmunomoduladores, estos fármacos utilizados para las enfermedades artríticas se consideran como posibles candidatos para el tratamiento de la enfermedad producida por este nuevo virus para controlar la inflamación sistémica y prevenir el fallo orgánico (Stasi et al., 2020).

- **Tocilizumab:** El tocilizumab es un anticuerpo monoclonal anti-IL6 humanizado y recombinante que suprime la respuesta inflamatoria mediada por IL-6, cuyos niveles en suero suelen estar elevados en los pacientes graves con la infección por este virus (Hushmandi et al., 2020). Este fármaco fue aprobado para el uso en pacientes con alteraciones reumatológicas, síndromes de liberación de citoquinas inducidos por el antígeno T-cell y otras enfermedades autoinmunes (Sacarabel et al., 2021). Hoy en día, se considera como posible tratamiento para el COVID-19

ya que actuaría frente a la sobreactivación de los linfocitos T y los macrófagos y al alto nivel sérico de citocinas inflamatorias que se producen en estos pacientes (Choi et al., 2021).

Con otros estudios, los autores concluyeron que la administración de este fármaco tanto por vía intravenosa como subcutánea, podría reducir el riesgo de la ventilación mecánica o la muerte en los pacientes con neumonía severa por el COVID-19. Aunque los resultados son prometedores, se debe confirmar con estudios aleatorios (Stasi et al., 2020). Hushmandi et al (2020) recogen en su revisión que después de la administración de tocilizumab, los resultados mostraron una mejora significativa de la fiebre y de los niveles de la proteína C-reactiva entre otros; por ello, dicho medicamento es uno de los más importantes para la infección grave que cursa con elevados niveles séricos de IL-6. La dosificación oscila entre 80 y 700 mg por dosis, generalmente 4 a 8 mg/Kg, en una o dos dosis (Chen et al., 2020), aunque la misma se suele determinar en base a la utilizada para la artritis reumatoide (Zuo et al., 2021).

Sin embargo, sigue siendo controvertido si los beneficios mencionados superan a los efectos secundarios que incluyen infecciones latentes y perforación del tracto gastrointestinal inferior (Choi et al., 2021). La capacidad potencial de este anticuerpo monoclonal de producir infecciones adicionales oportunistas pulmonares hace que este fármaco sea utilizado con especial precaución en los pacientes (Curran et al., 2020). Además, su administración está ocasionalmente asociada con elevados niveles de enzimas hepáticas, trombocitopenia y neutropenia (Chen et al., 2020), pudiendo causar incluso pancreatitis o hipertrigliceridemia (Zuo et al., 2021). Por todo ello, se requiere especial atención en los pacientes con alteraciones hepáticas (Curran et al., 2020).

Los investigadores de otros estudios también determinaron que la administración temprana de este fármaco en pacientes con neumonía por COVID-19 no aporta ningún beneficio clínico relevante para los pacientes. Del mismo modo, es necesario más investigaciones para evaluar la eficacia en subgrupos de pacientes específicos (Stasi et al., 2021). No obstante, aunque son necesarios más estudios, Zuo et al (2021) sí que establecieron que el uso temprano de este medicamento conduce a un impacto positivo durante la neumonía por el COVID-19 y es fundamental para su recuperación posterior (Zuo et al., 2021).

- **Anakinra:** Se trata de una proteína antagonista de IL-1R recombinante utilizada para tratar la enfermedad reumatoide y, en el caso del tratamiento del COVID-19, para los pacientes graves con inflamación sistémica y ARDS. Inhibe las vías de señalización a través de IL-1R activado al interrumpir la interacción de IL-1alpha e IL-1beta con IL-1R (Choi et al., 2021).

La administración de anakinra es particularmente relevante debido a su corta semivida plasmática, tanto por vía intravenosa como subcutánea. Esta característica es útil para limitar la duración de la acción del fármaco en caso de efectos adversos, pero la variación en la dosis debe evitarse para lograr una biodisponibilidad constante y garantizada y evitar así un rebote nocivo de la inflamación (Stasi et al., 2020). El estudio de la farmacocinética ha demostrado que la vía subcutánea podría garantizar una concentración plasmática adecuada con una biodisponibilidad que oscila entre el 80-95% (Stasi et al., 2020).

- **Baricitinib:** Se propone como una posible terapia para la enfermedad aguda respiratoria producida por el COVID-19. Se trata de un inhibidor selectivo de la Janus quinasa 1 y 2 (enzima involucrada en la transducción de la señal mediada por la citoquina) (Stasi et al., 2020). Fue aprobado para el tratamiento de pacientes con artritis reumatoide y se han estudiado sus efectos antiinflamatorios y antivirales frente al COVID-19; con una elevada afinidad por la proteína quinasa 1 asociada a AP2 (AAK1) necesaria para la endocitosis mediada por clatrina del SARS-CoV-2. A diferencia de otros inhibidores de este tipo, presenta una elevada afinidad actuando a dosis terapéuticas (2-4 mg/día) para minimizar los efectos secundarios (Choi et al., 2021).

Según los estudios incluidos en la revisión de Choi et al (2021), los pacientes con neumonía que recibieron este tratamiento mejoraron significativamente los parámetros clínicos en comparación con los grupos controles. Además, no requirieron hospitalización en la UCI y no se notificaron reacciones adversas. Con todo ello, se recomienda tratar a los pacientes con este medicamento durante un periodo corto de tiempo (de 7 a 14 días) para evitar infecciones virales oportunistas debido a su uso prolongado.

5.1.5. Antihelmínticos

Ivermectina: Es un fármaco con propiedades antiparasitarias, antibacterianas, anticancerígenas y con efectos antiinflamatorios. Recientemente se está investigando por sus propiedades antivirales ya que se une a la importina Alpha/beta-1 nuclear previniendo el transporte intranuclear del SARS-CoV-2 (Choi et al., 2021). En pacientes que requirieron mayor aporte de oxígeno o soporte ventilatorio, la aplicación de la ivermectina se asoció con menor mortalidad; además, su utilización como terapia complementaria fue útil para una mejor eficacia y disminuir la estancia hospitalaria (Zuo et al., 2021).

Se estudió su actividad en un cultivo infectado por el virus, mostrándose a las dos horas una reducción considerable del ARN viral; sin embargo, la concentración plasmática requerida para la eficacia antiviral detectada *in vitro* es de una 10 veces mayor que la dosis aprobada (Zuo et al., 2021) para uso humano. Con todo ello, es necesario más investigación y más seguimiento clínico para demostrar la eficacia de la ivermectina en pacientes con COVID-19 y establecer la dosis óptima y la estrategia de combinación adecuada (Choi et al., 2021; Zuo et al., 2021).

5.1.6. Anticuerpos

Los anticuerpos extraídos de la sangre de los pacientes recuperados (plasma de personas convalecientes), sirven como alternativa terapéutica que actualmente se encuentra en estudio (Stasi et al., 2020), y que se presenta como un tratamiento prometedor para los pacientes cuyo organismo no sea capaz de producir suficientes anticuerpos para hacer frente a la enfermedad (Bhavana et al., 2020). Se estima que la dosis de anticuerpos crítica para tratar a una persona afectada por el SARS-CoV-2 requiere de al menos tres pacientes que se hayan recuperado de la infección (Stasi et al., 2020), siempre que no hayan pasado más de dos semanas después de la recuperación para que se pueda asegurar de esta forma altos títulos de anticuerpos (Yang, 2021). El corto periodo entre la pandemia y el tratamiento considerado significa que actualmente hay pocas pruebas disponibles sobre la seguridad y la eficacia del uso de inmunoglobulinas plasmáticas en el tratamiento de estos pacientes. Los principales resultados de los estudios obtenidos demuestran una mejoría clínica y de supervivencia en todos los pacientes. Estos hallazgos deben confirmarse mediante algunos ensayos clínicos (Stasi et al., 2020).

Los anticuerpos neutralizantes obtenidos del plasma de pacientes recuperadas de la enfermedad podrían unirse a S1-RBD, limitando de esta forma la entrada viral. Su

especificidad hace que este tratamiento sea una opción importante que considerar para los pacientes con COVID-19 (Zuo et al., 2021).

Recientemente se ha informado que el tratamiento con el plasma puede ayudar a tratar esta infección, pero no reduce la tasa de mortalidad en pacientes críticamente enfermos en fase terminal ya que los efectos multiorgánicos producidos son tan grandes a este nivel, que el sistema inmune no puede combatirlo, por lo que este tratamiento debería ser iniciado antes (Zuo et al., 2021).

La FDA indica tres vías que permiten el uso del plasma de pacientes convalecientes para determinar, a través de estudios clínicos, la eficacia de la administración del plasma: (a) a través de la participación en ensayo clínico; (b) acceso extendido (que proporciona a los pacientes con una enfermedad grave o mortal la oportunidad de obtener un tratamiento médico fuera del ensayo clínico, en ausencia de disponibilidad de tratamientos alternativos); (c) nuevo fármaco de investigación de emergencia (el médico puede solicitar esto para un solo paciente si cree que el tratamiento puede ser necesario con urgencia por las condiciones graves o potencialmente mortales que están experimentando) (Stasi et al., 2020).

5.1.7. Antiplaquetarios y anticoagulantes

La terapia antiplaquetaria podría ser eficaz para mejorar el cociente ventilación/perfusión en pacientes con COVID-19 con insuficiencia respiratoria (Zuo et al., 2021). Agentes antiplaquetarios como la aspirina, el dipiridamol y el nafamostat inhiben la activación plaquetaria, que puede inhibir la NETosis y la liberación de DAMP derivados de plaquetas (McFadyen et al., 2020). La aspirina, un clásico antiplaquetario, podría ayudar a disminuir la tasa de ventilación mecánica, los ingresos en la UCI y la mortalidad hospitalaria. Se recomienda que la persona con COVID-19, inicie el tratamiento con aspirina en los primeros estadios de la enfermedad. El dipiridamol, que inhibe la agregación de las plaquetas, se demostró que reduce la replicación viral, suprime la hipercoagulabilidad y mejora la recuperación inmunológica cuando se toma como adyuvante en dicho tratamiento frente al SARS-CoV-2 (Zuo et al., 2021). El nafamostat por su parte, puede inhibir la TMPRSS-2, y por lo tanto inhibe la entrada del virus (McFadyen et al., 2020).

Pacientes con fibrilación auricular, válvulas cardíacas protésicas y trombosis venosa preexistentes, que actualmente se tratan con antagonistas de la vitamina K o warfarina, es

importante tener en cuenta que estos medicamentos pueden interferir con la terapia antiviral utilizada para tratar la COVID-19 (Kasinathan y Sathar, 2020). Por ello, los anticoagulantes orales como los mencionados anteriormente y el dabigatrán, el apixabán, el rivaroxabán, edoxabán y betrixabán, no se deben considerar para el tratamiento de la trombosis en los pacientes con COVID-19 debido a las posibles interacciones con la terapia antiviral (Miesbach y Makris, 2020). Unidos a estos anticoagulantes parenterales también se encuentran la bivalirudina y el fondaparinux, que juntos con los anteriores, no se están utilizando para el COVID-19 ya que además de que existen datos escasos o limitados sobre su uso, son más caros que las heparinas (Bikdeli et al., 2020).

El reequilibrio del sistema de coagulación es especialmente importante en la coagulopatía por el COVID-19, a través de la terapia antiplaquetaria y anticoagulante (Zuo et al., 2021). El uso de los anticoagulantes para la COVID-19 se tratará en un apartado posterior más ampliamente ya que es el objeto de esta revisión.

5.2. Coagulación y COVID-19

Los pacientes con COVID-19 severo parecen tener una respuesta hiperinflamatoria que está unida al desarrollo de ARDS y fallo multiorgánico. Todo ello unido a la presencia de biomarcadores, reactantes de fase aguda y parámetros de coagulación anormales (prolongado tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activado) que se asocian a un desarrollo clínico adverso, aumento en la severidad de la infección y elevada mortalidad (McFadyen et al., 2020). Todo esto da lugar en el hospedador a una respuesta inflamatoria y fenómeno de coagulación sistémica que, si no se controla, se puede asociar a un estado protrombótico manifestándose en forma de trombosis microvascular, arterial o venosa e incluso CID (Connors y Levy, 2020). Esto ocurre ya que la inflamación y la coagulación están claramente vinculadas por diferentes señales moleculares y sus interacciones juegan un papel importante en la fisiopatología de la sepsis y la CID (Gozzo et al., 2020); los mediadores proinflamatorios activan la coagulación, que a su vez promueve la actividad inflamatoria (Gozzo et al., 2020). Además del estado clínico del paciente y la presencia de comorbilidades, la evaluación de los niveles sanguíneos de factores de coagulación como el dímero D, el fibrinógeno y la homocisteína nos pueden ayudar a tener un posible pronóstico de la evolución de la enfermedad (Abu-Farha et al., 2020).

La evidencia de los parámetros de coagulación anormales asociados con COVID-19, apareció en los primeros informes de China. Las características basales de los primeros 99 pacientes hospitalizados en Wuhan, indicaron que el 6% tenía un tiempo de tromboplastina parcial activada elevada, un tiempo de protrombina elevado (5%), elevación del 36% del dímero D y un aumento de biomarcadores de inflamación que incluyen IL-6, velocidad de sedimentación globular y proteína C-reactiva (Connors y Levy, 2020).

Los hallazgos que demuestran la relación entre la coagulopatía y el COVID-19, se encuentran recogidos en la Tabla 1:

Tabla 1. Relación entre la coagulopatía y el COVID-19 (Connors y Levy, 2020).

