

Inflamasoma, piroptosis y su posible relación con la fisiopatología de la COVID-19.

Adriana Pedreáñez¹, Jesús Mosquera² y Nelson Muñoz³

¹Cátedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

²Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

³Universidad Nacional del Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Riobamba. Ecuador.

Palabras clave: inflamasoma; piroptosis; inmunidad innata; fisiopatología; COVID-19.

Resumen. SARS-CoV-2 es el agente causal de la pandemia actual de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). Al igual que otros coronavirus respiratorios, el SARS-CoV-2 se transmite principalmente a través de gotitas respiratorias liberadas de una persona infectada. La fisiopatología de la infección por SARS-CoV-2 es semejante a la de la infección por SARS-CoV, con respuestas inflamatorias agresivas lo que genera fuertes daños a las vías respiratorias. En esta revisión abordamos la importancia de la respuesta inmunitaria innata en la fisiopatología de la COVID-19, con especial énfasis en la activación del inflamasoma y la consecuente muerte celular por piroptosis, dos elementos esenciales que podrían explicar la exacerbada respuesta inflamatoria que se observa en algunos pacientes.

Inflammation, pyroptosis and its possible relation to the physiopathology of COVID-19.

Invest Clin 2020; 61 (3): 283-293

Key words: inflammasome; pyroptosis; innate immunity; physiopathology; COVID-19.

Abstract. SARS-CoV-2 is the causal agent of the current 2019 coronavirus disease pandemic (COVID-19). Like other respiratory coronaviruses, SARS-CoV-2 is transmitted primarily through respiratory droplets released from an infected person. The pathophysiology of SARS-CoV-2 infection is similar to that of SARS-CoV infection, with aggressive inflammatory responses resulting in severe damage to the respiratory tract. In this review we address the importance of the innate immune response in the physiopathology of COVID-19 with special emphasis on the activation of the inflammasome and the consequent cell death by pyroptosis, two essential elements that could explain the exacerbated inflammatory response observed in some patients.

Recibido: 03-08-2020

Aceptado: 24-08-2020

INTRODUCCIÓN

Los coronavirus se están estudiando desde hace años, y se sabe que causan enfermedades en humanos y animales. Previamente se habían descrito cuatro coronavirus humanos (229E, NL63, OC43 y HKU1), que pueden infectar células del tracto respiratorio superior y producir síntomas relativamente leves (1). Sin embargo, durante los últimos 20 años, el ser humano se ha enfrentado a la aparición y la epidemia de tres coronavirus capaces de infectar el tracto respiratorio inferior y causar neumonía que podría ser fatal: El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) en 2003, el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) en 2012 y el nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV, posteriormente llamado SARS-CoV-2) (2). Los casos con neumonía causada por el SARS-CoV-2 en Wuhan, China, fueron informados a finales de diciembre de 2019 (3).

El análisis filogenético muestra que el SARS-CoV-2 es un nuevo miembro de la familia *Coronaviridae* pero distinto del SARS-CoV (identidad de aproximadamente el 79%) y del MERS-CoV (identidad de aproximadamente el 50%) (4).

El SARS-CoV-2 es el agente causal de la enfermedad por coronavirus 2019 denominada COVID-19. Las características clínicas de esta, son variadas, y pueden manifestarse desde una infección asintomática hasta una neumonía leve a severa (5). Los síntomas habituales de COVID-19 incluyen fiebre (83-98%), tos seca (59-82%), dificultad para respirar (19-55%) y dolor muscular (11-44%) (6). Algunos pacientes pueden presentar dolor de garganta, rinorrea, dolor de cabeza y en menor medida, diarrea, náuseas, vómitos y pérdida del olfato y del gusto (7). Generalmente, muchos de los pacientes presentan síntomas respiratorios leves (8). Sin embargo, los adultos mayores y pacientes con comorbilidades subyacentes, tales como,

hipertensión, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes y/o enfermedad cardiovascular, pueden desarrollar cuadros de mayor gravedad como síndrome de dificultad respiratoria aguda y shock séptico, lo que podría conducir a la muerte (9).

Estructuralmente, los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envoltura de bicapa lipídica, que contienen ARN monocatenario de polaridad positiva, que presentan en el extremo 5' una envoltura metilada y una cola de poliadenina (poli-A) en el extremo 3' que le aporta estabilidad y un gran parecido al ARN mensajero del hospedador, lo que le permite adherirse directamente a los ribosomas para su traducción y producción de proteínas (10,11).

El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales principales: la proteína S (espícula), la proteína E (envoltura), la proteína M (membrana) y la proteína N (nucleocapside).

