



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS
“Francisco García Salinas”

Unidad Académica de Ciencias Químicas
Maestría en Ciencia y Tecnología Química

TESIS

**“Determinación de los niveles plasmáticos de triptófano, quinurenina e IDO
en individuos activos, recuperados de la COVID-19 y vacunados ante el
SARS-CoV-2”**

Para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Química

Presenta

Q.F.B. Edna Judith Nungaray Anguiano

Directora

Dra. Irma Elizabeth González Curiel

Co-directora:

Dra. Susana Godina Gonzalez

Asesor

Dra. Yamilé López Hernández

Zacatecas, Zac. Diciembre 2023

DEDICATORIA

A mis inquebrantables padres ...

A Dios, el Universo y la Ciencia...

A mis adorados hermanos y hermana...

A mí de Edna de 10 años, estoy cumpliendo nuestros sueños ...

“NO TE RINDAS, ANIMO MIJITA”

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Inmunotoxicología de la Maestría en Ciencia y Tecnología Química (MCTQ) de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y en el Laboratorio de Metabolómica de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, contando con los apoyos financieros otorgados por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) a través del proyecto 312908 “Tamizaje poblacional para la evaluación de la inmunidad colectiva ante SARS-CoV2-COVID-19 como estrategia de vigilancia epidemiológica” y del proyecto 311880 “Identificación y validación de marcadores inmunometabólicos que incrementan la susceptibilidad a desarrollar formas graves de infección por SARS-CoV-2”. La autora también agradece al CONAHCyT por la asignación de la beca de maestría con registro 1148493.

Atento agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada que hizo posible la realización de los estudios de maestría durante el periodo 2021-2023, con el CVU 1148493.

A mi alma mater, la Universidad Autónoma de Zacatecas “Francisco García Salinas”, al programa de Maestría en Ciencia y Tecnología Química presidido por la Dra. Ismailia Leilani Escalante García.

A la Dra. Irma Elizabeth Gonzales Curiel, directora del proyecto. A mis variados asesores y colaboradores académicos en este proyecto; la Dra. Susana Godina, Dra. Yamilé Lopez, Dr. Guillermo Quiñones, Dr. Boullain, Dr. Talavera, Dr. Juan José Oropeza, Dra. Gwendolyne, Dra. Karina Casco, M. David Ávila, Dr. Rafael Tenorio.

Por su apoyo al Consejo Zacatecano de Ciencia y Tecnología (COZCyT) del estado de Zacatecas, a la Unidad de Movilidad Académica de la UAZ, a la Dra. Liliana Ruiz y a la Universidad Autónoma de Quintana Roo donde se realizó la estancia de Investigación.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A Dios y al Universo... por la vida y las señales guía.

Gracias a mis padres Juan Arturo y Amanda. A mis hermanos Juan Carlos, Arturo y Lucia. A mis abuelos Gloria, Arturo⁺, Raquel y Evaristo. A todos ustedes por sus consejos, apoyo, abrazos, motivación, moral, me han ayudado a hacer tantos sueños posibles que no tengo manera de pagarles. Gracias por mostrarme el camino para conseguir lo que quiero siempre siendo instrumento de Dios, va por ustedes, va por mí y va por Él.

A mi gran asesora, la Dra. Irma Curiel, por sus enseñanzas, guía, consejo, sabiduría de vida y academia, su entrega y dedicación a este proyecto tan intenso, así como por creer en mí, en mi trabajo y permitirme ser parte de su equipo.

Gracias a la vida por ponerme amigas/amigos, así como compañeros/conocidos en este trayecto: mis amigos Carlos M, Carito, Vicky, Salmita, Aleja-Dani, Nancy, Mike, Fraber, Tati, Benjamín R, Rubén, Alancito, Nena, Camilo, Viviana, Edith, Faby, Ricardo P, Irving y mi adorado Mario; gracias a ustedes por su amistad, amor, cariño y por ser esos seres especiales que he ido encontrando en la vida, personas inteligentes, capaces y llenos de luz, se convirtieron en clave fundamental de ánimos y energía positiva. Agradezco también a todos los que se fueron de mi vida, mucho amor y luz para todos donde quiera que vayan.

A los *personajes* (y *amigos*) del laboratorio de Metabolómica y Proteómica que hicieron una aventura cada momento y día de estrés contra la “maquina” y me apoyaron cuando requería más manos; Luis, Kevin, Jesús, muchas gracias, chicos. Al Dr. Juan Jose y al Dr. David por su gran frase “búscales Edna”. A la Dra. Luliana Ruiz, la Dra. Karina Casco, Sra. Mildred por abrirme sus brazos en Quintana Roo y hacerme vivir momentos únicos además de dejarme mucho aprendizaje de vida, ahora son parte de mí.

A mi psicóloga Yadira; por gestionarme, cuidarme y mostrarme el camino hacia el autoconocimiento en mi ansiedad y este proyecto. Gracias Cheto por tu ronroneo tranquilizador.

A mí misma, Edna, gracias por nunca rendirte y ser siempre esa mujer fuerte, decidida y capaz que lograr sus objetivos, gracias por tus sueños y empeño. El mundo te quedará pequeño mientras no te falles a ti misma, porque cuando no haya motivación; habrá disciplina.