RESUMEN DE RESULTADOS
1. La coagulopatía se manifiesta con elevados niveles de fibrinógeno, dímero-D y mínimo cambio en el tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) y recuento de plaquetas en los estadios iniciales de infección.
2. Niveles aumentados de IL-6 está correlacionado con elevados niveles de fibrinógeno.
3. La coagulopatía parece estar relacionada con la gravedad de la enfermedad, la tromboinflamación resultante y la no actividad viral intrínseca.
4. El dímero D elevado al ingreso, se asocia con un aumento en la mortalidad.
5. El aumento del dímero D después del ingreso precede al fracaso multiorgánico y a una abierta CID. A. Se indica que debe comenzar a los cuatro días después del ingreso en los no sobrevivientes. B. Mayor duración de la estancia hospitalaria asociada con un aumento de dímero D y desarrollo de la fisiología de la sepsis.
6. Las manifestaciones hemorrágicas no son frecuentes a pesar de la coagulopatía.

La relación de la patogenicidad del SARS-CoV-2 con la trombosis se encuentra recogido en la siguiente Figura14:

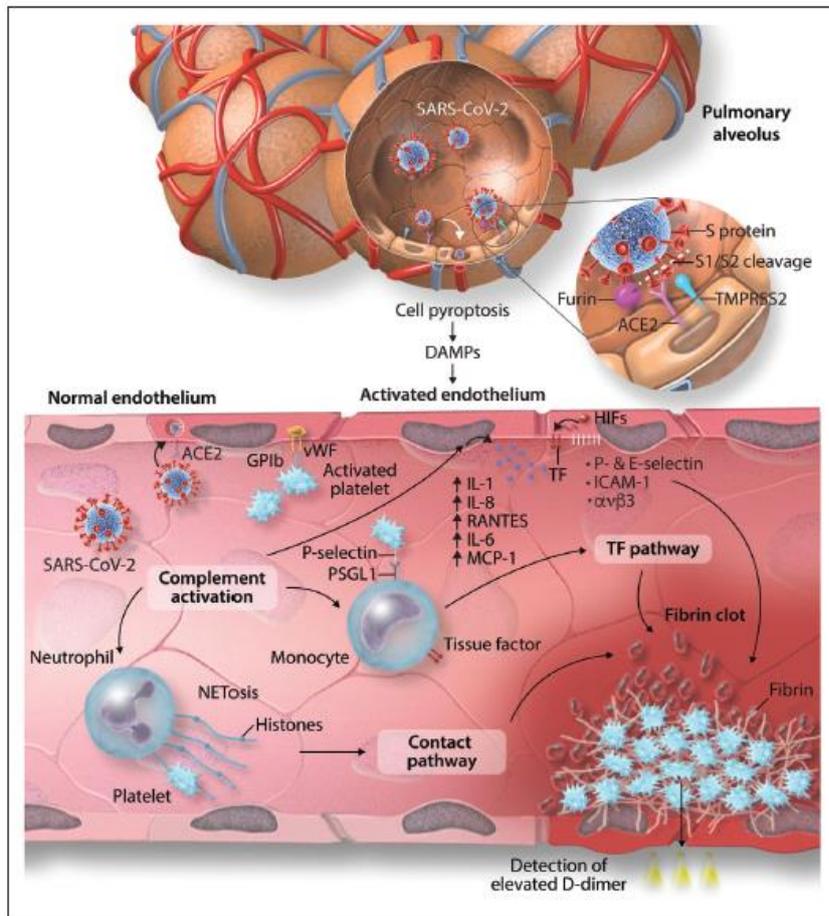


Figura 14. Mecanismos propuestos de la transmisión del SARS-CoV-2 y su relación con la trombosis (McFadyen et al., 2020).

En la infección por el COVID-19, intervienen dos sistemas importantes como lo son el sistema de complemento y la vía de coagulación, ambos estrictamente regulados. No obstante, su sobreactivación y desregulación puede ocurrir cuando ambos sistemas se encuentren desbordados por la presencia como en este caso, de un virus (Ghebrehiwet y Peerschke, 2020).

Con respecto al sistema de coagulación, éste se encuentra altamente activado en pacientes con COVID-19, lo que resulta en trombosis microvascular integral y consumo de factores de coagulación dando lugar a una microangiopatía extensa y trombocitopenia, prolongación del tiempo de protrombina, elevación en los niveles de dímero D y disminución en los niveles de fibrinógeno (Ghebrehiwet y Peerschke, 2020; Gozzo et al., 2020). De forma detallada ocurre lo siguiente:

La principal vía de infección del SARS-CoV-2 es a través de los receptores ACE2, dañando directamente las células endoteliales celulares, dando lugar a la primera lesión

que desencadena la coagulación anormal en el pulmón. Sin embargo, otros estudios mostraron que la expresión pulmonar de ACE2 está restringida a los neumocitos tipo II, y está casi ausente en el endotelio. En este contexto, el contacto estricto entre los neumocitos tipo II, el sistema vascular pulmonar y la reacción inflamatoria local grave, es probable para impulsar el estado de hipercoagulabilidad pulmonar visto en pacientes con COVID-19 (Gozzo et al., 2020). La replicación y la liberación de virus de las células infectadas dan como resultado la piroptosis (forma altamente inflamatoria de muerte celular lítica programada que ocurre con mayor frecuencia tras la infección de patógenos), implicando consigo la liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias IL-6, IL-1 β , IL-8, TNF- α , IL-21, CXCL10, CCL3, CCL2, CCL5 MCP-1 y TNF- β (McFadyen et al., 2020; Vinayagam y Sattu, 2020).

A través de la liberación de DAMPs (patrones moleculares asociados al daño), el endotelio activado regula al alza la expresión del Factor de von Willebrand (VWF) y de moléculas de adhesión que incluyen ICAM-1 (molécula de adhesión endotelial), α V β 3 (integrina), P-selectina y E-selectina. Todo ello conduce al reclutamiento de plaquetas, leucocitos y activación de la cascada de coagulación. Los neutrófilos, liberan trampas extracelulares de neutrófilos (NETS) que genera la activación directa de las vías de contacto y la activación del complemento potencia estos mecanismos aumentando el factor tisular endotelial (TF), aumenta la captación de las plaquetas y amplifica la inflamación endotelial, incluida la IL-1, IL-8, IL-6, MCP-1 y RANTES (quimiocina CCL5) (McFadyen et al., 2020).

Con la activación de la cascada de coagulación, se consigue la activación final de la trombina, que escinde el fibrinógeno en fibrina para asegurar una homeostasia eficiente y formar un coágulo de fibrina estable. En la última fase de la homeostasis, se disuelve el coágulo de fibrina dando lugar al dímero D, conocido por ser un fragmento de proteína que circula en el torrente sanguíneo después de que un coágulo se descompone por fibrinólisis (Abu-Farha et al., 2020). Con ello, elevados niveles de dímero D, puede apoyar la idea de que la desregulación de la trombina es una característica del estado protrombótico asociado a la infección por el SARS-CoV-2 (McFadyen et al., 2020) y a su vez, nos puede servir como indicador temprano para mejorar el manejo o el control de la enfermedad (Haybar et al., 2021). Por lo tanto, además de otras comorbilidades como la diabetes, la enfermedad cardiovascular, la hipertensión y desórdenes lipídicos, elevados niveles de dímero D (> 2 microgramos/ml) constituye un factor de riesgo de

fallecimiento a considerar en los pacientes con COVID-19. Adicionalmente, los niveles de esta proteína se evalúan cuando se administran los anticoagulantes, siendo una disminución de los niveles, indicador de la efectividad de la terapia (Abu-Farha et al., 2020).

El recuento bajo de plaquetas (trombocitopenia) por su parte, se asocia también con un mayor riesgo de padecer la enfermedad de forma grave, por ello también se debe utilizar como indicador clínico de la enfermedad durante la hospitalización. Una de las posibles causas de la trombocitopenia durante las infecciones virales es el aumento de los biomarcadores circulantes como el fibrinógeno, el dímero D, la P-selectina y el factor de von Willebrand que pueden unirse directamente a receptores plaquetarios (Grobler et al., 2020).

La cascada del complemento es otro aspecto importante en el sistema inmunológico innato que ha sido relacionado con la trombosis asociada al COVID-19 (McFadyen et al., 2020). Esto se debe a que el sistema inmunológico del huésped reacciona ante el patógeno activando de forma incontrolada el sistema del complemento y provoca inflamación y coagulación intravascular aguda y crónica entre otros (Vinayagam y Sattu, 2020).

En la Figura 15 se representa el papel del sistema del complemento en la formación de coágulos, debido a la infección por el COVID-19 (Vinayagam y Sattu, 2020).

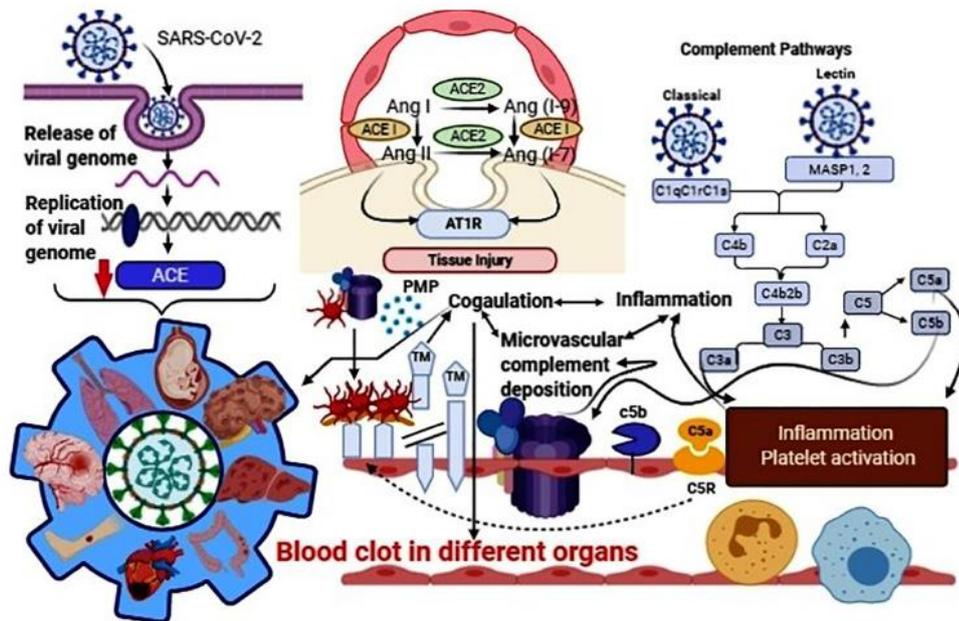


Figura 15. Representación esquemática de la activación del sistema del complemento por el SARS-CoV-2 que deriva en la formación de coágulos de sangre en diferentes órganos (Vinayagam y Sattu, 2020).

El SARS-CoV-2 al unirse a su receptor de entrada ACE2, activa el sistema del complemento, en el cual hay tres vías posibles: la vía clásica, la vía de la lectina y la vía alternativa, en las cuales intervienen al menos 30 proteínas. La sustancia final de la vía clásica y de la vía de la lectina es C3a y C3b; C3a interviene en la inflamación y activación de las plaquetas, mientras que C3b está involucrado en la formación de C5c, que activa las plaquetas y media la inflamación, y C5b, que forma el complejo de ataque de membrana (MAC) activando la coagulación y la inflamación (Vinayagam y Sattu, 2020). No obstante, independientemente de qué vía o cómo se active el sistema de complemento, el resultado final es la formación de MAC que, como se ha mencionado, favorece la inflamación (Ghebrehiwet y Peerschke, 2020).

Varios estudios demuestran que ciertos trastornos genéticos del sistema de complemento o del sistema de coagulación, son factores de riesgo predecibles para la morbilidad y mortalidad observadas en pacientes con COVID-19, lo que contribuyen sustancialmente a la gravedad de esta enfermedad (Ghebrehiwet y Peerschke, 2020).

Todo ello se puede traducir en trombosis venosa. A pesar de la profilaxis, el riesgo de sufrir este tipo de trombosis es elevada en los pacientes con COVID-19, además un estudio ha encontrado que el embolismo pulmonar es causa directa de muerte en un 30% de los pacientes. También se relaciona a este virus con casos de trombosis arterial, se está

dando incluso accidentes cerebrovasculares isquémicos en personas jóvenes sin factores de riesgo cardiovasculares previos (McFadyen et al., 2020). La coagulopatía asociada al COVID-19 (CAC) se utiliza para describir los cambios de coagulación en pacientes infectados, muy probablemente resultado de la profunda respuesta inflamatoria que ocurre (Connors y Levy, 2020).

Las evidencias demuestran que la CID, ocurre en las últimas etapas de la infección por COVID-19 normalmente, pacientes hospitalizados con fisiología séptica y fallo multiorgánico y está altamente relacionado con la mortalidad en los mismos (Connors y Levy, 2020). La fisiopatología de la CID es multifactorial y compleja, en los que se da la conexión entre el nivel celular y los elementos plasmáticos del sistema homeostático. Los componentes de ésta con el sistema inmunológico, median el colapso en la coagulación y los sistemas fibrinolíticos que activan la trombosis y el sangrado en el paciente. La condición de CID, junto con el nivel elevado de dímero D, será útil durante la condición terapéutica (Vinayagam y Sattu, 2020).

En definitiva, el sistema del complemento, la inflamación y el sistema de coagulación tienen un papel importante en la trombosis en los pacientes infectados por el SARS-CoV-2. En condiciones normales, el cuerpo puede mantener el balance entre los mecanismos procoagulantes y anticoagulantes. Sin embargo, estudios han demostrado que los virus y las células inflamatorias pueden inducir la activación del sistema inmune (Saei et al., 2020), produciendo la desregulación de múltiples vías moleculares como la desregulación del RAAS, el estrés oxidativo, disfunción endotelial y la activación del factor de von Willebrand (Ali y Spinler, 2021). Por ello, cualquier estrategia para predecir el desarrollo de estas condiciones es relevante para poner el tratamiento necesario y mejorar la clínica de los pacientes con esta infección viral (Abu-Farha et al., 2020).