La proteína S de la espícula, es la responsable de la unión del virus a las células del huésped, y por lo tanto, es la proteína determinante del tropismo del virus. El SARS-CoV-2 utiliza como receptor la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE-2) para invadir e infectar células. Algunos investigadores, han sugerido que además es necesaria una proteasa de la célula huésped para permitir la fusión del virus, la proteasa de serina TMPRSS2, una proteína transmembrana responsable de escindir a la proteína S en dos subunidades distintas S1 y S2; S1 determina la unión al receptor ACE-2 mientras que S2 está relacionada con la fusión de las membranas del virus y la célula huésped. Este es considerado un paso esencial para la introducción y la replicación eficaz del virus en el interior de la célula (12).

ACE-2 se encuentra extensamente distribuida en la superficie de las células tipo II del epitelio alveolar (neumocitos tipo II), así como en células cardíacas, renales, intestinales, endoteliales y macrófagos alveolares, lo cual es consistente con el cuadro clínico de la infección (13-15).

El SARS-CoV-2 se transmite principalmente por contacto directo, a través de pequeñas gotas de saliva que son expulsadas del tracto respiratorio de una persona infectada, cuando tose o estornuda (16). Aunque las infecciones por SARS-CoV-2 pueden ser asintomáticas o causar síntomas leves en la mayoría de los casos, algunos pacientes pueden progresar a neumonía intersticial y síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) en casi 10-20% de los casos, especialmente en aquellos que tienen mayor edad y comorbilidades. Este subgrupo de pacientes es notable por tener niveles séricos muy altos de citocinas proinflamatorias, lactato deshidrogenasa, y dímero D, así como, linfopenia, disfunción hepática, tendencia trombótica y coagulación intravascular diseminada. Debido a la clara relación entre la infección por el SARS-CoV-2 y el sistema inmunitario, nuestro objetivo fue revisar la fisiopatología de este virus, con especial referencia a su relación con la tormenta de citocinas y el desarrollo de un cuadro inflamatorio exacerbado, enfocándonos fundamentalmente en la activación del inflamasoma NLRp3 y la muerte celular por piroptosis.

Algunos aspectos inmunopatológicos de la infección por SARS-CoV-2

La infección por SARS-CoV-2 y la destrucción de las células pulmonares, desencadenan una respuesta inmunitaria local, con reclutamiento de monocitos/macrófagos que responden a la infección, liberan citocinas y preparan respuestas inmunitarias adaptativas de células T y B. En la mayoría de los casos, este proceso es capaz de resolver la infección; sin embargo, en otros, se produce una respuesta inmunitaria disfuncional, que desencadena una "tormenta de citocinas" la cual induce una inflamación pulmonar generalizada que causa una grave patología pulmonar e incluso sistémica, de tal manera que el cuadro severo que se observa en algunos pacientes, no solo es debido al efecto citopático del virus, sino también a la respuesta exagerada del sistema inmunitario del hospedador (17).

Una de las grandes interrogantes para la comunidad científica, es la gran variabilidad de respuesta a la infección por SARS-CoV-2. Mientras que algunos pacientes son asintomáticos o presentan una sintomatología leve, otros desarrollan una neumonía severa y en algunos casos, falla multiorgánica, coagulación intravascular diseminada, síndrome de activación macrófagica y muerte. En este respecto, se ha reportado disminución del conteo de células T tanto CD4+ como CD8+ y células NK en pacientes con un curso severo de la enfermedad. Esta linfopenia usualmente precede al desarrollo de complicaciones pulmonares (18).

Estudios inmunohistoquímicos realizados en biopsias de ganglios y bazo de pacientes fallecidos a causa de COVID-19, han demostrado una disminución en el número de células T CD4 y CD8, pero un incremento significativo en el número de monocitos y macrófagos infiltrantes. Lo anterior podría en parte explicar la elevada producción de citocinas proinflamatorias como IL-6, IL-1, IL-8 y el factor de necrosis tumoral (TNF), entre otras, que contribuyen a la denominada “tormenta de citocinas” (19). Otro hecho interesante es que los estudios inmunopatológicos en biopsias de pulmón, revelan que la mayoría de las células inflamatorias infiltrantes son monocitos, macrófagos y una cantidad moderada de células gigantes multinucleadas asociadas con daño alveolar difuso (20,21). Todas estas observaciones ponen de manifiesto una respuesta inflamatoria exacerbada, y cada vez es más claro que el sistema inmunitario innato es un factor determinante en la respuesta de los pacientes a la infección por el virus.