ÍNDICE

Índice de tablas.....	iv
Índice de figuras.....	v
Abreviaturas.....	vii
Resumen.....	9
Abstract.....	2
1.-Hitos históricos.....	2
2. SARS-CoV-2.....	2
2.1 Taxonomía.....	2
2.2 Estructura del SARS-CoV-2	3
2.3 Vía y Mecanismo de infectividad del SARS-CoV-2	4
2.4. La COVID-19.....	8
2.4.1 Síntomas y desordenes de la COVID-19	9
2.5- Vacunas: SARS-CoV-2	10
3. Epidemiología.....	17
4. Post COVID-19.....	18
5. Metabolómica.....	20
5.1 Triptófano	20
5.1.1. Metabolismo del Trp.....	21
5.2 Quinurenina	23
5.3 Indol amina oxigenasa (IDO)	24
5.4 Triptófano, IDO (Kyn/Trp) y quinurenina en COVID-19.....	28
6. Planteamiento del problema	29
7.-Pregunta de investigación	30
8. Justificación	31
9. Hipótesis.....	32
10. Objetivos	33
10.1. Objetivo general	33
10.2. Objetivo específico	33
11. Metodología	34
11.1. Tipo de estudio	34

11.2. Captación de participante y muestra biológica	34
11.3. Tipo de ensayo.....	36
11.3.1 Preparación de muestras para UPLC-MS	36
11.3.2 Método Cromatografía líquida de ultra desempeño acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS).....	37
11.3.3 Cuantificación.....	38
11.3.4 Validación del método	40
11.4 Análisis estadístico.	40
12. Resultados.....	42
12.1 Variables sociodemográficas y antropométricas.....	42
12.2 Análisis de triptófano (Trp).....	48
12.3 Análisis de quinurenina (Kyn).	50
12.4 Relación Kyn/Trp como medida de inferencia de la actividad enzimática de Indolamania 2,3-dioxigenasa (IDO).....	51
12.5 Correlación de triptófano respecto a quinurenina como indicador del catabolismo.	53
12.6 Análisis del efecto del sexo biológico sobre los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina.....	54
12.6.1 Relación Kyn/Trp (IDO) respecto al sexo	57
12.7 Análisis de los niveles plasmáticos de triptófano respecto la edad.....	59
12.7.1 Relación Kyn/Trp (IDO) respecto a la Edad.....	63
12.8. Análisis del efecto del IMC sobre los niveles plasmáticos de Trp, Kyn e IDO.....	65
12.8.1 Análisis de triptófano respecto a estratificación de peso	66
12.8.2 Análisis de quinurenina respecto a estratificación de IMC	67
12.8.3 Análisis de relación Kyn/Trp (IDO) respecto a estratificación de IMC	67
12.9 Sintomatología COVID-19 y post-vacuna.	69
12.9.1 Análisis de la sintomatología sobre los metabolitos en activos COVID-19.....	74
12.9.2 Análisis de la sintomatología sobre los metabolitos en recuperados COVID-19.....	78
12.9.3 Análisis de la sintomatología sobre los metabolitos en vacunados contra el SARS-CoV-2 COVID-19	83
13. Discusión	86
14. Conclusión	91
15. Perspectivas	93
16. Bibliografía	94

17 Material suplementario	99
S.1) Fundamento teórico de la técnica UPLC-MS	99
S.2) Análisis PLS-DA ante los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina.	100
S.3) Gráficos de curva de calibración.....	102
S.4) Generalidades de instrumentación.	102
S.4) Material visual de apoyo en teoría de linfocitos T reguladores e IDO	103
18. Anexos	107
18.1) Productos Académicos:	107
18.2) Retribución Social:	110
18.3) Estancia de investigación:	114

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía del SARS-CoV-2.	3
Tabla 2. Vacunas SARS-CoV-2.....	14
Tabla 3. Criterios de inclusión de los grupos de estudio.....	35
Tabla 4. Criterios de no inclusión de los grupos de estudio.....	36
Tabla 5. Criterios de eliminación.....	36
Tabla 6. Transiciones en MRM.	38
Tabla 7. Variable sociodemográfica. Edad.	42
Tabla 8. Variable sociodemográfica sexo	43
Tabla 9. Variables antropométricas	44
Tabla 10. Características clínico-patológicas de los grupos.	45
Tabla 11. Variables de laboratorio en COVID-19.	46
Tabla 12. Relación Kyn/Trp como medida de inferencia para IDO.	51
Tabla 13. Correlación entre los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina.	53
Tabla 14. Sintomatología referida en COVID-19 en activos, recuperados y vacunados.....	71
Tabla 15. Estándares	102
Tabla 16. Generalidades de instrumentación	103
Tabla 17. Flujo cromatográfico.....	103
Tabla 18. Vacunas del grupo de estudio	106