5.3. La terapia anticoagulante para el COVID-19

Los pacientes hospitalizados con presunta o recién confirmada infección por COVID-19, deben realizarse una prueba de coagulación al ingreso. Esta prueba incluye parámetros como el dímero D, protrombina, tromboplastina parcial activada, fibrinógeno y recuento de plaquetas, cuya información pronóstica puede ser útil (Connors y Levy, 2020) ya que se tratan de parámetros centrales en el desarrollo de coagulopatías (Grobler et al., 2020). Si la enfermedad se encuentra en los primeros estadios, los valores de dímero-D estarán

normales o ligeramente aumentados, mientras que los de fibrinógeno, factor de von Willebrand, P-selectina y plaquetas estarán aumentados. Si estos pacientes no son tratados, los niveles de dímero-D aumentarán y el resto se mantendrán altos, indicando un peor pronóstico (Globler et al., 2020).

Actualmente, no existen tratamientos de eficacia probada para reducir la progresión de la enfermedad de leve a moderada y de moderada a grave o crítico; sin embargo, reducir la liberación o la actividad de los mediadores proinflamatorios, puede prevenir o revertir el descontrol de la hiperinflamación, mejorando así la condición de los pacientes (Gozzo et al., 2020).

La coagulopatía asociada al COVID-19, debe manejarse como lo sería cualquier hospitalizado, siguiendo la práctica establecida de profilaxis de tromboembolismo venoso para pacientes críticamente enfermos y medidas estándar de apoyo para aquellos con coagulopatía intravascular diseminada o coagulopatía inducida por sepsis. Los pacientes deben ser monitorizados de cerca por el desarrollo de trombosis (Connors y Levy, 2020) y evaluados individualmente para equilibrar el riesgo individual de trombosis y hemorragia (Gozzo et al., 2020). Las recomendaciones recientes, sugieren que todos los pacientes hospitalizados con COVID-19 deben recibir tromboprofilaxis o anticoagulación (Grobler et al., 2020), ya que aproximadamente el 31% de los pacientes hospitalizados y en la UCI terminarán con complicaciones trombóticas (Haybar et al., 2021). Las altas tasas de complicaciones trombóticas observadas en pacientes con COVID-19 grave, combinado con la falta actual de una terapia eficaz para el SARS-CoV-2, ha hecho que se muestre un interés significativo con respecto al uso de anticoagulantes para pacientes con COVID-19 (McFadyen et al., 2020). Éstos han resultado esenciales para limitar el depósito de fibrina, la formación de microtrombos en el ARDS y tratar las complicaciones protrombóticas sistémicas en estos pacientes (Whyte et al., 2020).

El uso de los anticoagulantes para pacientes graves por el COVID-19, ha sido recomendado por consenso de expertos en la materia y por la OMS (Gozzo et al., 2020). En la revisión de Curran et al (2020), recoge estudios retrospectivos de pacientes hospitalizados por COVID-19 en los que se indica un potencial beneficio de la terapia con anticoagulantes, sobre todo en los pacientes que necesitan ventilación mecánica, en los que cuales se reduce la mortalidad.

5.3.1. Heparinas

Cabe señalar con énfasis el uso de las heparinas de bajo peso molecular en esta revisión frente a otros tipos debido a su efecto anticoagulante; aunque también presenta desventajas como corta duración de acción, su ruta parenteral de administración y su carácter aniónico (Akhtar et al., 2018).

Las heparinas de bajo peso molecular (LMWH) son anticoagulantes que se pueden utilizar como profilácticos frente al embolismo pulmonar y los trombos venosos para disminuir así la mortalidad en los pacientes críticos con hipercoagulación inducida por sepsis; de hecho, ya son muchos los hospitales donde se utilizan (Akhtar et al., 2018; Haybar et al., 2021). La heparina es miembro de una familia de polisacáridos polianiónicos llamados glicosaminoglicanos, y es esa naturaleza polianiónica, la que le permite unirse a proteínas como la antitrombina potenciando el efecto inhibitor de la misma sobre los factores de coagulación Xa y trombina. También se une a citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, moléculas de adhesión, péptidos citotóxicos... además se sugiere que las heparinas no fraccionadas pueden unirse directamente a la glicoproteína S del virus y, por lo tanto, pueden tener propiedades antivirales (Gozzo et al., 2020; McFadyen et al., 2020). En definitiva, aunque se emplean principalmente por sus propiedades anticoagulantes, se sabe que la heparina también posee propiedades antiinflamatorias al unirse a distintas proteínas de fase aguda y del complemento, inmunomoduladoras, antivirales y citoprotectores (Gozzo et al., 2020; Kipshidze et al., 2020; McFadyen et al., 2020), siendo de esta forma el anticoagulante de elección para el tratamiento del COVID-19, sobre todo para los pacientes graves (Abu-Farha et al., 2020).

Se recomienda dosis profiláctica de heparinas de bajo peso molecular para todos los pacientes hospitalizados por COVID-19 sin contraindicaciones; no obstante, los regímenes profilácticos estándares pueden ser insuficientes en pacientes graves y críticamente enfermos (Gozzo et al., 2020). Esta recomendación ha sido publicada recientemente por la Sociedad Internacional de Trombosis y Homeostasis (ISTH) en la guía de detección y tratamiento de la coagulopatía del COVID-19 (Miesbach y Makris, 2020). Por ejemplo, una dosis de 4000 IU de heparina de bajo peso molecular subcutánea cada 12h se puede considerar para los pacientes con múltiples factores de riesgo de tromboembolismo venoso (Haybar et al., 2021) o una dosis de 0,5 mg/kg de enoxaparina una vez al día, siendo este fármaco el de primera elección para prevenir fenómenos tromboembólicos en pacientes con COVID-19 (Kasinathan y Sathar, 2020; Tsai et al.,

2021). Además al ser de bajo peso molecular, tienen un menor potencial para inducir sangrado y trombocitopenia en comparación con las otras (Kipshidze et al., 2020). La anticoagulación terapéutica ha sido propuesta por la Sociedad Americana de Hematología en los siguientes casos (Gozzo et al., 2020):

- Pacientes intubados que desarrollan síntomas clínicos y resultados de laboratorio muy consistente con EP;
- Pacientes con hallazgos físicos compatibles con trombosis;
- Pacientes con insuficiencia respiratoria, especialmente cuando el dímero D y/o los niveles de fibrinógeno son muy altos, en quienes la EP o la trombosis microvascular es altamente sospechada.

Uno de los efectos secundarios más interesantes de la administración de las heparinas, es la trombocitopenia inducida. Este efecto secundario es especialmente difícil de reconocer en pacientes sépticos donde al principio las plaquetas están aumentadas y luego pueden disminuir (Mazilu et al., 2021).

A pesar de todo, la eficacia y la seguridad de la anticoagulación así como el régimen de dosis apropiado capaz de mejorar el resultado de la enfermedad en los pacientes con COVID-19 aún no se ha definido en los ensayos clínicos (Gozzo et al., 2020). Las interacciones farmacológicas que se pueden dar entre los anticoagulantes, los agentes antiplaquetarios y los fármacos del sistema cardiovascular con otros, deben considerarse (Haybar et al., 2021) para mitigar los eventos hemorrágicos y trombóticos en los pacientes de alto riesgo (Bhavana et al., 2020).

Las evidencias actuales sobre el uso de las heparinas para prevenir las complicaciones trombóticas en dichos pacientes, derivan de datos retrospectivos y observacionales, con lo cual son necesarios más estudios (Gozzo et al., 2020). En esta línea, también se están desarrollando ensayos en los que se está probando la administración de heparinas nebulizadas dando muy buenos resultados para enfermedades pulmonares obstructivas crónicas y otras, ya que alcanzan directamente el tejido pulmonar mostrando sus efectos antiinflamatorios y antivirales (Kipshidze et al., 2020). Con todo lo expuesto, las heparinas están aprobadas como anticoagulantes por un excelente perfil de seguridad, estabilidad, biodisponibilidad y farmacocinética. Aún así, no se están utilizando ampliamente como fármacos antivirales, a pesar de una actividad amplia frente a varios virus como el virus de la influenza o el del VIH (Mazilu et al., 2021).

5.3.2. Alteplasa

Una característica esencial del ARDS es el depósito de fibrina en los alvéolos y el parénquima pulmonar, debido a anomalías en la coagulación llevando incluso a la muerte al paciente cuando este depósito se produce de forma diseminada (CID). Ante esto, el tratamiento con las heparinas de bajo peso molecular no es eficaz ya que no es capaz de limpiar los clusters de fibrina depositados, por ello se propone el uso de fármacos fibrinolíticos como la alteplasa (Mazilu et al., 2021; Whyte et al., 2020). La alteplasa o rtPa (activador recombinante del plasminógeno tisular), está considerada como una buena elección en los pacientes con COVID-19 que presenten resistencia a la heparina en el tratamiento de las complicaciones micro tromboembólicas asociado al ARDS (Barrett et al., 2020; Haybar et al., 2021; Kipshidze et al., 2020). Se trata de un fármaco fibrinolítico relativamente reciente con una eficacia alta (Barrett et al., 2020). Este posible interés como tratamiento para la COVID-19 se debe también a efectos antiinflamatorios ya que es capaz de suprimir la activación de los neutrófilos, como se muestra en modelos experimentales animales (Mazilu et al., 2021).

El uso de los activadores de plasminógeno para limitar la progresión de la ARDS, reducir las muertes debido y aumentar la presión arterial de oxígeno en los pacientes está apoyado por estudios en modelos animales y ensayos clínicos en fase I en humanos (Moore et al., 2020). En los pacientes con ARDS secundario a COVID-19, esta terapia se está utilizando como uso off-label, a la espera de que se establezcan los beneficios a largo plazo (Bikdeli et al., 2020). Con respecto a la dosis, la vía de administración y la duración del tratamiento son aspectos que quedan por definir, pero los estudios y las investigaciones de este enfoque necesario ya están en marcha (Moore et al., 2020). Además, se propone el uso de estos fármacos de forma nebulizada para atacar la degradación de la fibrina y mejorar la oxigenación en condiciones críticas de pacientes enfermos, limitando de esta forma el principal efecto secundario de interés que tiene la terapia anticoagulante o trombolítica administrada de forma tradicional, el sangrado. Sin embargo, se requiere la administración intravenosa de este tipo de fármacos para eliminar grandes trombos de la circulación, y uno de los principales problemas de la nebulización es que las proteínas nebulizadas son susceptibles a degradación (Mazilu et al., 2021). Un informe de 1999 recogió el caso de una mujer joven con ARDS resistente a la terapéutica convencional y fue tratada con tPa nebulizado e intravenoso, seguido de tratamiento con heparina no fraccionada nebulizada; el resultado fue la estabilización de la paciente con mejora significativa en el intercambio de gases pulmonares (Whyte et al., 2020). En la

revisión de Abdellatif et al (2021) también se postula la idea del uso del plasminógeno inhalado, defendiendo su efectividad para tratar las lesiones pulmonares y la hipoxemia observada en los pacientes con COVID-19 (Abdellatif et al., 2021). En la Figura 16, se muestra de forma gráfica el efecto que tiene este fármaco en los pulmones:

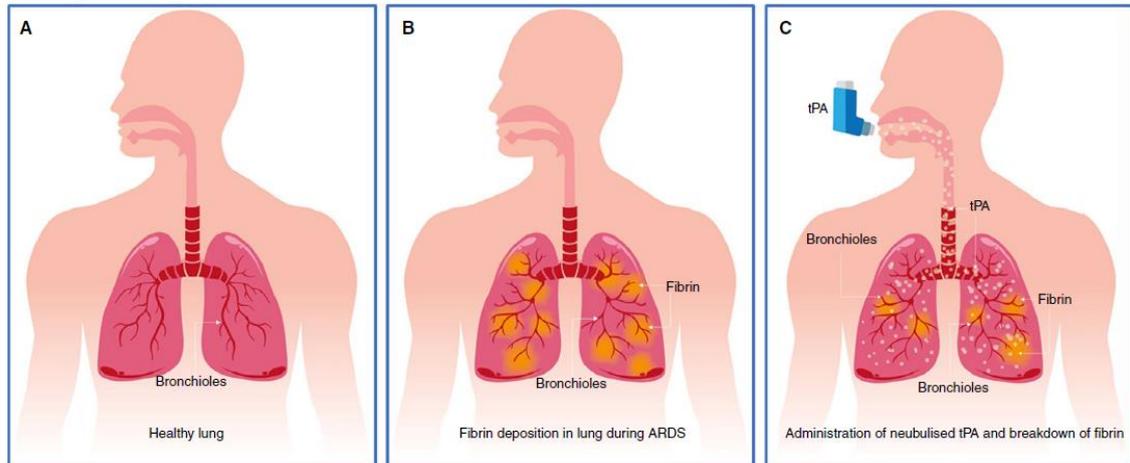


Figura 16. Depósito de fibrina en los pulmones durante el ARDS y degradación por la administración nebulizada de tPa. (A) Pulmón sano, normal sin depósitos de fibrina detectables. (B) Durante el desarrollo de ARDS el equilibrio entre la coagulación y la fibrinólisis se interrumpe lo que resulta en depósitos de fibrina en el parénquima pulmonar y microtrombos de fibrina-plaquetas en la vasculatura pulmonar. Esto promueve la disfunción respiratoria y puede conducir a la necesidad de asistencia respiratoria. (C) Administración de tPa nebulizado que favorece la fibrinólisis permitiendo el aclaramiento de fibrina en el parénquima pulmonar mejorando así la función respiratoria y la oxigenación en pacientes con COVID-19 (Whyte et al., 2020).