La inmunidad innata es la primera línea de defensa del organismo, y está caracterizada por su habilidad para reconocer y responder ante un amplio rango de patógenos. Las células de la inmunidad innata, como los macrófagos, monocitos, células dendríticas, neutrófilos y células epiteliales expresan receptores de reconocimiento de patrones

(PRRs, del inglés pattern recognition receptors) (22). A través de los PRRs, estas células reconocen secuencias microbianas altamente conservadas llamadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, del inglés pathogen-associated molecular patterns) (23).

Las células del sistema inmunitario, no sólo son capaces de reaccionar ante agentes extraños potencialmente patogénicos (PAMPs), sino también ante la presencia de patrones moleculares asociados a daño (DAMPs, del inglés danger-associated molecular patterns), tales como cristales de ácido úrico, ATP (trifosfato de adenosina), HMGB1 (del inglés, high mobility group box 1) o proteínas de choque térmico como hsp70 y hsp90, que son liberados por células dañadas o sometidas a estrés celular (24). De esta manera, la inflamación es un mecanismo de respuesta del sistema inmunitario, cuyo objetivo es controlar las infecciones, evitando que los microorganismos se propaguen descontroladamente, favoreciendo su eliminación y la posterior reparación de los tejidos. Sin embargo, alteraciones en los procesos implicados en la inducción de la inflamación, se han asociado con fenómenos inmunopatológicos que alteran el desarrollo normal de muchas funciones vitales. Por tal motivo, la inflamación es un proceso de reparación biológica fuertemente controlado por complejos intracelulares, conocidos como inflamasomas, que actúan como sensores y mediadores de la inflamación.

Inflamasoma y piroptosis en la fisiopatología del SARS-CoV-2

El término inflamasoma fue acuñado por Tschopp y colaboradores en el año 2002, para describir un complejo multiproteico, de alto peso molecular, presente en el citosol de células inmunitarias estimuladas, dicho complejo es capaz de mediar la activación de caspasas inflamatorias, llamadas así porque sus sustratos principales son citocinas (como pro-IL-1 β , pro-IL-18 y eventualmente pro-IL-33) (25). Se han descrito varios inflamasomas y hasta ahora estaban defini-

dos por la proteína NLR que contienen: el inflamasoma NLRp1 (NALP1), el inflamasoma NLRp3 (NALP3) y el inflamasoma IPAF (NLRC4). Curiosamente, el inflamasoma AIM2, descrito recientemente, no contiene ningún miembro de la familia NLR (26).

Los inflamasomas están relacionados con el reconocimiento de patrones conservados de secuencias proteicas a través de los receptores tipo PRR. Estos receptores se subdividen en 4 familias: los receptores tipo Toll (TLRs), los receptores tipo RIG-I (derivado del inglés retinoic acid-inducible gene 1), los receptores de carbohidratos tipo lecitina (CLRs) y los receptores tipo NOD (derivado del inglés nucleotide-binding oligomerization domain) proteínas con dominio de oligomerización y unión a nucleótidos, a los cuales también suele llamárseles (NLR) *NOD-like receptor*. Estos últimos conforman un grupo especializado de proteínas intracelulares capaces de oligomerizarse a través del dominio de oligomerización central conocido como NACHT. Están presentes en el citoplasma y se consideran esenciales para detectar patógenos e iniciar la respuesta inmunitaria innata (27,28).

SARS-CoV-2 es un virus de ARN de sentido positivo. Como tal, sus patrones moleculares asociados con el patógeno serán reconocidos por los receptores de reconocimiento de patrones que detectan ARN, incluidos TLR3, TLR7 y TLR8 en el endosoma, así como los receptores similares al gen I (RIG-I) inducible por ácido retinoico en el citosol (29).

El reconocimiento, a través de la activación de receptores Toll, trae como consecuencia la activación del factor de transcripción NF- κ B, el cual estimula la producción de citocinas proinflamatorias. Adicionalmente, mediante un mecanismo complejo de señalización y transducción, la activación de los receptores RIG-I activa una familia de factores de transcripción que se denominan IRF (interferon regulatory factor), los cuales pueden translocarse al núcleo. Una vez en el núcleo, estos IRF interactúan con genes que contienen en sus promotores secuencias

nucleotídicas denominadas ISRE (IFN-stimulated response elements) y que conducen a la expresión de los interferones de tipo I (INF- α e INF- β) y otros genes antivirales importantes (29).

Los pacientes que desarrollan un cuadro severo de COVID-19, poseen altos niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) en su sangre. Una enzima citosólica que se libera al exterior al romperse la membrana plasmática (29). La elevación de la LDH está relacionada con un estado inmunosupresivo, probablemente por acción del virus en el inflamasoma y la inducción de la muerte celular mediante la Piroptosis. Esta es una forma de muerte programada con activación de las capas inflamatorias (Caspasa 1). La LDH sale de la célula por alteración de la membrana de la célula piroptótica en el periodo tardío de la muerte (31).