Índice de figuras

Figura 1. Estructura general del SARS-CoV-2.....	4
Figura 2. Entrada de SARS-CoV2	6
Figura 3. Síntomas y desórdenes sistémicos presentes en la COVID-19.....	9
Así mismo, hasta el 27 de agosto del 2023, la OMS reportó la administración de.....	17
Figura 4. Aminoácido esencial Triptófano (Trp)	21
Figura 5. Metabolito de Trp: Quinurenina (Kyn).....	23
Figura 6. Enzima Indol amina oxigenasa (IDO)	24
Figura 7. Rutas metabólicas del aminoácido Trp.....	27
Figura 8. Cromatograma y espectro del aminoácido triptófano (Trp).	39
Figura 9. Cromatograma y espectro del metabolito quinurenina (Kyn)	40
Figura 10. Niveles plasmáticos de triptófano (Trp)	49
Figura 11. Niveles plasmáticos de quinurenina (Kyn).....	50
Figura 12. Relación Kyn/Trp (IDO)	52
Figura 13. Niveles plasmáticos de triptófano en los diferentes grupos de estudio respecto al sexo biológico	55
Figura 14. Niveles plasmáticos de quinurenina en los diferentes grupos de estudio respecto al sexo biológico	56
Figura 15. Relación Kyn/Trp (IDO) respecto al sexo biológico clasificado por grupo de estudio	58
Figura 16. Niveles plasmáticos de triptófano en los diferentes grupos de estudio respecto a la edad	60
Figura 17. Niveles plasmáticos de quinurenina en los diferentes grupos de estudio respecto a la edad.....	62
Figura 18. Relación Kyn/Trp (IDO) en los diferentes grupos de estudio respecto a la edad.....	64
Figura 19. Niveles plasmáticos de triptófano en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de peso.....	66
Figura 20. Niveles plasmáticos de quinurenina en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de peso.....	67
Figura 21. Relación Kyn/Trp (IDO) en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de peso	68
Figura 22. Sintomatología en activos COVID-19 respecto a los niveles plasmáticos de los metabolitos..	76
Figura 23. Sintomatología en activos COVID-19 respecto a la relación Kyn/Trp(IDO).....	77
Figura 24. Sintomatología en recuperados COVID-19 respecto a los metabolitos Trp y Kyn.....	80
Figura 25. Sintomatología en recuperados COVID-19 a la relación Kyn/Trp(IDO).....	81
Figura 26. Semanas de recuperación post-COVID-19 en los individuos recuperados	82
Figura 27. Sintomatología en vacunados contra el SARS-CoV-2 COVID-19 respecto a los metabolitos Trp y Kyn.....	84

Figura 28. Sintomatología en vacunados contra el SARS-CoV-2 COVID-19 respecto a la relación Kyn / Trp (IDO).....	85
Figura 29. Gráfico de componentes principales PLS-DA de los niveles plasmáticos de Trp y Kyn.....	101
Figura 30. Score plot de PSL-DA de los niveles plasmáticos de Trp y Kyn	101
Figura 31. Curva de calibración.....	102
Figura 32. Regulación del sistema inmune a través de Trp y la via de la quinurenina.	104
Figura 33. Correlación entre los niveles plasmáticos de Trp y Kyn	105

Abreviaturas

1-MT:	1 metil triptófano
3HA:	3-hidroxiantranfílico
3HK:	3-hidroxiquinurenina
AA:	Ácido Antranfílico
AhR:	Receptor de Arilo
ARN:	Ácido Ribonucleico
ARNm:	ARN mensajero
ARNt:	ARN de Transferencia
BHE:	Barrera Hematoencefálica
BP:	Bajo Peso
COVID-19:	Del inglés coronavirus disease 2019
CRP:	Proteína C reactiva
CTLA-4:	Antígeno 4 Asociado al Linfocito T citotóxico
DM2:	Diabetes mellitus tipo 2
ECA-2:	Enzima Convertidora de Angiotensina
EM:	Espectrometría de Masas
E-SARS-CoV-2:	Expuestos al SARS-CoV-2
F:	Femenino
GCN2:	Control General no Reprimible 2
HA:	Hipertensión Arterial
HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
IAA:	Ácido Indol Acético
IC 95%:	Índice de Confianza al 95%
ICC:	Índice Cintura Cadera
IDO:	Indol Amina 2,3-Dioxigenasa
IFN:	Interferón
IL:	Interleucina
ILC3s:	Células Linfoides Innatas del grupo 3
IMC:	Índice de Masa Corporal
KA:	Ácido Quinurénico
KDa:	Kilo Daltones
KP:	Vía de la Quinurenina (del inglés kynurenine pathway)
Kyn/Trp:	Relación Quinurenina - Triptófano
Kyn:	Quinurenina
LAT1-CD98:	Gran Transportador de Aminoácidos Neutros

LDH:	Lactato Deshidrogenasa
M:	Masculino
MRM:	Monitorización de múltiples reacciones
mmHg:	Milímetros de Mercurio
N/A:	No Aplica
N/E:	No Expuestos
NAD:	Nicotinamina Adenina Nucleótido
NP:	Normopeso
O. Med:	Obesidad Moderada
O.L:	Obesidad Leve
OMS:	Organización Mundial de la Salud
p:	p valué
PA:	Ácido Picolínico
PAD:	Presión Arterial Diastólica
PAMP:	Patrón Molecular Asociado a Patógenos
PAS:	Presión Arterial Sistólica
PCA:	Análisis de Principales Componentes
PLS-DA:	Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales
QA:	Ácido Quinolínico
RBD:	Dominio de Unión al Receptor
RCT:	Complejo Replicasa Transcriptasa
ROS:	Especies Reactivas de Oxígeno
SRAA:	Sistema renina angiotensina aldosterona
SARS-CoV-2:	Virus causante de la COVID-19
SDRA:	Sistema de dificultad respiratoria aguda
TDO:	Triptófano 2,3-Dioxigenasa
TGF- β :	Factor de Transformación β
Th:	Linfocito T helper
TMPRSS2:	Proteasa de Serina Transmembrana
TNF:	Factor de Necrosis Tumoral
T-reg:	Linfocito T Regulador
Trp:	Triptófano
UPLC-MS:	Cromatografía Líquida de Ultradesempeño Acoplada a Espectrómetro de Masas
XA:	Ácido Xanturénico
ESPII:	Emergencia de Salud Pública de Importancia.