En la siguiente Figura 17 se muestra a modo de resumen los principales beneficios de los fármacos anticoagulantes que hemos tratado anteriormente:

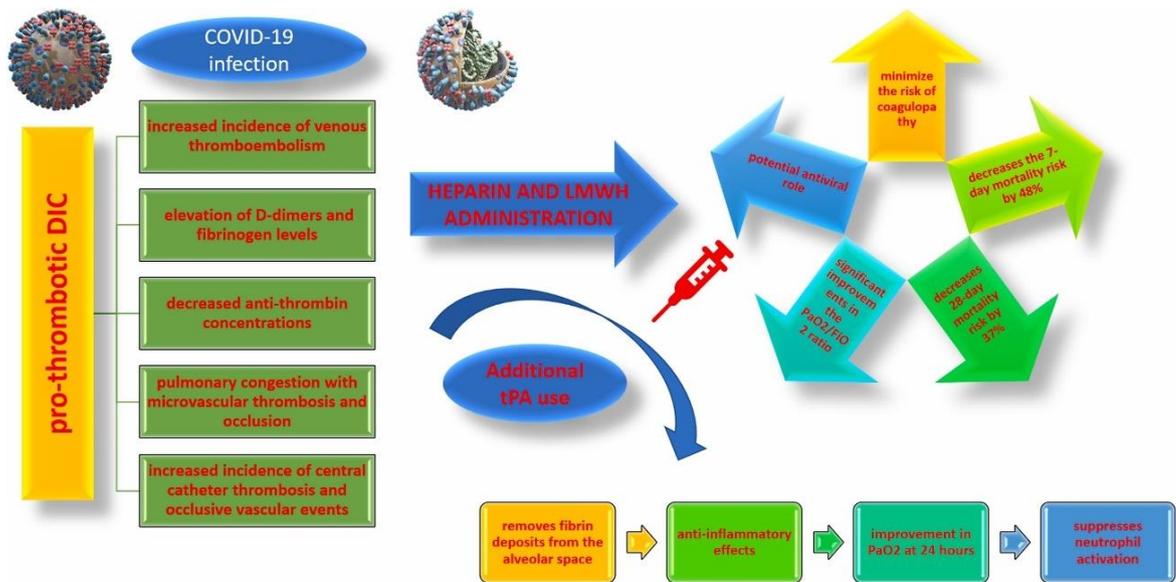


Figura 17. Beneficios de la terapia anticoagulante en la infección por el COVID-19 (Mazilu et al., 2021).

5.3.3. Dornasa alfa

El siguiente fármaco de interés, está relacionado con la interacción que se da entre los neutrófilos y la hiperinflamación en el COVID-19 (Figura18):

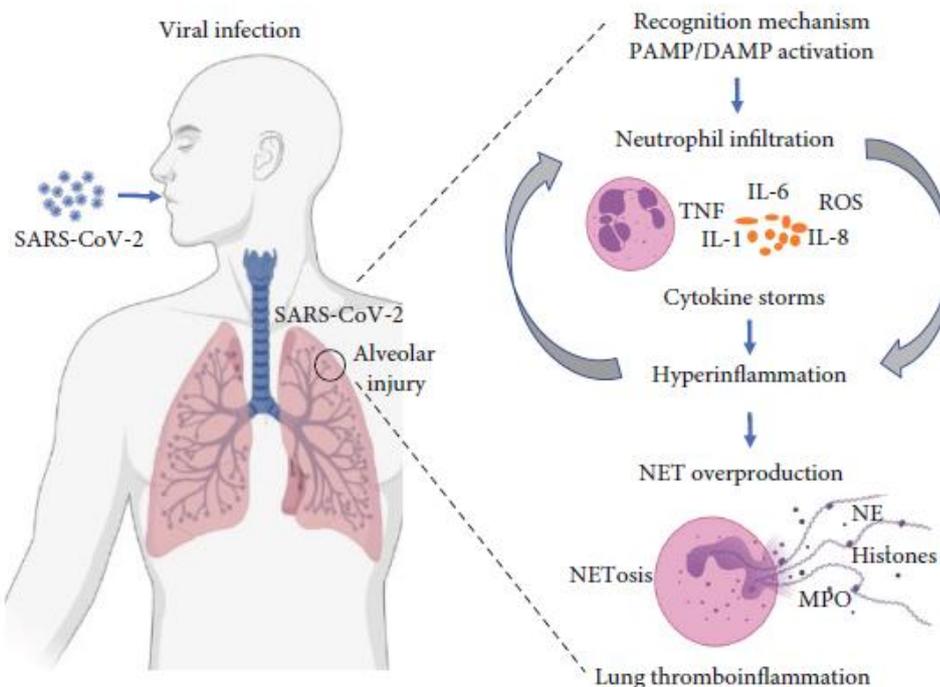


Figura 18. Hipótesis sobre la interacción entre los neutrófilos y la hiperinflamación en el COVID-19. Después de la interacción entre el huésped y el virus, la señalización conduce a una cascada de interacciones entre el mecanismo de reconocimiento del virus, la activación de los neutrófilos y los

estímulos inflamatorios. El proceso de NETosis, puede proteger al huésped durante la respuesta del virus o exacerbar la hiperinflamación pulmonar en pacientes con COVID-19 (Borges et al., 2020).

Es bien conocido que los neutrófilos eliminan los patógenos al desplazarse al sitio de la infección por fagocitosis, pero también son capaces de matar a los patógenos a través de la formación de NETs (trampas extracelulares de neutrófilos) cuyo proceso de formación está muy regulado, pero las señales involucradas no están del todo dilucidadas (Barnes et al., 2020). Los NETs son fragmentos de ADN, histonas, proteínas y enzimas oxidantes que son liberados por los neutrófilos durante la infección para atrapar a los patógenos (Okur et al., 2020) y que se relaciona con la inflamación, el daño pulmonar y/o complicaciones trombóticas en algunas ocasiones (Jones et al., 2020), como en dicho caso. Normalmente los NETs son beneficiosos en la defensa del huésped como hemos mencionado, pero la formación excesiva puede contribuir a la formación de moco viscoso, lo que resulta en una alteración en el intercambio de gases y facilita la aparición de infecciones secundarias. Finalmente, los NET pueden potenciar trombosis al activar componentes de la cascada de coagulación e inactivar anticoagulantes endógenos. Todo ello, provoca un daño orgánico permanente en el sistema cardiovascular, pulmonar y renal, sistemas comúnmente afectados por en el COVID-19 severo (Barnes et al., 2020; Borges et al., 2020; Toma et al., 2021). Algunos de estos problemas se muestran en la Figura 19:

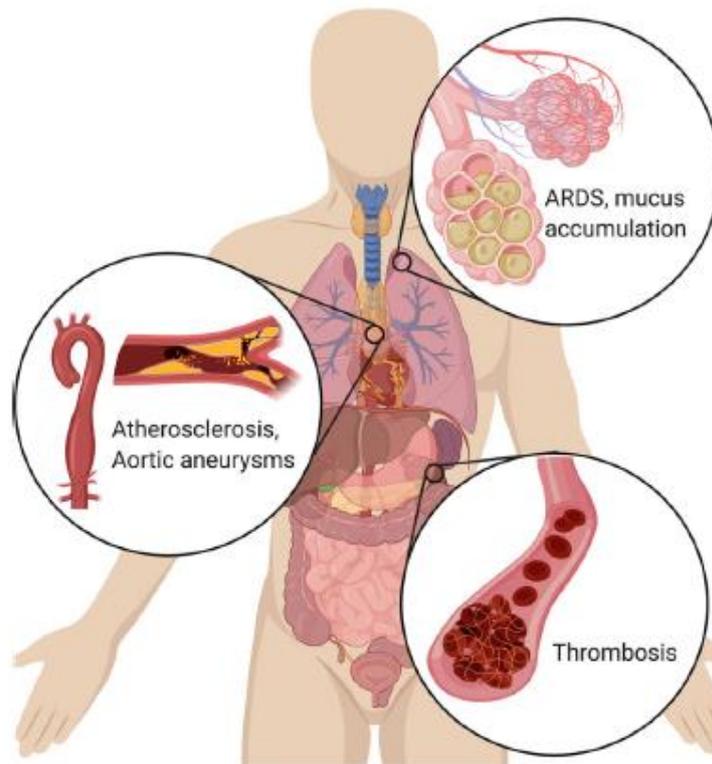


Figura 19. Formación excesiva de NET puede derivar en una variedad de patologías serias. En los pulmones, puede producir acumulación de moco y ARDS a través de una variedad de inductores. En el sistema vascular, dan lugar a arterioesclerosis y aneurisma en la aorta, como también trombosis (particularmente microtrombosis), con efectos devastadores en la función orgánica (Barnes et al., 2020).

La dornasa alfa, versión recombinante de la proteína que se encuentra en nuestro cuerpo denominado “ADNasa”, se lleva utilizando durante décadas para disminuir la viscosidad del moco que se forma en los pacientes con fibrosis quística (Okur et al., 2020). Es la primera proteína terapéutica inhalada o nebulizada en forma de solución aprobada por la FDA en 1993 para enfermedades pulmonares (Zhang et al., 2021) y ahora también se está evaluando su posible uso para la insuficiencia respiratoria y el asma neutrofílica (Fröhlich y Salar-Behzadi, 2021). También se ha comprobado con estudios preliminares *in vitro*, como este fármaco puede tener un posible efecto antiviral frente al SARS-CoV-2 (Okur et al., 2020), actuando como mucolítico al escindir el ADN cromosómico celular de trampas extracelulares de neutrófilos. Ello se da en pacientes graves que en su mayoría progresan a ARDS con insuficiencia respiratoria hipoxémica asociado con neutrofilia e infiltración de neutrófilos en los pulmones, moco espeso en los bronquios y bronquiectasia (Altay et al., 2020; Earhart et al., 2020). Con lo cual, ayudaría a mejorar la trombosis intravascular, la obstrucción de las vías respiratorias y los síntomas derivados de ello (Zuo et al., 2021); de ahí su relevancia para que quede recogido en la

presente revisión ya que aunque no es un fármaco fibrinolítico como tal, se relaciona con los problemas tromboticos que puede agravar el estado de los pacientes con COVID. Este mecanismo de acción de la dornasa alfa, se muestra en la siguiente Figura 20:

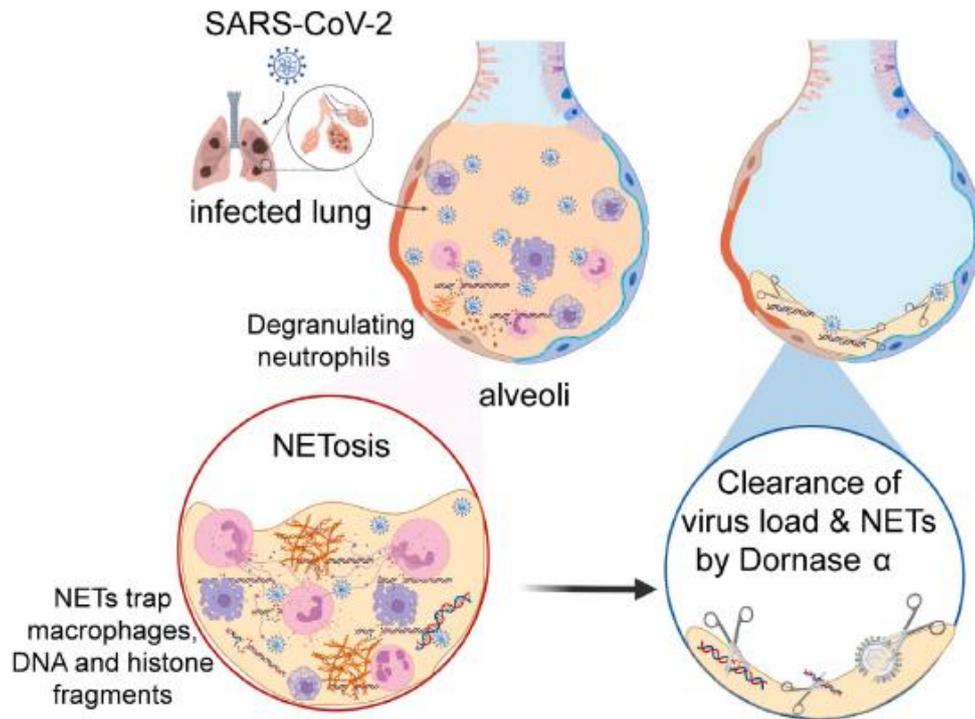


Figura 20. Actividad antiviral de la dornasa alfa. El SARS-CoV-2 infecta a los pulmones e induce la formación de NETs. La dornasa alfa limpia la carga viral y los NETs de los pulmones (Okur et al., 2020).

Este fármaco se administra en forma de solución para inhalación. Actualmente hay estudios que han establecido la posibilidad de administración de este medicamento en forma endotraqueal nebulizada, pudiendo incluso reducir las necesidades de oxígeno en todos los pacientes tratados (Zuo et al., 2021). Se puede administrar fácilmente a pacientes ventilados mecánicamente y es bien tolerado por los que se encuentran en la unidad de cuidados intensivos (Earhart et al., 2020).

A pesar de todo esto, se necesita precaución para definir qué personas se beneficiarían al suprimir la respuesta de los neutrófilos o si en cambio, ayudaría más una acción fortalecida de los mismos frente a las infecciones virales (Borges et al., 2020).