Este acontecimiento ha traído como consecuencia que muchos investigadores sugieran la activación del inflamasoma y la consecuente piroptosis, en la fisiopatología de la COVID-19. Hasta la fecha se sabe que los diferentes inflamasomas, están constituidos por una estructura básica que consiste en un receptor o molécula sensora; una molécula adaptadora y una molécula efectora (32).

El reconocimiento del ligando inflamatorio (PAMPs o DAMPs) por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), induce la activación de la porción sensora con su consecuente oligomerización y posterior reclutamiento de una proteína adaptadora conocida como ASC, que consiste en dos dominios plegables: un dominio de pirina (PYD) y un dominio de reclutamiento de caspasa (CARD). Estos dominios permiten que el ASC establezca un puente entre el sensor de inflamasoma y la pro-caspasa 1 (33). El autoprocesamiento inducido por la proximidad, da como resultado la formación de la proteasa catalíticamente activa caspasa 1, que inicia respuestas posteriores, incluida la activación de la interleucina-1 β (IL-1 β) e IL-18, al pasar de su forma de pro-interleucina a interleucina activa (34,35) (Fig. 1).

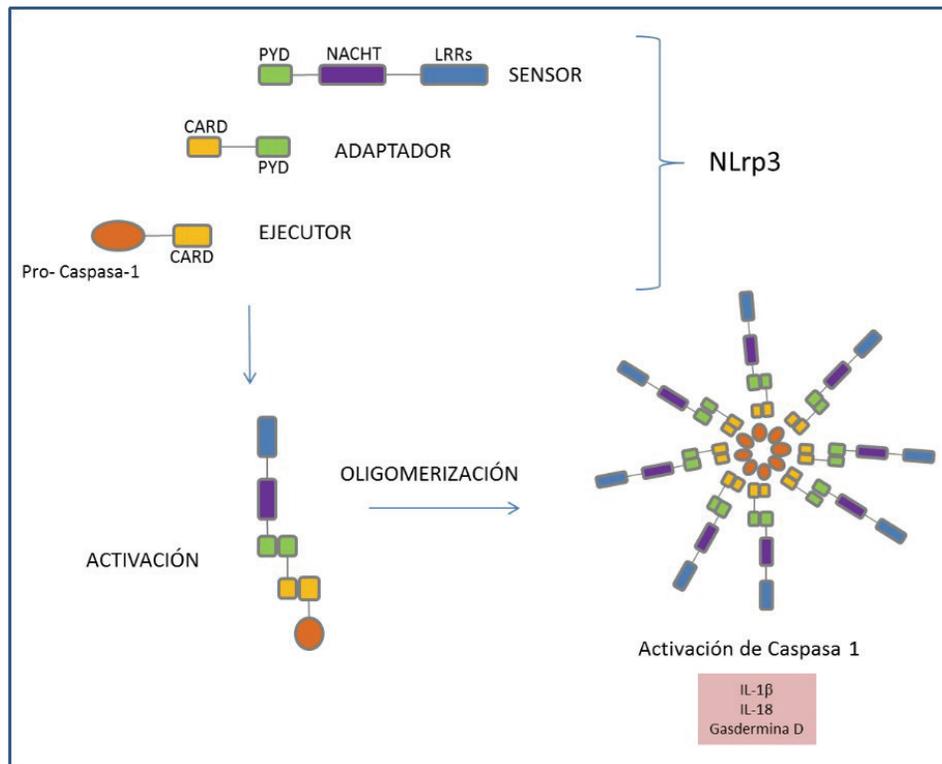


Fig. 1. El inflamasoma NLRp3 es uno de los más ampliamente estudiados. Está compuesto básicamente por tres estructuras básicas: una secuencia sensora o de reconocimiento, una secuencia adaptadora y una secuencia ejecutora que contiene en un extremo a la Pro-caspasa -1. En presencia de señales específicas como por ejemplo los DAMPs, estas secuencias pueden oligomerizarse para ensamblar un complejo supramolecular que dará origen a la activación de la caspasa 1, la cual posteriormente puede activar a la IL-1 β , IL-18 y a la proteína Gasdermina D.