Resumen

La COVID-19 se caracteriza por un desequilibrio inflamatorio y metabolómico que contribuye a la progresión de la gravedad y duración. El triptófano (Trp) y la quinurenina (Kyn) son metabolitos que en conjunto con la enzimaIDO juegan un papel clave en el proceso de la inmunorregulación en la enfermedad. El objetivo consistió en determinar los niveles plasmáticos de Trp y Kyn a través de UPLC-MS en los grupos: control (n=20), activos COVID-19 (n=20), recuperados COVID-19 (n=32), vacunados vs SARS-CoV-2 (n=22). Como metodología se extrajeron metabolitos a través de precipitación en fase líquida con acetonitrilo, enriquecidos con Trp-D5 para la validación del método a través del estándar interno. Se prepararon estándares de concentraciones conocidas de los metabolitos (Trp y Kyn) y se estimó la actividad enzimática de IDO con el cociente Kyn/Trp. Se aplicó una prueba de bondad de ajuste de Shapiro-Wilk seguido de un conjunto de pruebas univariadas. Del mismo modo se aplicó un análisis de correlación y un análisis multifactorial PSL-DA. Los resultados del método semicuantitativo mostraron que los niveles plasmáticos del Trp son similares en los distintos estadios de la enfermedad respecto al grupo control ($p=0.5616$); los niveles plasmáticos de Kyn presentaron un aumento en los individuos expuestos al SARS-CoV-2 ($p=0.0274$). El sexo biológico y el IMC (factores intrínsecos), no interfirieron sobre los niveles plasmáticos del Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp en los diferentes estadios de la COVID-19 respecto al control. La edad en el grupo de activos representó un factor importante en el grupo etario de 40-50 años. El síntoma más persistente entre los grupos fue: mialgia. Los síntomas asociados a post COVID-19 en los recuperados se manifestaron como: fatiga, faringalgia, artralgia, mialgia, anosmia y disgeusia; se observó que el síntoma no afecta los niveles plasmáticos de Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO). Los pacientes con anosmia y disgeusia mostraron un decremento de Kyn. En los recuperados post-COVID-19 se observó un punto de coincidencia entre el decremento de Trp, el aumento de Kyn, Kyn/Trp (IDO) y los anticuerpos (anti-N-IgG) de la semana 7 a la 10 recuperación. Estos resultados sugieren que se está catabolizando el Trp, independientemente del estadio la enfermedad, sugiriendo que la gravedad de la enfermedad podría estar interfiriendo en la vía metabólica del Trp, aunado con los factores intrínsecos como la edad.

Palabras clave: Triptófano, COVID-19, inmunorregulación.

Abstract

COVID-19 is characterized by an inflammatory and metabolomic imbalance that contributes to the progression of severity and duration. Tryptophan (Trp) and kynurenine (Kyn) are metabolites that together with the IDO enzyme play a key role in the immunoregulatory process in the disease. The objective was to determine the plasma levels of Trp and Kyn by UPLC-MS in the following groups: control (n=20), active COVID-19 (n=20), recovered COVID-19 (n=32), vaccinated vs SARS-CoV-2 (n=22). As a methodology, metabolites were extracted through liquid phase precipitation with acetonitrile, spiked with Trp-D5 for method validation through internal standard. Standards of known concentrations of the metabolites (Trp and Kyn) were prepared and the enzymatic activity of IDO was estimated with the Kyn/Trp ratio. A Shapiro-Wilk goodness-of-fit test was applied followed by a set of univariate tests. Correlation analysis and PSL-DA multifactorial analysis were similarly applied. The results of the semiquantitative method showed that plasma levels of Trp are similar in the different stages of the disease with respect to the control group ($p=0.5616$); plasma levels of Kyn presented an increase in individuals exposed to SARS-CoV-2 ($p=0.0274$). Biological sex and BMI (intrinsic factors) did not interfere on the plasma levels of Trp, Kyn and the Kyn/Trp ratio in the different stages of COVID-19 with respect to the control. Age in the active group represented an important factor in the 40-50 years age group. The most persistent symptom among the groups was: myalgia. The symptoms associated with post COVID-19 in those recovered were manifested as: fatigue, pharyngalgia, arthralgia, myalgia, anosmia and dysgeusia; it was observed that the symptom does not affect the plasma levels of Trp, Kyn and the Kyn/Trp ratio (IDO). Patients with anosmia and dysgeusia showed a decrease in Kyn. In post-COVID-19 recoveries, a point of coincidence was observed between the decrease in Trp, increase in Kyn, Kyn/Trp (IDO) and antibodies (anti-N-IgG) from week 7 to 10 recovery. These results suggest that Trp is being catabolized, regardless of disease stage, suggesting that disease severity may be interfering with the Trp metabolic pathway, along with intrinsic factors such as age.

Key words: Tryptophan, COVID-19, immunoregulation.

1.-Hitos históricos

Los coronavirus son virus con un ARN monocatenario envueltos, que varían de entre los 60-140 nm de diámetro incluso con sus proyecciones en forma de “púas” en su superficie; las cuales le confieren el aspecto de corona bajo el microscopio electrónico. Hasta la aparición del SARS-CoV-2, se han descrito cuatro coronavirus en seres humanos que causan enfermedades respiratorias leves en hospederos inmunocompetentes como: HKU1, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43. Del mismo modo, otros tres virus altamente patógenos que causan síndrome respiratorio severo en humanos son: SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 y MERS-CoV (Singhal, 2020).