5.4. La nanomedicina

Las infecciones virales son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo y una de las principales razones de pérdidas económicas significativas. Los tratamientos convencionales principalmente basados en la vacunación y los fármacos, están dirigidos al ciclo de vida del virus; sin embargo, muchos virus mutan o evolucionan volviéndose a menudo resistentes a los medicamentos por lo que se requieren recursos adicionales para el desarrollo de medicamentos. Entre ellos destaca la nanotecnología (Weiss et al., 2020), y su aplicación en la medicina conocida como nanomedicina, con un papel crucial también en la aceleración del desarrollo de terapéuticas prometedoras (Ellah et al., 2020). La nanomedicina, ofrece una serie de soluciones para combatir los virus, tanto dentro como fuera del hospedador, cuyo éxito se ha comprobado en estudios preclínicos frente a otros como el virus del papiloma humano, el herpes simple y virus respiratorios (Weiss et al., 2020) y este éxito se debe al aprovechamiento de las características similares entre los nanoportadores y los virus (Heinrich et al., 2020). Se trata de una ciencia emergente y relativamente nueva ya que el primer fármaco comercializado fue en 1995, cuando la FDA aprobó una formulación en forma de liposoma de doxorubicina, convirtiéndose así en la primera terapia basada en nanomedicina aprobada, indicada para el sarcoma de Kaposi y otros cánceres que consiguieron reducir la cardiotoxicidad del fármaco con respecto a las formulaciones convencionales (Zenyck y Fournier, 2020). A partir de ahí son muchos los nanomateriales que se han desarrollado, desde polímeros hasta dendrímeros, oligómeros, liposomas y moléculas pequeñas (Weiss et al., 2020).

En la siguiente Figura 21 se muestra un resumen introductorio sobre la nanomedicina y sus aplicaciones a desarrollar en este apartado:

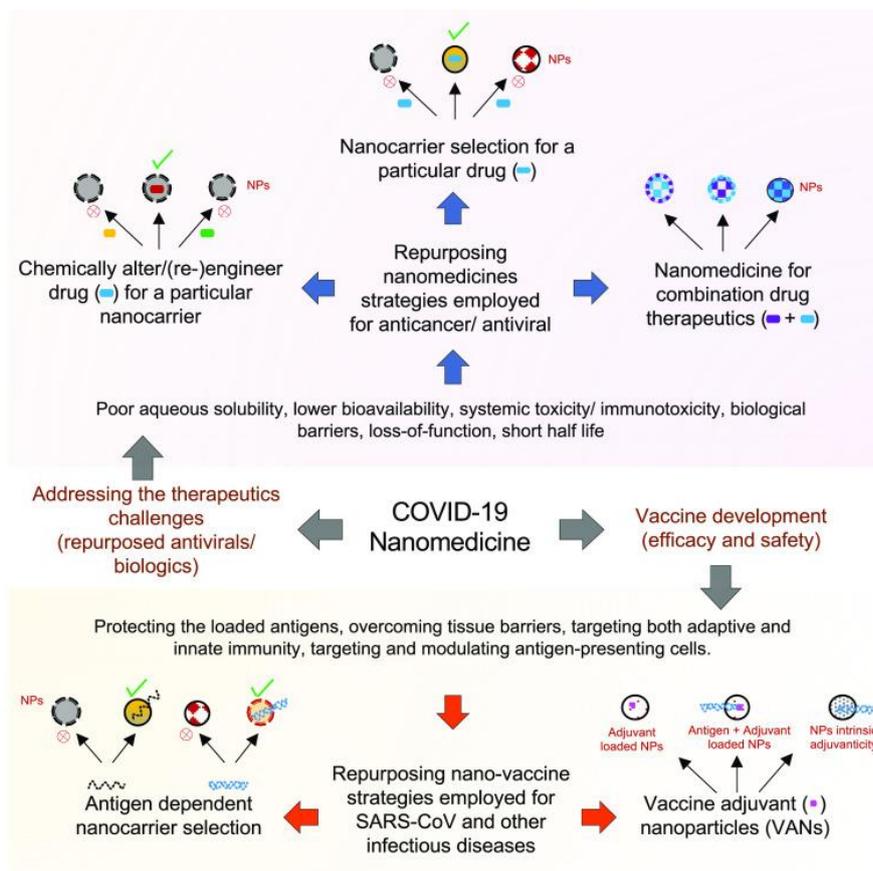


Figura 21. Estrategias basadas en nanomedicina para el desarrollo de fármacos y vacunas frente al COVID-19 (Chauhan et al., 2020).

Este sistema de administración de fármacos ofrece nuevas posibilidades frente a esta infección ya que, entre otras ventajas, destacan las siguientes:

- Capacidad para interactuar con los sistemas biológicos (Jones et al., 2020) al cruzar barreras biológicas y alcanzar concentraciones terapéuticas en los lugares de acción (Chauhan et al., 2020) gracias al pequeño tamaño y la morfología de las nanopartículas que facilita incluso el acceso de los fármacos a sitios fisiológicamente inaccesibles (Bhavana et al., 2020). Esta concentración en los lugares de acción favorece la reducción de la exposición sistémica de los fármacos administrados y, por tanto, su toxicidad (Zhou et al., 2021);
- Versatilidad: los nanomateriales son fácilmente funcionalizables al ofrecer la posibilidad de conjugar en su superficie ligandos específicos de las dianas de acción y consiguen de esta forma, diversificar las funciones de los nanotransportadores (Zhou et al., 2021);

- Mejora del perfil farmacocinético: favorece cambios en las propiedades farmacocinéticas/farmacodinámicas que podrían mejorar la baja solubilidad y biodisponibilidad, disminuyendo de esta forma la dosis y la toxicidad de algunos de los fármacos utilizados de forma tradicional para el tratamiento del COVID-19 (Chauhan et al., 2020);
- Capacidad de internalización celular: las nanopartículas tienen una gran tendencia a ser captadas por las células, especialmente por las células del sistema inmune, que deriva en una acumulación intracelular en las células infectadas y el acceso a patógenos intracelulares (Zhou et al., 2021);
- Protección de los fármacos en su interior frente a la degradación por la circulación sistémica (Chauhan et al., 2020);
- Control de la liberación: los nanoportadores de liberación controlada de fármacos, podrían mitigar los efectos de riesgo de incumplimiento del paciente y de efecto rebote durante el tratamiento de las infecciones virales (Chauhan et al., 2020). Todo esto se debe a la mejora en la especificidad/eficiencia de los nanosistemas (Weiss et al., 2020).

Los nanosistemas más utilizados para la encapsulación de los principios activos se representan en la Figura 22:

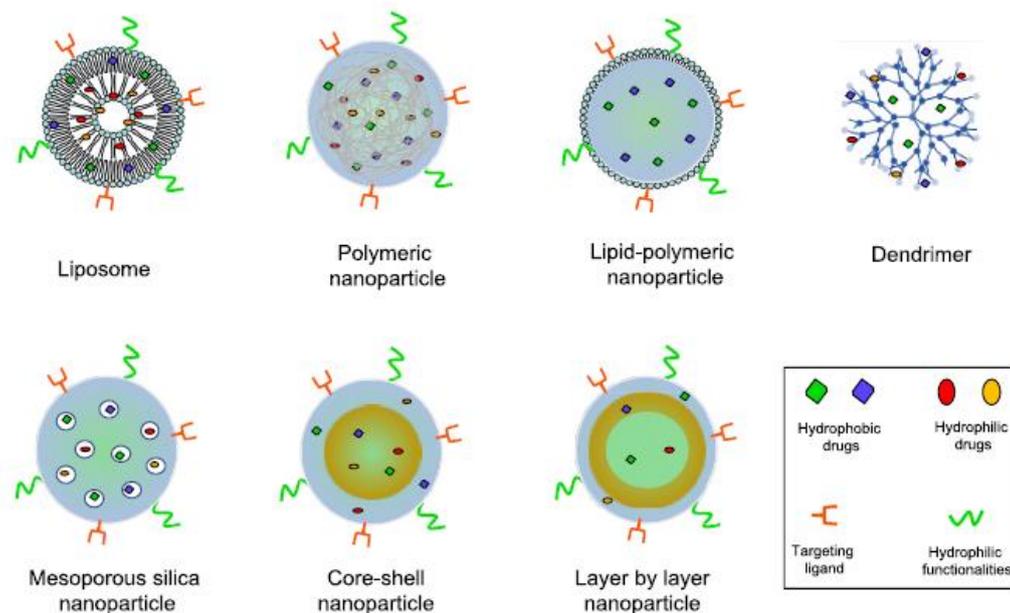


Figura 22. Nanoportadores utilizados para el desarrollo de fármacos (Chauhan et al., 2020).

Por su parte, nanopartículas poliméricas poseen propiedades interesantes desde el punto de vista de su fabricación y biocompatibilidad, lo que le convierte en candidatos para las aplicaciones en la biomedicina (Sivasankarapillai et al., 2020). El PLGA (ácido poli láctico-co-glicólico) es uno de los miembros más conocidos de esta categoría; está aprobado por la FDA para su aplicación en el cuerpo humano y esto se debe a la excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad (Bhavana et al., 2020; Sivasankarapillai et al., 2020). Entre sus ventajas también destacan una mejor encapsulación de fármacos tanto hidrófilos como hidrófobos, liberación sostenida de los mismos y vida útil prolongada. Todo ello se suma a la facilidad de modificación utilizando ligandos específicos para la administración de fármacos evitando de esta manera efectos secundarios fuera de la diana (Prasanna et al., 2021). Por el lado contrario, el proceso de escalado de las nanopartículas es difícil al igual que la evaluación toxicológica inadecuada, como principales inconvenientes (Yang, 2021). Además de las nanopartículas poliméricas, destacamos los liposomas, los dendrímeros, las nanopartículas inorgánicas a base de oro, sílice o carbono y otras. Los liposomas también son un atractivo sistema de administración de fármacos, especialmente para aplicaciones pulmonares ya que está preparado principalmente a partir de fosfolípidos que son inherentes a los pulmones; también poseen propiedades de liberación sostenida que permiten el máximo efecto del fármaco durante un periodo de tiempo prolongado (Paranjpe y Müller-Goymann, 2014). Por su parte los dendrímeros, tienen una estructura globular que les permite acoplar moléculas de fármaco en su interior. Actúan como un vehículo extraordinario para la administración de fármacos en el sistema biológico con utilidad y aplicación contra tumores, infecciones bacterianas y virales (Bhavana et al., 2020).

Sin embargo, las nanopartículas aprobadas para uso en pacientes deben seleccionarse con cuidado y ser evaluadas específicamente para que sean seguras y eviten cualquier efecto adverso indeseado (Jones et al., 2020; Zhou et al., 2021).

5.5. Nanomedicina y anticoagulantes

En las últimas décadas, la nanotecnología ha tenido un impacto significativo en el desarrollo de sistema de administración de fármacos. Se han desarrollado nanopartículas como vehículos a base de lípidos y nanoestructuras poliméricas (Liang y Kiick, 2014), que pueden transportar, en nuestro caso, a los anticoagulantes a las dianas específicas consiguiendo incluso una terapia de liberación controlada. Estos anticoagulantes pueden ser inhalados, absorbidos a través de la piel o inyectados (Abdellatif et al., 2021). De esta

forma, la nanomedicina puede suponer una solución a los problemas que presentan los anticoagulantes administrados de forma tradicional.

5.5.1. Nanotransportadores de heparinas

Dada su función como anticoagulante, la heparina puede presentar efectos secundarios indeseables como complicaciones hemorrágicas, trombocitopenia inducida y/o baja biodisponibilidad; por ello, las nanopartículas basadas en heparina tienen un mayor interés debido a las ventajas resultantes de su dimensión a nanoescala (Liang y Kiick, 2014). Basado en las actuales revisiones, la Figura 23 esquematiza el uso de las micro y nanopartículas para la administración de las heparinas de bajo peso molecular a través de diferentes rutas (Akhtar et al., 2018):

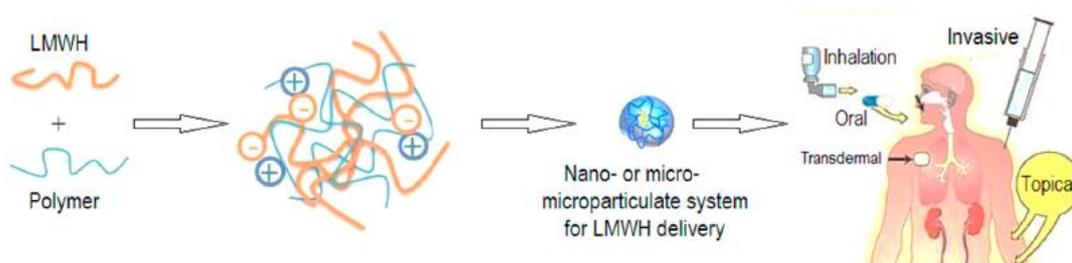


Figura 23. Nano y micropartículas de heparinas de bajo peso molecular a través de diferentes rutas (Akhtar et al., 2018).

Se han desarrollado nanopartículas de heparina con núcleos hidrófobos biodegradables de PLGA (Liang y Kiick, 2014). El PLGA, debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad, es el polímero sintético más comúnmente utilizado para aplicaciones farmacéuticas, entre las que destaca su uso como transportador de fármacos para distintas enfermedades (Emami et al., 2019). El PLGA puede estar formado por distintas proporciones de sus principales componentes, el ácido láctico y glicólico; si la proporción del primero es mayor, la nanopartícula será más hidrofóbica consiguiendo una lenta liberación y degradación. Así se han desarrollado partículas para administración parenteral de enoxaparina con una acción prolongada y unas proporciones de ácido láctico y glicólico de 50:50 y 85:15 respectivamente, con una eficiencia en la encapsulación mayor del 50% (Akhtar et al., 2018).