Los inflamasomas han sido reconocidos por su papel crucial en la defensa del huésped contra los patógenos (36). Sin embargo, la activación descontrolada del inflamasoma, está vinculada al desarrollo de cáncer, enfermedades autoinmunitarias, metabólicas y neurodegenerativas. Por lo tanto, el estricto control del ensamblaje y señalización del inflamasoma es crucial para permitir que el sistema inmunitario inicie respuestas antimicrobianas e inflamatorias adecuadas (37,38).

Se ha demostrado que hay un aumento excesivo de citocinas proinflamatorias en el suero (p. ej., IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-33, IL-12, IFN γ , IL-8, TNF- α y MCP1), de pacientes con COVID-19 grave, lo que podría representar

un “síndrome de tormenta de citocinas”. Es importante destacar que, al considerar la patogenicidad que conduce al inicio de una “tormenta” de citocinas en el desarrollo de la patofisiología del SARS-CoV-2, se debe tener en cuenta la participación de un poderoso sistema proinflamatorio, el inflamasoma NLRp3, que se expresa en muchas células, incluyendo células de la inmunidad innata, células endoteliales, hematopoyéticas, epiteliales pulmonares, renales y cardíacas (39,40).

El inflamasoma NLRp3 es uno de los mejor caracterizados y más ampliamente estudiados hasta el momento. Su activación ha sido implicada en múltiples enfermedades tales como hipertensión, enfermedad

pulmonar obstructiva crónica, diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular (41-43), así como también en enfermedades virales (44,45). Actualmente no está claro si el SARS-CoV-2 activa el inflamasoma NLRp3. Sin embargo, su predecesor, el coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV), posee al menos tres proteínas que activan el inflamasoma NLRp3. La proteína E (de la envoltura) y las proteínas ORF3a y ORF8b, por lo cual, no es descabellado pensar que en la fisiopatología por SARS-CoV-2, este inflamasoma juegue un papel importante. La proteína E induce la liberación de calcio desde el aparato de Golgi al citosol. Mientras que las proteínas ORF3a y ORF8b inducen la salida de potasio al espacio extracelular. Esta alteración en el equilibrio iónico de la célula, promueve el daño mitocondrial, la generación de especies reactivas de oxígeno y la activación del inflamasoma NLRp3, el cual es muy sensible a estos cambios (46,47).

La activación del inflamasoma puede desencadenar una piroptosis celular, este tipo de muerte celular se caracteriza por la ruptura de la membrana mediada por gasdermina D y la liberación espontánea de contenido citosólico en los espacios extracelulares. En este contexto, tras la activación del inflamasoma, la caspasa-1 y otras caspasas del inflamasoma como la caspasa-4, la caspasa-5 y la caspasa-11 activan la gasdermina-D, una proteína con habilidad para formar grandes poros en la membrana celular (48). Estos poros de gasdermina-D facilitan la secreción de IL-1 β e IL-18 y, lo que es más importante, también permiten la entrada simultánea de moléculas de Na⁺ y agua, lo que trae como consecuencia una edematización celular excesiva hasta el punto de ruptura de la membrana plasmática (49). La piroptosis de los macrófagos que tienen virus fagocitados, libera rápidamente una gran cantidad de alarmas, que incluyen partículas virales, citocinas, quimiocinas, LDH, ATP y ROS, lo que provoca una reacción inmediata de las células inmunitarias circundantes y, por lo

tanto, induce una reacción en cadena piroptótica. Además, la piroptosis permitiría que los antígenos virales y el ARN se diseminen en la circulación y posiblemente generen complejos inmunitarios y depósitos en órganos diana, como los riñones, para iniciar una cascada inflamatoria severa. De tal manera que, la ruptura piroptótica de la membrana celular promueve la liberación de varias moléculas de patrones moleculares asociados al daño, biológicamente activas (DAMPs). Esto inicia una secuencia de eventos que conducen a la amplificación de la respuesta innata del sistema inmunitario y a la activación de su brazo humoral principal, la cascada del complemento (39).

Recientemente se informó que además de los DAMPs, las proteínas del SARS-CoV-2 pueden activar directamente el complemento por interacción con la lectina de unión a la manosa (MBL) (50). Es importante destacar que la activación del complemento a través del complejo de proteasa MBL-MASP-2 conduce, en paralelo, a la activación de la cascada de coagulación y en pacientes infectados con SARS-CoV-2, la activación de la coagulación se correlaciona con un peor pronóstico al conducir a la aparición de eventos trombóticos y, en fases avanzadas, a la coagulación intravascular diseminada. De hecho, la elevación en la concentración sanguínea de dímero D es un indicador de evolución grave en estos pacientes (51).