Colocando los hitos históricos de enfermedades causadas por los anteriores coronavirus, se tiene registro de que en el periodo del 2002-2003 el SARS-CoV-1 causó una epidemia en Guandong, China transmitiéndose de manera zoonótica desde el gato civeta como huésped intermediario causando 916 muertes con una tasa de mortalidad del 11%. Así mismo, en el año 2012 el MERS-CoV causó una epidemia en Arabia Saudita a través de camellos dromedarios como huésped intermedio, afectando a 2494 personas y causando 858 muertes, con una tasa de mortalidad del 34%; mientras el SARS-CoV-2, que causó la COVID-19 a nivel mundial desde diciembre de 2019 tuvo una tasa de mortalidad del 2.3%, más de 431 millones de casos y 5.9 millones de muertes a nivel mundial hasta febrero del 2022 (Oliva, 2020; Singhal, 2020).

2. SARS-CoV-2

2.1 Taxonomía

El SARS-CoV-2 es miembro de la familia Orthocoronavirinae, posee un genoma ARN monocatenario de sentido positivo (ARNss+), su clasificación exacta se muestra en la tabla 1. La familia consta de dos subfamilias Coronavirinae y Torovirinae, de la primer subfamilia respectivamente se subdividen cuatro géneros (Anamary & Villegas, 2020; Harapan et al., 2020):

- a) Alfa coronavirus: incluye al coronavirus (HCoV)-229E y HCoV-NL63.
- b) Beta coronavirus: incluye a los coronavirus HCoV, al SARS-HCoV, HCoV-HKU1 y al MERS-CoV, SARS-CoV-2.
- c) Gamma coronavirus: incluye a los coronavirus Nigh Heron CoV y al Wigeon CoV.
- d) Delta coronavirus: incluye a los coronavirus IBV, y al TCoV.

Dentro de los cuatro géneros diferentes, se pueden diferenciar por su capacidad zoonótica, los coronavirus de tipo alfa y beta pueden infectar a los seres humanos; los gamma infectan aves y ballenas, los deltas sólo afectan aves (Anamary & Villegas, 2020).

Tabla 1. Taxonomía del SARS-CoV-2.

Clasificación	Taxonomía
Reino	<i>Riboviria</i>
Orden	<i>Nidoviral</i>
Suborden	<i>Cornidovirinae</i>
Familia	<i>Orthcoronavirinae</i>
Subfamilia	<i>Coronavirinae</i>
Genero	<i>Betacoronavirus</i>
Subgénero	<i>Sarbecovirus</i>

2.2 Estructura del SARS-CoV-2

El virus SARS-CoV-2 recibe su nombre “coronavirus” gracias a su estética, como se aprecia en la figura 1; esto debido a las proteínas antigénicas que se encuentran en su alrededor, las cuales son codificadas a través del ARN monocatenario (Oliva, 2020; Soto, 2020). A continuación, se describen las principales proteínas antigénicas:

Glicoproteína de espiga (S): es responsable de la unión y fusión del virus a la membrana celular del huésped, compuesta de dos subunidades S1 y S2, las cuales miden aproximadamente 13 nm y tienen un peso molecular de 180-220 KDa. La subunidad S1 determina el rango de hospederos y tropismo celular mientras la S2 media la fusión del virus con la membrana celular humana. Entre estas subunidades hay un sitio de escisión donde se crea un sitio de furina polibásico, que se ha relacionado con la transmisión más rápida del virus facilitando su endocitosis.

Proteína de membrana (M): encargada del transporte transmembranal de nutrientes, liberación de la partícula viral y eventual formación de la envoltura viral, proporciona estructura al virón; ésta proteína interacciona con la nucleocápside y consta de un peso molecular de entre 20-35 KDa.

Proteína de la nucleocápside (N): tiene un diámetro de 9.11 nm, forma la nucleocápside helicoidal, consta de 2 dominios que le permiten reconocer el ARN viral. Puede funcionar como antagonista del IFN- β , contribuyendo a la evasión del sistema inmune y como consecuencia limita las funciones antivirales. La proteína N se encuentra fosforilada y tiene un peso molecular de entre 50-60 KDa.

Proteína de envoltura (E): proteína de tipo accesoria y auxiliar de la fusión de la membrana viral y endosoma.

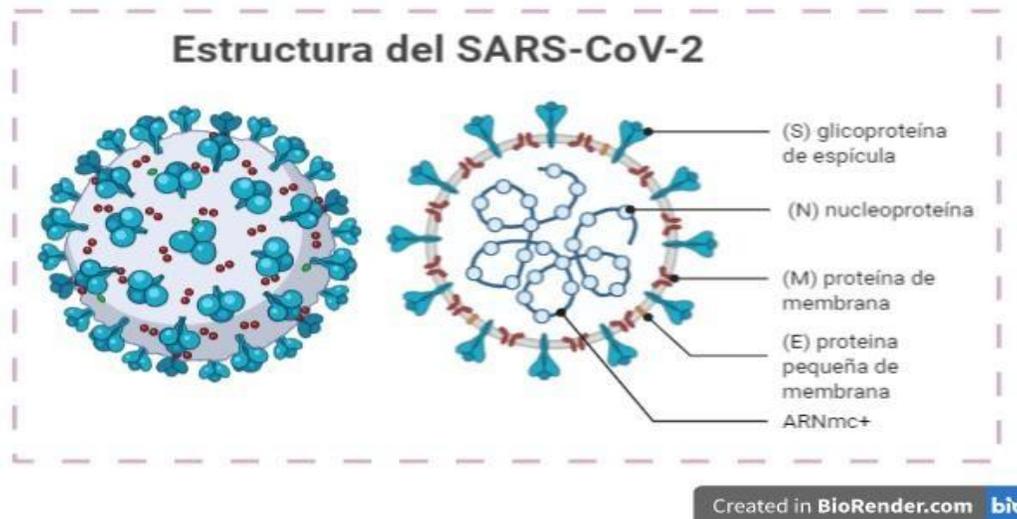


Figura 1. Estructura general del SARS-CoV-2. (Esakandari et al., 2020; Oliva, 2020; Singhal, 2020).