Otro tipo prometedor de nanotransportadores son los dendrímeros, que han sido probados para la administración de LMWH a través de la vía pulmonar. Aproximadamente una mejora del 60% y del 41% en la biodisponibilidad de los dendrímeros policatiónicos desarrollados con y sin pegilación, fue observado con respecto a los dendrímeros aniónicos que no mostraron cambios en su biodisponibilidad (Akhtar et al., 2018).

La administración de nanopartículas de forma oral también resulta ventajosa gracias a la protección que ofrece la encapsulación del principio activo en el interior de las mismas, frente a condiciones desfavorables del tracto gastrointestinal, modificaciones y la adhesión y adsorción por la membrana mucosa. Para mejorar su biodisponibilidad en este caso, las nanopartículas lipídicas se estabilizan con fosfatidilcolina (Akhtar et al., 2018).

También la vía tópica se contempla para el tratamiento de las trombosis superficiales y hematomas a través de LMWH formuladas en flexosomas (liposomas flexibles) que tienen en su superficie diferentes cargas. Los liposomas con este fármaco, también se han propuesto para tratar por ejemplo hemorragias locales por vía subconjuntival (Akhtar et al., 2018).

Los polimerosomas podrían tener papeles prometedores con otros medicamentos que tienen efectos reguladores en los pacientes con COVID-19, especialmente para casos graves como es el caso de las heparinas. Estos polímeros similares a los liposomas, son algunos de los nanomateriales más eficientes para su uso como sistemas de administración de fármacos. Son vesículas artificiales que surgieron por su alta estabilidad coloidal, así como por su facilidad de conjugación de ligandos (Al-Hatamleh et al., 2021).

Además del PLGA como polímero biodegradable, hay que destacar también otro polímero como el Eudragit® el cual se ha utilizado recientemente para encapsular también las LMWH. El uso de cadenas cortas de polietileno deriva en posibles ventajas debido a la baja toxicidad comparado con otros y consigue casi una completa liberación del fármaco *in vitro* (Neves et al., 2016).

Los estudios iniciales muestran resultados satisfactorios tanto en la encapsulación de la heparina en nanopartículas como en el control de su liberación (Neves et al., 2016). A partir de ahí, la clave estará en futuras nuevas investigaciones para saber si esas

nanopartículas que se han conseguido desarrollar, pueden formar parte de una nueva batería de fármacos para hacer frente al COVID-19.

5.5.2. Nanotransportadores de alteplasa

El rtPa tiene escasa afinidad hacia el trombo, lo que se traduce en disminución de eficacia de trombólisis y posibilidad de producir lesión por reperfusión. Otras de sus limitaciones para el uso clínico incluyen tiempo de acción corto, generalmente de tres horas y riesgo de efectos secundarios hemorrágicos. En consecuencia, han surgido estrategias basadas en nanomedicina para mejorar la eficacia trombolítica del rtPa (Chen et al., 2020).

El vehículo ideal para los fármacos trombolíticos debería ser biocompatible, no tóxico, no inmunogénico, biodegradable y deberían evitar el rápido aclaramiento por el sistema inmune; de esta forma, los nanotransportadores permiten la acumulación del fármaco en la zona del trombo y tiene el potencial de penetrar en él (Zenychny y Fournier, 2020). En esta línea, se han desarrollado distintas formulaciones, esquematizadas en la siguiente Figura 24:

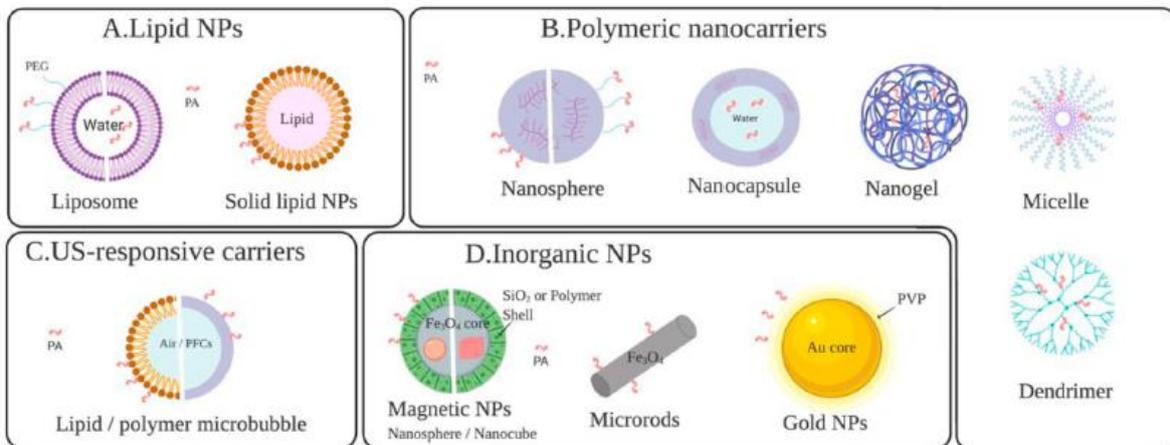


Figura 24. Transportadores basados en nanomedicina para activadores de plasminógeno. (A) Nanotransportadores lipídicos. (B) Nanotransportadores poliméricos. (C) Nanotransportadores sensibles al ultrasonido. (D) Nanopartículas inorgánicas (Zenychny y Fournier, 2020).

La encapsulación de este principio activo en liposomas consigue mejorar la vida media del fármaco y reducir los efectos indeseados hemorrágicos. En un estudio realizado por Zenychny y Fournier (2020), se observó que cuando se pegila la superficie con

PEG (polietilenglicol), la liberación del principio activo se da en 30 minutos después de la administración, seguida de una liberación continua durante 24 horas, con esto se pretende evitar una re-trombosis. Las nanopartículas lipídicas sólidas son una alternativa de sistema de liberación de fármaco, donde el principio activo se encuentra covalentemente unido a la superficie. En el caso de los nanotransportadores poliméricos, el principio activo está típicamente atrapado dentro de la micela anfifílica, incorporado en el núcleo acuoso de las nanocápsulas o covalentemente unido a la superficie de las nanoesferas y dendrímeros. En los nanotransportadores sensibles al ultrasonido, las microesferas están llenas de gas recubiertas principalmente con fosfolípidos o polímeros que unen el principio activo a la capa externa a través de enlaces covalentes. Y por último, hay nanopartículas inorgánicas que también se han desarrollado para este fármaco. En general, cuando en algunos de los casos se da la pegilación superficial con PLGA, se favorece la biocompatibilidad y la mejora farmacocinética (Zenych y Fournier, 2020).

En la Figura 25 también viene recogido la formulación en forma de nanogeles, y es que se han desarrollado estos tipos de transportadores también para conseguir la liberación de tPa y así tratar la coagulación generalizada y la deposición de fibrina en circunstancias de DIC, para inhibir tanto la formación de microtrombos nuevos como los preexistentes. Estos nanogeles específicos de fibrina con tPa (tPa-FSN) representados en la Figura 25, han demostrado lisar más eficazmente los coágulos en comparación con la acción fibrinolítica no dirigida *in vitro*, en las zonas en las que hay alta densidad o alto contenido de fibrina y no en sitios fuera del objetivo, por lo tanto con dosis más bajas que con las terapias sistémicas sería suficiente; *in vivo*, también se ha demostrado estos efectos positivos. El momento de esta terapia durante la progresión de la CID, debe ser considerado cuidadosamente y puede no ser apropiado en casos de sangrado activo (Mihalko et al., 2021).

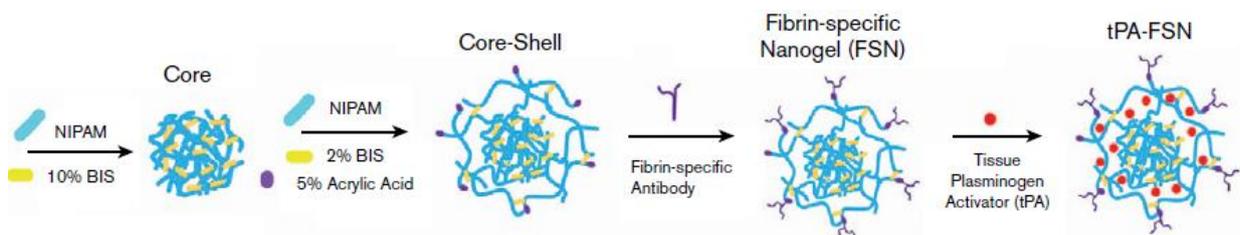


Figura 25. Síntesis del nanogel. Esquema de la síntesis de partículas núcleo-capa y fabricación de FSN con la posterior carga de tPa mediante una técnica de rehidratación (Mihalko et al., 2021)

Este sistema de administración de fármacos tiene el potencial de mejorar significativamente el tratamiento de pacientes con CID y, aunque las coagulopatías asociadas con COVID-19, muestran características distintas en comparación con las de CID, los pacientes críticamente enfermos pueden progresar a CID como resultado de infecciones secundarias que están asociadas con una mayor mortalidad. Los tPa-FSN pueden ofrecer un enfoque terapéutico novedoso que podría ofrecer la administración dirigida de agentes fibrinolíticos para lisar coágulos en la microcirculación para mitigar el daño orgánico y mejorar potencialmente la coagulopatía en esta población de pacientes (Mihalko et al., 2021).

La limitación que tienen los activadores de plasminógeno tisular en la penetración de los trombos, se puede solventar gracias a otro tipo de sistema nanométrico de administración en forma de nanopartículas magnéticas (MNP), recogido también en la Figura 22. Los MNP suelen estar compuestos por un núcleo de magnetita (Fe_3O_4) que responde a imanes permanentes externos y por una capa de polímero que inhibe la agregación, aumenta la estabilidad y proporciona grupos funcionales para unirse al fármaco. Al aplicar un campo magnético de forma externa como enfoque terapéutico, se somete al MNP a una fuerza de arrastre, por lo que se mejora la rotura del coágulo y permite la entrada forzada de las partículas hacia el interior. Con las pruebas *in vitro* de MNP-rtPa, se demostró que esta unión covalente conseguía una mayor actividad fibrinolítica del rtPa, que es fundamental para una trombólisis eficaz *in vivo*. Después de la eliminación del campo magnético, los MNP no retienen ningún magnetismo residual y se disipa fácilmente a través de la circulación; sin embargo, no se puede descartar la toxicidad potencial para otros órganos o células que pueden estar expuestos a esta formulación. Estudios *in vitro* previos también sugirieron que la fuerza mecánica como la inducida por un gradiente de presión, puede facilitar la fibrinólisis al mejorar la penetración del fármaco en la sangre. Este método es potencialmente útil para atacar los coágulos de fibrina arterial (Huang et al., 2019).

Los resultados de este estudio de Huang et al (2019), pusieron de manifiesto la eficiencia en la lisis del coágulo cuanto se administra el rtPa encapsulado en la MNP y en presencia de un campo magnético, alcanzando un mayor efecto que el conseguido cuando se administra el principio activo no encapsulado (Huang et al., 2019).

Estas nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 , también se han desarrollado con PLGA (PMNP). El agente trombolítico rtPa y el péptido de fibrina GPRPPGGSKGC, se conjugaron con la superficie de PMNP que se modificó con avidina para preparar la nanopartícula pPMNP-rtPa. La avidina es una proteína que muestra una considerable afinidad por la biotina, que es un cofactor importante en muchos procesos biológicos; tiene la capacidad de unir hasta cuatro moléculas de biotina siendo la interacción no covalente más fuerte. Además, la formación de enlaces entre biotina y avidina es muy rápido y el enlace formado no se ve afectado por el pH, los disolventes orgánicos o la temperatura, que facilita la conjugación de rtPa a PMNP-avidina; a lo que se une el aumento de carga de rtPa en la superficie de la nanopartícula gracias también a la avidina (Chen et al., 2020).

Las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas durante la preparación fueron analizadas y seguido de análisis de biocompatibilidad y trombólisis *in vitro*. Finalmente, la eficiencia de trombólisis de pPMNP-rtPa fue probada *in vivo* en un modelo de rata obteniendo resultados favorables y prometedores para el estudio en humanos (Chen et al., 2020).