Adicionalmente y para hacer la respuesta inflamatoria contra SARS-CoV-2 aún más compleja, la identificación de ACE-2 como el receptor de SARS-CoV-2 coloca al Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA), como un elemento clave en la patogénesis de la COVID-19, debido a que esta proteasa está involucrada en el metabolismo de la angiotensina II, la cual se sabe tiene un papel preponderante en la respuesta inflamatoria. De hecho, la evidencia científica indica que el inflamasoma NLRp3 se activa en los pulmones, las células renales y los cardiomiocitos, en respuesta a la estimulación con angiotensina II vía unión a receptores AT1 (52) (Fig. 2).

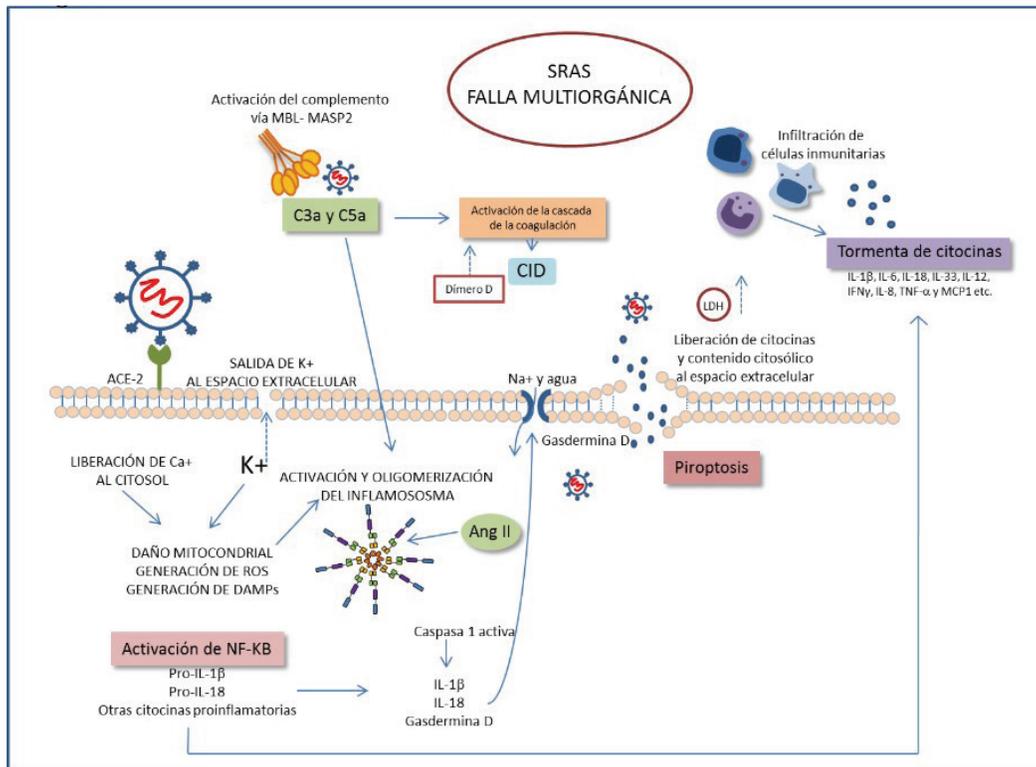


Fig. 2. Activación del inflamasoma y piroptosis en la fisiopatología de la COVID-19. Cuando el SARS-Cov-2 infecta las células que expresan la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). Las proteínas propias del virus promueven alteración en el equilibrio electrolítico celular, daño mitocondrial y la liberación de Ca^{+} desde el aparato de Golgi hacia el citoplasma y la salida de K^{+} al exterior de la célula, activando al inflamasoma NLRp3, lo que genera que la célula sufra piroptosis con la consecuente liberación de citocinas, ATP, ROS, y DAMPs, incluidos antígenos virales. Estos son reconocidos por las células epiteliales vecinas, las células endoteliales y los macrófagos alveolares, lo que desencadena la generación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias. Estas proteínas atraen monocitos, macrófagos y células T al sitio de la infección, promoviendo una mayor inflamación y estableciendo un circuito de retroalimentación proinflamatoria. La tormenta de citocinas resultante provoca daños en múltiples órganos. Además, las partículas virales pueden inducir la activación del complemento por la vía de las lectinas con la consecuente producción de anafilatoxinas y la activación de la cascada de la coagulación lo que amplifica aún más la respuesta inflamatoria. Por otra parte, la Ang II, una molécula clave en la respuesta inflamatoria puede adicionalmente activar el inflamasoma favoreciendo el desarrollo de complicaciones pulmonares y cardiovasculares. Ang II: angiotensina II; CID: coagulación intravascular diseminada; SRAS: síndrome respiratorio agudo severo; LDH: lactato deshidrogenasa.