A través de sus proteínas antigénicas estructurales, el virus puede ingresar al huésped, permitiéndole la infectividad en células que expresen receptores de tipo ECA-2. Al respecto, la participación de las subunidades de la proteína S propician el ambiente adecuado para la transmisión y contagio.

2.3 Vía y Mecanismo de infectividad del SARS-CoV-2

Una de las principales hipótesis establecida hasta el momento es la transmisión de tipo zoonótica entre un murciélago y un humano, o bien, por otros intermediarios como el pangolín, el gato civeta o los dromedarios (Salud, 2021).

La ruta de transmisión es de tipo horizontal, de persona-persona, dentro de las maneras de contagio se incluyen la inhalación directa de gotitas de flügge o núcleos goticulares que pueden permanecer en el aire, objetos contaminados y contacto con secreciones mucosas directas de individuos positivos al SARS-CoV-2 (Esakandari et al., 2020).

El SARS-CoV-2 puede acceder al tracto respiratorio a través de las membranas mucosas del organismo; nasal, orofaríngea y laríngea hasta llegar a los pulmones. Donde realiza su ingreso a la célula con receptor ECA-2, llevando a cabo su mecanismo de infectividad (Oliva, 2020).

El SARS-CoV-2 se une a toda célula que esté presente en la superficie el receptor ECA-2 (enzima convertidora de angiotensina) y proteasa de serina transmembrana tipo 2 (TMPRSS2, por sus siglas en inglés), ECA-2 es el primer receptor de la proteína S viral (también puede denominarse ACE-2) (figura 2) y proporciona el punto de entrada de la célula, aunque no es el único receptor al cual se pueda unir, pero si el más estudiado. Los órganos que expresan este receptor ECA-2 son: cerebro, corazón, células alveolares tipo 2 en pulmones, arterias, epitelio respiratorios, hígado, riñones, testículos e intestinos (Oliva, 2020).

El virus logra ingresar a la célula a través de la unión de la subunidad S1 de la glicoproteína S, con el receptor ECA-2 a través del dominio de unión a receptor (RBD) simultáneamente la subunidad S2 es responsable de la fusión del virus a la membrana celular, como resultado se forma un complejo que es procesado proteolíticamente por TMPRSS2 escindiendo ECA-2 de S1 liberándola del complejo RBD e iniciando el proceso de unión y fusión del virus a la membrana celular mediante endocitosis (Oliva, 2020; Soto, 2020).

Posterior a su ingreso a la célula, la nucleocápside se libera permitiendo que el ARN genómico de polaridad positiva (ARN_{ss+}) se libere en el citoplasma, y se copia a un ARNm en polaridad negativa (ARN_{ss-}) donde actúa como un ARNm y se transcribe de manera directa el gen replicasa transcriptasa traduciéndose en poliproteínas (pp1a y pp1ab) que son procesadas proteolíticamente por proteasas como la quimiotripsina viral, generando 16 proteínas no estructurales donde algunas de ellas forman el complejo replicasa transcriptasa (RTC) y otras proteínas que ayudan en el proceso de transcripción genómica del virus (Oliva, 2020; Soto, 2020).

Finalmente, el complejo RTC se dedica a replicar y sintetizar un conjunto de ARNm que codifican la elaboración de proteínas antigénicas, M, E, N, las accesorias, así como un ARNm en polaridad positiva (ARN_{ss+}) que se asocia a la proteína N formando la nucleocápside. Las demás proteínas estructurales y accesorias son elaboradas en el retículo endoplásmico (RE) y posteriormente llevadas al complejo de Golgi, ahí son ensambladas junto a la nucleocápside para producir viriones que son exportados hacia la membrana plasmática en forma de vesículas. (Oliva, 2020; Soto, 2020).

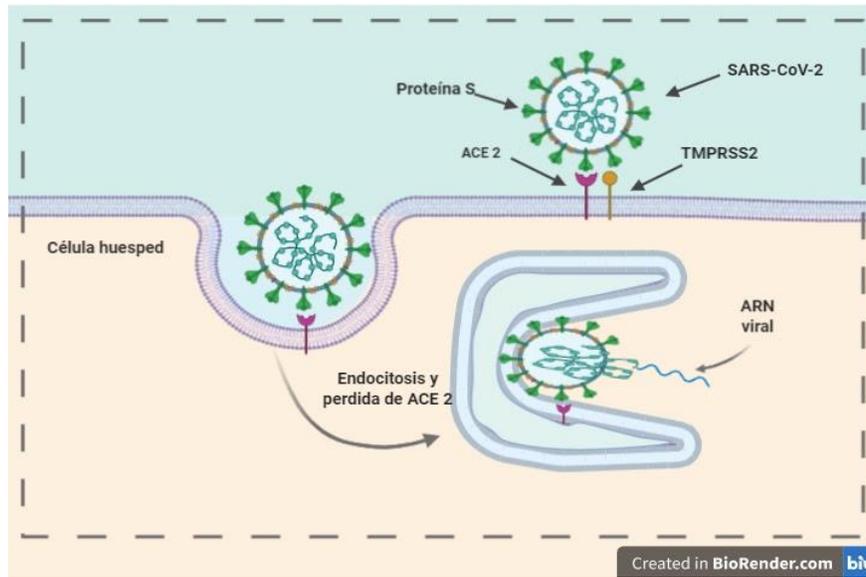


Figura 2. Entrada de SARS-CoV2. La entrada en la célula requiere la interacción de la proteína viral S con las proteínas de membrana ECA2 y TMPRSS2 de la célula huésped. La entrada del virus está asociada con una reducción significativa en la expresión en la membrana de la enzima ECA2, sin afectar la expresión de la enzima ECA1. Basado en (Oliva, 2020).