Otro sistema interesante lo componen el grupo de las nanopartículas en forma de microburbujas (MMB-SiO₂-tPa), para el transporte dirigido de tPa a los coágulos. Estas microburbujas se consiguen a través del autoensamblaje de nanopartículas en la interfaz líquido-aire (núcleo de gas), de forma que las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro y de sílice con tPa, sellan el sistema y evitan la liberación del tPa en la circulación. En la carcasa, el componente magnético facilita la orientación de las microburbujas a coágulos bajo un campo magnético y con la estimulación por el ultrasonido, las microburbujas oscilan y las nanopartículas de tPa se liberan, introduciéndose en el interior de los coágulos, por lo que se mejora la tasa lítica y la eficacia de la trombólisis. La liberación a demanda de tPa, solo se puede lograr mediante oscilaciones estables de microburbujas bajo ultrasonido de baja intensidad y al final del proceso, el MMB-SiO₂-tPa se disuelve gradualmente en solución (Wang et al., 2020). Esta estrategia de interés se recoge en la siguiente Figura 26:

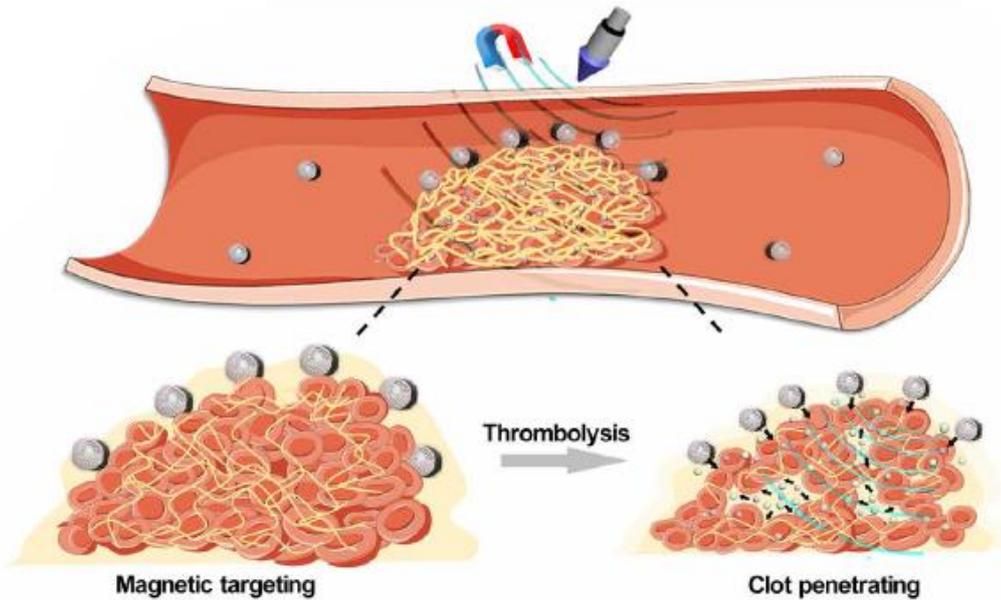


Figura 26. Estrategia de administración de precisión utilizando la focalización magnética y la liberación activada por ultrasonido (Wang et al., 2020)

En resumen, esta última estrategia consigue tres pasos importantes de la nanomedicina para la trombólisis: el mantenimiento de la actividad en la circulación, focalización en los coágulos y penetración en coágulos, esto hace que sea una estrategia muy eficaz. Todo esto hace que sea un sistema prometedor en el diagnóstico de trombos y en la rápida trombólisis mientras se reduce el riesgo de complicaciones del tPa y la lesión vascular por ultrasonido de alta intensidad (Wang et al., 2020).

Por último, destacar que también se han formulado nanopartículas fibrinolíticas (FNPs) formuladas con DMAB (bromuro de didecil dimetilamonio) y PVA (polivinilalcohol), que se conocen como DMAB-FNPs y PVA-FNPs, respectivamente. En general, los resultados indican que DMAB-FNP causan una lisis de coágulos más gradual en comparación con los PVA-FNP; esto podría deberse a la liberación más lenta de tPa de DMAB-FNP en comparación con sus homólogos de PVA. Se plantea la hipótesis de que el efecto más dominante subyacente a la fibrinólisis más gradual puede atribuirse también a la unión electrostática de DMAB-FNP con carga positiva a la fibrina, que está cargada negativamente a pH 7.4. Por otro lado, se esperaría que los PVA-FNP penetraran y se distribuyeran por todo el coágulo mediando una lisis intra-coágulo más rápida, a diferencia de los DMAB-FNP (Sivaraman et al., 2016).

Para conseguir un diseño óptimo de la nanopartícula donde incorporar los activadores de plasminógeno y conseguir una trombólisis eficiente y segura, la biodistribución y la farmacocinética del inyectable inorgánico, lipídico o la nanopartícula polimérica debe ser la correcta y, dependiendo del tipo y la composición del nanotransportador, se utilizarán diferentes técnicas de encapsulación (Zenych y Fournier, 2020).

5.5.3. Nanotransportadores de dornasa alfa

Como se ha comentado, este fármaco se administra en forma de solución para inhalación o nebulización. No obstante, los últimos avances en relación con el COVID-19 y las nuevas estrategias de tratamiento, han dilucidado la posibilidad de aplicación de la nanomedicina en la formación de nanoportadores cargado con este fármaco.

Heinrich et al (2020), desarrollaron una formulación basada en nanoportadores con péptidos superficiales como el péptido dirigido a células calciformes CSKSSDYQC (CSK) o PEG (Figura 29), que han mostrado características mejoradas de penetración en el moco, eliminándolo de forma eficiente, mejorando la absorción específica en las células calciformes y administrado de forma nasal (Heinrich et al., 2020).

La combinación de nanoportadores cargados con fármacos candidatos para el tratamiento del COVID-19, combinados con tales péptidos superficiales podría ser una estrategia prometedora para la administración hacia las células infectadas con este virus (Heinrich et al., 2020).

A pesar de los beneficios que reporta este fármaco para los pacientes con COVID-19, la administración de fármacos nebulizados, como la dornasa alfa, se han limitado debido al riesgo de aerosolización viral, de forma que su uso debe limitarse cuando exista este riesgo (Weber et al., 2020).

5.6. Las vacunas y la nanomedicina. Pfizer y Moderna

La nanomedicina podría ayudar en el tratamiento de la COVID con el desarrollo de nuevos fármacos para evitar los problemas derivados de la administración de agentes anticoagulantes y fibrinolíticos y, aunque no es objeto de este trabajo, cabe destacar que en esta enfermedad ya se ha empleado la nanomedicina en las vacunas comercializadas de Pfizer y Moderna.

Hace aproximadamente algo más de un año, resultaba impensable pensar que a pesar de las diversas tecnologías disponibles para producir vacunas, éstas se desarrollaran para uso en todo el mundo en menos de 12 meses, teniendo en cuenta que el desarrollo de una vacuna contra el Ébola requirió cinco años y una vacuna contra la Paperas tomó cuatro años en un tiempo récord (Florindo et al., 2020).

La estrategia de desarrollo de nanovacunas requiere un fuerte enfoque en la presentación del antígeno seleccionado, junto con la selección del nanoportador/nanomaterial apropiado para inducir los efectos inmunomoduladores deseados (Chauhan et al., 2020). Los antígenos para la inmunización son proteínas de superficie como la proteína inmunogénica S, que muchos investigadores están utilizando y han utilizado como el objetivo principal de las vacunas. En definitiva, el éxito de la vacunación dependerá del tipo apropiado de polímero en combinación con el antígeno correspondiente (Weiss et al., 2020). Las nanovacunas, aportan una amplia inmunidad modulando las respuestas mediadas por las células hacia una producción aumentada y rápida de anticuerpos neutralizantes de alta afinidad con los antígenos y también, permiten una adecuada activación y expansión de las células T. La nanotecnología además, constituye una herramienta potencialmente útil para mejorar la estabilidad y mejorar la farmacocinética de los anticuerpos terapéuticos (Florindo et al., 2020).

A continuación, se desarrollarán las estructuras de dos vacunas actualmente comercializadas y en uso, que utilizan el ARNm como molécula clave para la inmunización. Tradicionalmente, el ARNm no se ha utilizado como agente terapéutico porque es muy inestable y activa el sistema inmunológico innato cuando se inyecta; además, para ingresar en las células diana, el ARNm requiere un sistema portador para cruzar la membrana celular. Por tanto, los investigadores han diseñado un sistema de administración que consta de nanopartículas lipídicas que encapsulan el ARNm (Ruiz-Hitzky et al., 2020), consiguiendo de esta forma una efectividad del 95% y 94'5% en las vacunas de Pfizer y Moderna respectivamente (Abdellatif et al., 2021).

Las vacunas basadas en ARNm se pueden diseñar y desarrollar utilizando antígenos que codifican ARNm, para traducirse en el cuerpo humano. Este enfoque fue lanzado por Moderna para desarrollar su vacuna contra el SARS-CoV-2 mediante el uso de ARNm que codifica la proteína S viral (Ellah et al., 2020; Scarabel et al., 2021), aprovechando que es el principal receptor de entrada viral y encapsulado en una nanopartícula lipídica (Abdellatif et al., 2021). En mayo de 2020, Moderna recibió de la FDA la autorización

para iniciar un ensayo clínico de Fase II de esta candidata a vacuna (Ellah et al., 2020). Después de la inoculación con la inyección intramuscular, se produce una respuesta antiviral específica a la proteína del SARS-CoV-2 (Yang, 2021). La vacuna de Pfizer por su parte, es una vacuna también de ARNm de codón optimizado que codifica el RBD del SARS-CoV-2 (Yang, 2021) y al igual que la de Moderna, encapsulado en una nanopartícula lipídica (Abdellatif et al., 2021). Esta vacuna utiliza el antígeno RBD al que se le ha añadido el dominio T4 de trimerización de la fibritina para aumentar la inmunogenicidad (Yang, 2021).

Hay estudios que también han demostrado que esta aplicación de la nanomedicina, podría causar daños graves en sitios del aparato respiratorio e incluso podría afectar a la función pulmonar. Los cuatro aspectos patobiológicos principales son el estrés oxidativo, la genotoxicidad, la inflamación y la fibrosis, los cuales deben considerarse en el contexto de las nanopartículas y sus enfoques asociados (Sivasankarapillai et al., 2020).

Sin embargo, se hace evidente a día de hoy como la nanomedicina y las nanopartículas están haciendo posible avanzar en la lucha contra el COVID-19, gracias al desarrollo de estas vacunas tan novedosas que además se han conseguido desarrollar en tiempo récord, consiguiendo de esta manera la disminución en la incidencia y la tasa de mortalidad tanto en España como en el mundo entero.

6. CONCLUSIONES

- La COVID-19 es una enfermedad producida por el virus SARS-CoV-2, de afectación principalmente respiratoria y transmitida por partículas o gotas respiratorias que contienen el virus.
- La tormenta inflamatoria es una de las principales causas del ARDS que está relacionado frecuentemente con fallo multiorgánico, principal causa de muerte en los pacientes críticos y con alteraciones en la coagulación.
- Las nanopartículas y los virus actúan en la misma escala, lo que hace que el enfoque de la nanotecnología tenga potencial en el desarrollo de fármacos y vacunas. La puesta a punto de anticoagulantes encapsulados, surge como posible solución a los efectos colaterales de los anticoagulantes administrados de su forma farmacéutica tradicional ya que pueden ser dirigidos específicamente al coágulo o trombo evitando así las hemorragias en el resto del organismo.
- La nueva generación de vacunas desarrolladas para el SARS-CoV-2 basadas en el ARN y la nanotecnología, suponen un avance importante frente a las limitaciones de las vacunas clásicas para hacer frente a una pandemia y demuestran la eficacia de la nanomedicina en el tratamiento de enfermedades.
- Las lecciones que nos está dejando la pandemia del COVID-19 resaltan la importancia de las acciones de preparación y prevención para combatir epidemias repentinas futuras a nivel mundial así como la importancia de la investigación para el tratamiento y prevención de enfermedades.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abdellatif AAH, Tawfeek HM, Abdelfattah A, Batiha GE, Hetta HF. Journal of Drug Delivery Science and Technology Recent updates in COVID-19 with emphasis on inhalation therapeutics: Nanostructured and targeting systems. J Drug Deliv Sci Technol. 2021; 63(January): 102435. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102435>
- Abu-Farha M, Al-Sabah S, Hammad MM, Hebbar P, Channanath AM, John SE, et al. Prognostic Genetic Markers for Thrombosis in COVID-19 Patients: A Focused Analysis on D-Dimer, Homocysteine and Thromboembolism. Front Pharmacol. 2020;11(December):1–10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.587451>
- Akhtar F, Wan X, Wu G, Kesse S, Wang S, He S. Low-Molecular-Weight Heparins: Reduced Size Therapeutic Outcomes. Molecules. 2018; 23, 1757. <https://doi.org/10.3390/molecules23071757>
- Al-Hatamleh MAI, Hatmal MM, Alshaer W, Rahman ENSEA, Mohd-Zahid MH, Alhaj-Qasem DM, et al. COVID-19 infection and nanomedicine applications for development of vaccines and therapeutics: An overview and future perspectives based on polymersomes. Eur J Pharmacol. 2021;896 (December 2020). <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173930>
- Ali MAM, Spinler SA. Trends in Cardiovascular Medicine COVID-19 and thrombosis: From bench to bedside. Trends Cardiovasc Med. 2021; 31: 143–160. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2020.12.004>
- Altay O, Mohammadi E, Lam S, Turkez H, Boren J, Nielsen J, et al. Current Status of COVID-19 Therapies and Drug Repositioning Applications. iScience. 2020;23(7):101303. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101303>
- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med. 2020; 26(4):450–2. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- Awortwe C, Cascorbi I. Meta-analysis on outcome-worsening comorbidities of COVID-19 and related potential drug-drug interactions. Pharmacol Res. 2020; 161:105250. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105250>

- Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk A, Cools-Lartigue J, Crawford JM, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med.* 2020;217(6):1–7.
<https://doi.org/10.1084/jem.20200652>
- Barrett CD, Moore HB, Moore EE, Mcintyre RC, Moore PK, Burke J, et al. Fibrinolytic therapy for refractory COVID-19 acute respiratory distress syndrome: Scientific rationale and review. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020; 4: 524–531. <https://doi.org/10.1002/rth2.12357>
- Bhavana V, Thakor P, Singh SB, Mehra NK. COVID-19: Pathophysiology, treatment options, nanotechnology approaches, and research agenda to combating the SARS-CoV2 pandemic. *Life Sci.* 2020;261(July):118336. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118336>
- Bikdeli B, Madhavan MV, Gupta A, Jimenez D, Burton JR, Der Nigoghossian C, et al. Pharmacological Agents Targeting Thromboinflammation in COVID-19: Review and Implications for Future Research. *Thromb Haemost.* 2020;120(7):1004–24. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1713152>
- Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, Hatanaka E. COVID-19 and Neutrophils: The relationship between hyperinflammation and neutrophil extracellular traps. *Mediators Inflamm.* 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8829674>
- Brodin P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. *Nat Med.* 2021; 27 (January). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8>
- Chauhan G, Madou MJ, Kalra S, Chopra V, Ghosh D, Martinez-Chapa SO. Nanotechnology for COVID-19: Therapeutics and Vaccine Research. *ACS Nano.* 2020;14(7):7760–82. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c04006>
- Chen H, Ma Y, Hsu T, Chen J. Preparation of Peptide and Recombinant Tissue Plasminogen Activator Conjugated Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) (PLGA) Magnetic Nanoparticles for Dual Targeted Thrombolytic Therapy. *Int J Mol Sci.* 2020; 21, 2690. <https://doi.org/10.3390/ijms21082690>
- Chen PL, Lee NY, Cia CT, Ko WC, Hsueh PR. A Review of Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Therapeutic Repurposing and Unmet Clinical Needs. *Front Pharmacol.* 2020;11(November):1–12.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.584956>