Todos estos elementos nos permiten concluir que, la exacerbada respuesta inflamatoria que se aprecia en los pacientes con cuadros severos de COVID-19, podría deberse a una hiperactivación del inflamasoma NLRp3 lo que conduciría a la muerte celular por piroptosis y a la liberación de DAMPs, lo cual

traería como consecuencia, la amplificación de la respuesta inflamatoria en donde participan otros mecanismos como la cascada de la coagulación, el sistema de complemento y la activación del sistema renina angiotensina, lo que favorece el desarrollo de complicaciones pulmonares y cardiovasculares.

REFERENCIAS

1. **Fehr AR, Perlman S.** Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol* 2015; 1282:1-23.
2. **Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qiu Y, Wang J, Liu Y, Wei Y, Xia J, Yu T, Zhang X, Zhang L.** Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet* 2020; 395:507-513.
3. **Zhu N, Zhang D, Wang W, Xingwang Li, Yang B, Song J, Zhao, Baoying Huang X, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu D, Wu G, Gao G, Tan W.** A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382(8):727-733.
4. **Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H.** Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020; 395:565-574.
5. **Kannan S, Shaik P, Sheeza A, Hemalatha K.** COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) – recent trends. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24:2006-2011.
6. **Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Chen Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Min L, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395:497-506.
7. **Liu J, Zheng X, Tong Q, Li W, Wang B, Sutter K, Trilling M, Lu M, Dittmer U, Yang D.** Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020; 92(5):491-494.
8. **Xiaoyi H, Fengxiang W, Liang H, Lijuan W, Ken C.** Epidemiology and clinical characteristics of COVID-19. *Arch Iran Med* 2020; 23(4):268-271.
9. **Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan Y, Deng S, Jin H, Tan K, Wang DY, Yan Y.** The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res.* 2020; 7(1):11.
10. **McIntosh K, Peiris J.** Coronaviruses. In: Richman D, Whitley R, Hayden F (ed), *Clinical Virology*. Third Edition, Washington, DC: ASM Press; 2009. p 1155-1171.
11. **Masters PS.** Coronavirus genomic RNA packaging. *Virology* 2019; 537:198-207.
12. **Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S.** CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181:271-280.e8.
13. **Ding Y, He L, Zhang Q, Huang Z, Che X, Hou J, Wang H, Shen H, Qiu L, Li Z, Geng J, Cai J, Han H, Li X, Kang W, Weng D, Liang P, Jiang S.** Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J Pathol* 2004; 203(2):622-630.
14. **Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F.** Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol* 2020; 94(7):e00127-20.
15. **Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong S, Berne M, Somasundaran M, Sullivan J, Luzuriaga K, Greenough T, Choe H, Farzan M.** Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 2003; 426: 450-454.
16. **Paules CI, Marston HD, Fauci AS.** Coronavirus infections—more than just the common cold. *JAMA* 2020; 323(8):707-708.
17. **Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, Van de Veen W, Brüggén M, O'Mahony L, Gao Y, Nadeau K, Acdis C.** Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 2020; 75(7):1564-1581.
18. **Zhang W, Zhao Y, Zhang F, Wang Li T, Liu Z, Wang J, Qin Y, Zhang X, Yan X, Zeng X, Zhang S.** The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol* 2020; 214:108393.
19. **Yao X, Li T, He Z, Ping Y, Liu H, Yu S, Mou H, Wang L, Zhang H, Fu W.** A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2020; 49(5):411-417.

20. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, Liu S, Zhao P, Liu H, Zhu L. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 2020; 8(4): 420–422.
21. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med* 2020; 383(2):120-128.
22. Martinon F, Gaide O, P  trilli V, Mayor A, Tschopp J. NALP inflammasomes: a central role in innate immunity. *Semin Immunopathol* 2007; 29(3):213–29.
23. Hennessy EJ, Parker AE, O’Neill LA. Targeting Toll-like receptors: emerging therapeutics? *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9(4):293-307.
24. Bryant C, Fitzgerald KA. Molecular mechanisms involved in inflammasome activation. *Trends Cell Biol* 2009; 19(9):455–464.
25. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing proIL-1  . *Mol Cell* 2002; 10:417–426.
26. Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell* 2014; 157(5):1013-1022.
27. Latz E. The inflammasomes: mechanisms of activation and function. *Curr Opin Immunol* 2010; 22(1):28-33.
28. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med* 2015; 21(7):677-687.
29. Iwasaki A. A virological view of innate immune recognition. *Annu Rev Microbiol* 2012; 66: 177–196.
30. Han Y, Zhang H, Mu S, Wei W, Jin Ch, Tong Ch, Song Z, Zha Y, Xue Y, Gu G. Lactate dehydrogenase, an independent risk factor of severe COVID-19 patients: a retrospective and observational study. *Aging (Albany NY)* 2020; 12(12):11245-11258.
31. Rayamajhi M, Zhang Y, Miao EA. Detection of pyroptosis by measuring released lactate dehydrogenase activity. *Methods Mol Biol* 2013; 1040:85-90.
32. Hoffman HM, Broderick L. The role of the inflammasome in patients with autoinflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138(1):3-14.
33. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010; 140:821-832.
34. Fernandes T, Wu J, Yu J, Datta P, Miller B, Jankowski, Rosemberg S, Zhang J, Alnemri E. The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. *Cell Death Differ* 2007; 14(9):1590-1604.
35. Jin C, Flavell R. Molecular mechanism of nlrp3 inflammasome activation. *J Clin Immunol* 2010; 30:628-631.
36. Von Moltke J, Ayres JS, Kofoed EM, Chavarr  a-Smith J, Vance RE. Recognition of bacteria by inflammasomes. *Annu. Rev Immunol* 2013; 31,73–106.
37. Man SM, Karki R, Kanneganti TD. AIM2 inflammasome in infection, cancer, and autoimmunity: Role in DNA sensing, inflammation, and innate immunity. *Eur J Immunol* 2016; 46(2):269-280.
38. Tschopp J, Schroder K. NLRP3 inflammasome activation: the convergence of multiple signaling pathways on ROS production? *Nature Rev Immunol* 2010; 10:210-215.
39. Ratajczak MZ, Bujko K, Cymer M, Thapa A, Adamiak M, Ratajczak J, Abdel-Latif A, Kucia M. The Nlrp3 inflammasome as a “rising star” in studies of normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia* 2020; 34(6):1512-1523.
40. Place DE, Kanneganti TD. Recent advances in inflammasome biology. *Curr Opin Immunol* 2018; 50:32–38.
41. Krishnan S, Ling Y, Huuskes B, Ferens D, Saini N, Chan C, Diep H, Kett M, Samuel C, Kemp-Harper B, Robertson A, Cooper M, Pedro K, Latz E, Mansell A, Sobey Ch, Drummond D, Vinh A. Pharmacological inhibition of the NLRP3 inflammasome reduces blood pressure, renal damage, and dysfunction in salt-sensitive hypertension. *Cardiovasc Res* 2019; 115:776–787.
42. Colarusso C, Terlizzi M, Molino A, Pinto A, Sorrentino R. Role of the inflammasome in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Oncotarget* 2017; 8(47):81813-81824.

43. **Lee H, Kim J, Kim H, Shong M, Ku B, Jo E.** Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2013; 62: 194–204.
44. **Sarvestani S, McAuley J.** The role of the NLRP3 inflammasome in regulation of antiviral responses to influenza A virus infection. *Antiviral Res* 2017; 148:32-42.
45. **Segovia J, Sabbah A, Mgbemena V, Tsai S, Chang T, Berton M, Morris I, Allen I, Ting J, Bose S.** TLR2/MyD88/NF- κ B pathway, reactive oxygen species, potassium efflux activates NLRP3/asc inflammasome during respiratory syncytial virus infection. *PLoS One* 2012; 7(1): 1-15.
46. **Chen IY, Moriyama M, Chang MF, Ichinohe T.** Severe acute respiratory syndrome coronavirus viroporin 3a activates the NLRP3 inflammasome. *Front Microbiol* 2019; 10:50.
47. **Murakami T, Ockinger J, Yu V, Byles A, McColl A, Hofer M, Hornig T.** Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2012; 109:11282–11287.
48. **Lieberman J, Wu H, Kagan J.** Gasdermin D activity in inflammation and host defense. *Sci Immunol* 2019; 4(39):eaav1447.
49. **Kovacs SB, Miao EA.** Gasdermins: effectors of pyroptosis. *Trends Cell Biol* 2017; 27: 673–684.
50. **Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J, Baxter-Stoltzfus A, Laurence J.** Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res* 2020; 220:1-13.
51. **Violi F, Pastori D, Cangemi R, Pignatelli P, Loffredo L.** Hypercoagulation and antithrombotic treatment in Coronavirus 2019: a new challenge. *Thromb Haemost* 2020; 120(6):949-956.
52. **Pinar A, Scott T, Huuskes B, Tapia Cáceres F, Kemp-Harper B, Samuel SC.** Targeting the NLRP3 inflammasome to treat cardiovascular fibrosis. *Pharmacol Ther* 2020; 209:107511.