Al unirse la proteína S al receptor, se desencadenan una serie de procesos bioquímicos e inmunológicos, causando una respuesta inflamatoria sistémica exacerbada de citocinas proinflamatorias. Adicionalmente, se ha descrito que el SARS-CoV-2 per se es capaz de regular de manera negativa la expresión del receptor ECA2 induciendo la acumulación de angiotensina II y como consecuencia la activación del sistema SRAA (sistema renina angiotensina aldosterona), lo cual induce un daño orgánico considerable (Esakandari et al., 2020).

Aunado a lo anterior y desde que se logró dilucidar el mecanismo de ingreso mediante el cual el SARS-CoV-2 se reproduce intracelularmente en la célula huésped, se estableció el inicio de la enfermedad COVID-19 y los distintos signos y síntomas que ésta presenta; los cuales varían en cada individuo según la situación orgánica del mismo. Los síntomas más comunes se presentan en el siguiente apartado, así como algunos de los factores de riesgo más característicos y/o comorbilidades para desarrollar la forma severa de la enfermedad.

El SARS-CoV-2 es un microorganismo intracelular obligado que requiere el uso de los componentes de la célula para replicarse, al llevar a cabo este proceso se estimula la respuesta antiviral a través del sistema inmune del hospedero donde los receptores TLR 3,7,8, y 9 activan

las cinasas JAK, NF- κ B e IRF3 y 7 que se transloca en el núcleo, induciendo los mecanismos para la expresión de interferones tipo 1 (específicamente IFN tipo 1 -IFN- α e IFN- β - suprimiendo la replicación y la diseminación viral en etapas tempranas) y citocinas proinflamatorias tales como TNF, IL-1, IL-6, e IL-12, que estimulan la respuestas inflamatoria antiviral la cual pretende bloquear la infección y eliminar las células infectadas. Los CoV son virus capaces de evadir los mecanismos de expresión de los IFN antivirales en las células epiteliales infectadas dentro de los primeros 7 días de la infección, lo que contribuye a la creciente inflamación y daño del tejido infectado (Abbas, 2018; Anamary & Villegas, 2020; Berrueta, 2007; Muyayalo et al., 2020; Nungaray, 2021; Pastian-Soto, 2020)

Adicionalmente, la respuesta inflamatoria es acompañada del reclutamiento de neutrófilos y células NK, que se activan rápidamente en el sitio de infección; se induce la activación de células Th17 y tipo Th1. La inmunidad adaptativa es el segundo paso esencial en el proceso contra la infección viral, se da la producción de linfocitos T citotóxicos y anticuerpos neutralizante, aumenta la producción del tipo IgM en los primeros 9 días de la infección e IgG en los días 14-16 de la infección. El sistema inmune activado requiere regulación, la cual se da a través de los linfocitos T y B reguladores, estos son capaces de bloquear o regular la respuesta de los linfocitos Th; ejerciendo sus funciones a través de citocinas inhibitorias como (TGF- β , IL-10, IL-27, IDO, IL-35), modulando APC (a través de CTLA-4), disrupción metabólica (a través de ectoenzimas CD39, CD73, AMPc), citólisis (a través de la granzima A,B y perforina) (Abbas, 2018; Pastian-Soto, 2020).

Así como las células dendríticas hacen uso del metabolismo de Trp a través de la enzima IDO para producir Kyn, este metabolito estimula a AhR en células dendríticas, T efectoras y epiteliales. En las células dendríticas induce la producción de TGF- β que conduce a la diferenciación de T reg. En células Th17 Kyn estimula AhR que induce el cambio hacia Tr1 productora de IL-10 y TGF- β . En células epiteliales, el medio inflamatorio induce la expresión de IDO que toma Trp del medio y lo metaboliza hacia Kyn que estimula el receptor AhR que induce el inhibidor de la IL-6, además de producir ácido quinurénico que también puede activar AhR en células epiteliales. La activación de la enzima IDO se infiere a través de relación Kyn/Trp (Seo & Kwon, 2023).

Durante la infección por COVID-19, los cambios metabólicos pueden afectar las funciones del sistema inmune.

2.4. La COVID-19

El virus SARS-CoV-2 causa la COVID-19, nombrada así por la OMS, haciendo referencia a “coronavirus disease 2019”. La enfermedad, inicia cuando el virus SARS-CoV-2 ingresa a través de las mucosas, uniéndose a las células que expresen el receptor ECA-2; posteriormente, el genoma viral se replica y se traducen proteínas víricas a una velocidad excesiva que compromete la viabilidad de las células hospederas conllevando a la necrosis, escenario que propicia la violenta activación del sistema inmune; desde del enfoque fisiopatológico, resulta en dos procesos interrelacionados (Alves et al., 2020; Sánchez Valverde et al., 2021):

1. Efecto citopático directo: resultado de la infección viral, es usual en las primeras etapas de la enfermedad
2. Respuesta inflamatoria no regulada del huésped: predomina en las últimas etapas

Cuando estos dos procesos se ven superpuestos se observa la evolución de 3 estadios de la enfermedad (Alves et al., 2020) que a continuación se menciona.