- Choi HM, Moon SY, Yang HI, Kim KS. Understanding Viral Infection Mechanisms and Patient Symptoms for the Development of COVID-19 Therapeutics. *Int J Mol Sci.* 2021; 22, 1737.
<https://doi.org/10.3390/ijms22041737>
- Chugh H, Awasthi A, Agarwal Y, Gaur RK, Dhawan G, Chandra R. A comprehensive review on potential therapeutics interventions for COVID-19. *Eur J Pharmacol.* 2021;890 (July 2020):173741. Available from:
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173741>
- Connors JM, & Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 2020; 135 (23): 2033-2040.
<https://doi.org/10.1182/blood.2020006000>
- Curran CS, Rivera DR, Kopp JB. COVID-19 Usurps Host Regulatory Networks. *Front Pharmacol.* 2020;11(March):1–23.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01278>
- De P, Chakraborty I, Karna B, Mazumder N. Brief review on repurposed drugs and vaccines for possible treatment of COVID-19. *Eur J Pharmacol.* 2021; 898 (December 2020):173977. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173977>
- Earhart AP, Holliday ZM, Hofmann H V., Schrum AG. Consideration of dornase alfa for the treatment of severe COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *New Microbes New Infect.* 2020;35: 100689. Available from:
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100689>
- Ellah NHA. Nanomedicine as a promising approach for diagnosis, treatment and prophylaxis against COVID-19. *Nanomedicine.* 2020; 15:2085–2102.
<https://doi.org/10.2217/nnm-2020-0247>
- Emami F, Mostafavi Yazdi SJ, Na DH. Poly (lactic acid)/poly (lactic-co-glycolic acid) particulate carriers for pulmonary drug delivery. *J Pharm Investig.* 2019;49(4):427–42. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40005-019-00443-1>
- Florindo HF, Kleiner R, Vaskovich-Koubi D, Acúrcio RC, Carreira B, Yeini E, et al. Immune-mediated approaches against COVID-19. *Nat Nanotechnol.* 2020;15(8):630–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41565-020-0732-3>

- Fröhlich E, Salar-Behzadi S. Oral inhalation for delivery of proteins and peptides to the lungs. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021;163(November 2020):198–211. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.04.003>
- Ghebrehiwet B, Peerschke EI. Complement and coagulation: key triggers of COVID-19–induced multiorgan pathology. *J Clin Invest.* 2020;130(11):5674–6. <https://doi.org/10.1172/JCI142780>
- Gozzo L, Viale P, Longo L, Vitale DC, Drago F. The Potential Role of Heparin in Patients With COVID-19: Beyond the Anticoagulant Effect. A Review. *Front Pharmacol.* 2020;11(August):1–8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01307>
- Grobler C, Maphumulo SC, Grobbelaar LM, Bredenkamp JC, Laubscher GJ, Lourens PJ, et al. Covid-19: The Rollercoaster of Fibrin (Ogen), D-Dimer, von Willebrand Factor, P-Selectin and Their Interactions with Endothelial Cells, Platelets and Erythrocytes. *Int J Mol Sci.* 2020. 21, 5168. <https://doi.org/10.3390/ijms21145168>
- Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(7):1017–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>
- Haybar H, Maniati M, Saki N, Zayeri ZD. COVID-19: imbalance of multiple systems during infection and importance of therapeutic choice and dosing of cardiac and anti-coagulant therapies. *Mol Biol Rep.* 2021;48(3):2917–28. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06333-w>
- Heinrich MA, Martina B, Prakash J. Nanomedicine strategies to target coronavirus. *Nano Today.* 2020; 35:100961. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2020.100961>
- Huang L, Wang J, Huang S, Siaw-Debrah F, Nyanzu M, Zhuge Q. Polyacrylic acid-coated nanoparticles loaded with recombinant tissue plasminogen activator for the treatment of mice with ischemic stroke. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;516(2):565–70. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31235258/>
- Hushmandi K, Bokaie S, Hashemi M, Moghadam ER, Raei M, Hashemi F, et al. A review of medications used to control and improve the signs and symptoms of COVID-19 patients. *Eur J Pharmacol.* 2020;887(September):173568. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173568>

- Jones GW, Monopoli MP, Campagnolo L, Pietroiusti A, Tran L, Fadeel B. No small matter: A perspective on nanotechnology-enabled solutions to fight COVID-19. *Nanomedicine*. 2020;15(24):2411–27. <https://doi.org/10.2217/nmm-2020-0286>
- Kasinathan G, Sathar J. Haematological manifestations, mechanisms of thrombosis and anti- coagulation in COVID-19 disease: A review. *Ann Med Surg*. 2020;56(June):173–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.06.035>
- Kipshidze N, Dangas G, White CJ, Kipshidze N, Siddiqui F, Lattimer CR, et al. Viral Coagulopathy in Patients With COVID-19: Treatment and Care. *Clin Appl Thromb*. 2020;26. <https://doi.org/10.1177/1076029620936776>
- Liang Y, Kiick KL. Heparin-functionalized polymeric biomaterials in tissue engineering and drug delivery applications. *Acta Biomater*. 2014;10(4):1588–600. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.07.031>
- Liu F, Long X, Zhang B, Zhang W, Chen X, Zhang Z. ACE2 Expression in Pancreas May Cause Pancreatic Damage After SARS-CoV-2 Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(9):2128-2130.e2. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.04.040>
- Maiuolo J, Mollace R, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Paone S, et al. The Contribution of Endothelial Dysfunction in Systemic Injury Subsequent to SARS-Cov-2 Infection. *Int J Mol Sci*. 2020. 21, 9309. <https://doi.org/10.3390/ijms21239309>
- Matheson BNJ, Lehner PJ. How does SARS-CoV-2 cause COVID-19? *Science*. 2020;369(6503):510–512. <https://doi.org/10.1126/science.abc6156>
- Mazilu L, Katsiki N, Konstantinos T, Aslanidis MI, Lazopoulos G, Kouretas D, et al. Thrombosis and Haemostasis challenges in COVID-19 – Therapeutic perspectives of heparin and tissue-type plasminogen activator and potential toxicological reactions-a mini review. *Food Chem Toxicol*. 2021;148(October 2020). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.111974>
- McFadyen JD, Stevens H, Peter K. The Emerging Threat of (Micro)Thrombosis in COVID-19 and Its Therapeutic Implications. *Circ Res*. 2020;127(4):571–587. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317447>

- Miesbach W, Makris M. COVID-19: Coagulopathy, Risk of Thrombosis, and the Rationale for Anticoagulation. *Clin Appl Thromb*. 2020;26.
<https://doi.org/10.1177/1076029620938149>
- Mihalko EP, Sandry M, Mininni N, Nellenbach K, Deal H, Daniele M, et al. Fibrin-modulating nanogels for treatment of disseminated intravascular coagulation. *Blood Adv*. 2021;5(3):613–27.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33560377/>
- Moore HB, Barrett CD, Moore EE, Mcintyre RC, Moore PK, Talmor DS, et al. Is there a role for tissue plasminogen activator as a novel treatment for refractory COVID-19 associated acute respiratory distress syndrome? *J Trauma Acute Care Surg*. 2020; 88(6):22–3. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002694>
- Naveja JJ, Madariaga-Mazón A, Flores-Murrieta F, Granados-Montiel J, Maradiaga-Ceceña M, Alaniz VD, et al. Union is strength: antiviral and anti-inflammatory drugs for COVID-19. *Drug Discov Today*. 2021;26(1):229–39. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.10.018>
- Neves AR, Correia-da-silva M, Sousa E, Pinto M. Strategies to Overcome Heparins' Low Oral Bioavailability. *Pharmaceuticals*. 2016; 9, 37.
<https://doi.org/10.3390/ph9030037>
- Okur HK, Yalcin K, Tastan C, Demir S, Yurtsever B, Karakus GS, et al. Preliminary report of *in vitro* and *in vivo* effectiveness of dornase alfa on SARS-CoV-2 infection. *New Microbes New Infect*. 2020; 37:100756. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100756>
- Paranjpe M, Müller-Goymann CC. Nanoparticle-mediated pulmonary drug delivery: A review. *Int J Mol Sci*. 2014;15(4):5852–73.
<https://doi.org/10.3390/ijms15045852>
- Prasanna P, Rathee S, Upadhyay A, Sulakshana S. Nanotherapeutics in the treatment of acute respiratory distress syndrome. *Life Sci*. 2021; 276(March):119428. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119428>
- Ruiz-Hitzky E, Darder M, Wicklein B, Ruiz-Garcia C, Martín-Sampedro R, del Real G, et al. Nanotechnology Responses to COVID-19. *Adv Healthc Mater*. 2020;9(19):1–26. <https://doi.org/10.1002/adhm.202000979>

- Saei AA, Mahmoudi M. COVID-19: Nanomedicine Uncovers Blood-Clot Mystery. *J Proteome Res.* 2020; 19: 4364-4373.
<https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00425>
- Scarabel L, Guardascione M, Bo MD, Toffoli G. International Journal of Infectious Diseases Pharmacological strategies to prevent SARS-CoV-2 infection and treat the early phases of COVID-19. *Int J Infect Dis.* 2021; 104:441–51. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.01.035>
- Sivaraman B, Sylvester A, Ramamurthi A. Fibrinolytic PLGA nanoparticles for slow clot lysis within abdominal aortic aneurysms attenuate proteolytic loss of vascular elastic matrix. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2016; 59: 145-156.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.056>
- Sivasankarapillai VS, Pillai AM, Rahdar A, Sobha AP. On Facing the SARS-CoV-2 (COVID-19) with Combination of Nanomaterials and Medicine: Possible Strategies and First Challenges. *Nanomaterials.* 2020; 2:1–23.
<https://doi.org/10.3390/nano10050852>
- Stasi C, Fallani S, Voller F, Silvestri C. Treatment for COVID-19: An overview. *Eur J Pharmacol.* 2020; 889: 173644.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173644>
- Toma A, Darwish C, Taylor M, Harlacher J, Darwish R. The Use of dornase Alfa in the Management of COVID-19-Associated Adult Respiratory Distress Syndrome. *Crit Care Res Pract.* 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8881115>
- Tsai SC, Lu CC, Bau DT, Chiu YJ, Yen YT, Hsu YM, et al. Approaches towards fighting the COVID-19 pandemic (Review). *Int J Mol Med.* 2021;47(1):3–22. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4794>
- Vinayagam S, Sattu K. SARS-CoV-2 and coagulation disorders in different organs. *Life Sci.* 2020;260(August):118431. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118431>
- Vitiello A, Ferrara F. Pharmacological agents to therapeutic treatment of cardiac injury caused by Covid-19. *Life Sci.* 2020;262(September):118510. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118510>

- Wang S, Guo X, Xiu W, Liu Y, Ren L, Xiao H, et al. Accelerating thrombolysis using a precision and clot-penetrating drug delivery strategy by nanoparticle-shelled microbubbles. *Sci Adv.* 2020;6(31).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32832678/>
- Weber AG, Chau AS, Egeblad M, Barnes BJ, Janowitz T. Nebulized in-line endotracheal dornase alfa and albuterol administered to mechanically ventilated COVID-19 patients: a case series. *Mol Med.* 2020.
<https://doi.org/10.1186/s10020-020-00215-w>
- Weiss C, Carriere M, Fusco L, Fusco L, Capua I, Regla-Nava JA, et al. Toward Nanotechnology-Enabled Approaches against the COVID-19 Pandemic. *ACS Nano.* 2020;14(6):6383–406. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c03697>
- Whyte CS, Morrow GB, Mitchell JL, Chowdary P, Mutch NJ. Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(7):1548–55. <https://doi.org/10.1111/jth.14872>
- Wu L, O’Kane AM, Peng H, Bi Y, Motriuk-Smith D, Ren J. SARS-CoV-2 and cardiovascular complications: From molecular mechanisms to pharmaceutical management. *Biochem Pharmacol.* 2020;178(June):114114. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114114>
- Yang D. Application of nanotechnology in the COVID-19 pandemic. *Int J Nanomedicine.* 2021; 16:623–49. <https://doi.org/10.2147/IJN.S296383>
- Zenych A, Fournier L. Biomaterials Nanomedicine progress in thrombolytic therapy. *Biomaterials.* 2020; 258.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120297>
- Zhang Y, Davis DA, AboulFotouh K, Wang J, Williams D, Bhambhani A, et al. Novel formulations and drug delivery systems to administer biological solids. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021; 172:183–210. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.02.011>
- Zhou J, Krishnan N, Jiang Y, Fang RH, Zhang L. Nano Today Nanotechnology for virus treatment. *Nano Today.* 2021; 36:101031. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2020.101031>

- Zuo Y, Kanthi Y, Knight JS, Kim AHJ. The interplay between neutrophils, complement, and microthrombi in COVID-19. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2021;35(1):101661. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.berh.2021.101661>
- Zuo Z, Wu T, Pan L, Zuo C, Hu Y, Luo X, et al. Modalities and Mechanisms of Treatment for Coronavirus Disease 2019. *Front Pharmacol.* 2021; 11:1–19. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.583914>