- Estadio 1 (fase temprana): efecto citopático directo que activa la respuesta inmune innata contra el virus a través de IFN- γ y linfocitos NK, el individuo manifiesta estabilidad clínica con síntomas leves (tos, fiebre, astenia, dolor de cabeza, mialgia) asociado a linfopenia, elevación del dímeros-D y LDH
- Estadio 2 (fase pulmonar): es derivado de la respuesta inmune adaptativa que resulta en la disminución de la viremia, como efecto secundario se da la cascada inflamatoria que puede generar daños tisulares debido a la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-6 e IL-1 β , además de la diferenciación de células Th1 o Th17 que activan posteriormente las células B dirigiéndolas a células plasmáticas secretoras de anticuerpos, además de los síntomas leves se añade la afección respiratoria (disnea), que pueden llegar a condicionar la insuficiencia respiratoria asociada a linfopenia y ligera elevación de la proteína C reactiva (CRP) y transaminasas
- Estadio 3 (fase hiperinflamatoria): es caracterizado por la insuficiencia multiorgánica fulminante aunado al empeoramiento del compromiso pulmonar como resultado de la respuesta inmune no regulada contra la infección que condiciona la tormenta de citocinas.

Al respecto, las citocinas participantes en la tormenta de citocinas, corresponden a citocinas proinflamatorias: TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 las cuales en su conjunto participan en la falla multiorgánica en los individuos con COVID19 activo; cuya participación incluso se observa en los signos y síntomas característicos de esta enfermedad (Alves et al., 2020; Sánchez Valverde et al., 2021).

2.4.1 Síntomas y desórdenes de la COVID-19

La COVID-19 puede observarse de dos maneras, con manifestaciones clínicas específicas abordando desde desórdenes sistémicos con incidencia en fallas respiratorias leves o críticas, como se observa en la figura 3; mientras otros podrían cursar la enfermedad de manera asintomática.

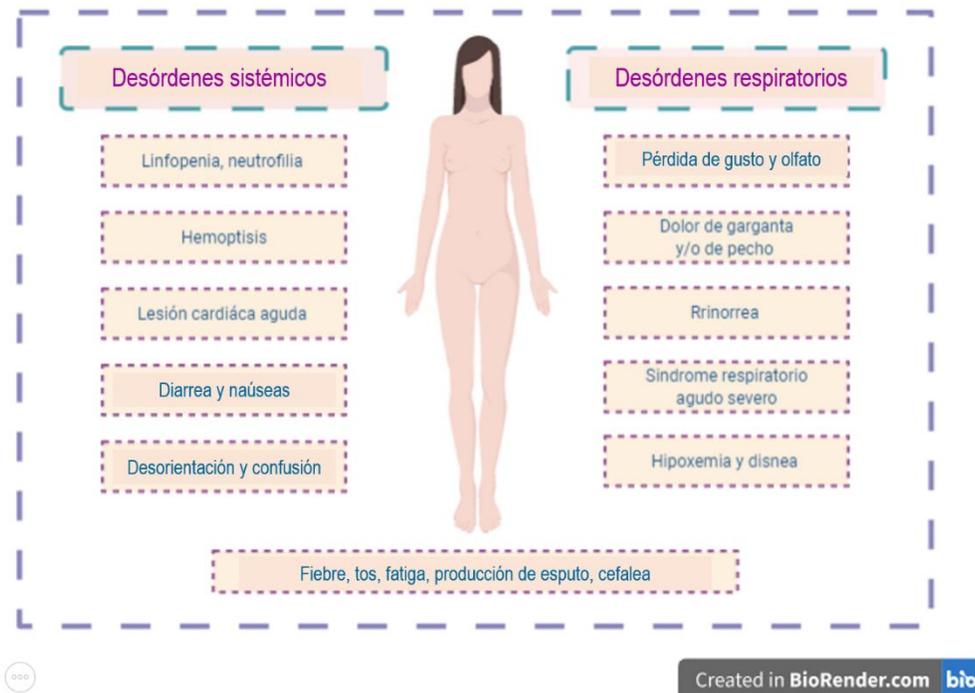


Figura 3. Síntomas y desórdenes sistémicos presentes en la COVID-19.

Los síntomas de la COVID-19 son diversos, algunos se presentan con mayor frecuencia que otros, los más comunes son fiebre, tos, fatiga, producción de esputo, cefalea intensa, en algunos casos se agrega la pérdida total temporal del sentido de gusto y olfato. Algunas personas presentan un cuadro completo gastrointestinal. Se ha reportado un descenso significativo de los niveles en linfocitos y un aumento considerable de neutrófilos.

Dentro de los síntomas más característicos, el 98 % de los individuos infectados presenta fiebre, 76% tos seca, 44% fatiga, 28% producción de esputo y congestión nasal, 8% cefalea intensa. El desarrollo de la enfermedad dependerá de factores de susceptibilidad, el 80% de los individuos desarrollará la enfermedad de manera leve, el 15% desarrollará la enfermedad de manera moderada-grave y menos del 5% la desarrollará de manera crítica que puede llevar al fallecimiento del individuo (Pascarella et al., 2020; Singhal, 2020).

Aunado a los síntomas anteriores, es común que se desarrolle el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) que forma parte de una de las principales complicaciones de los individuos con COVID-19, se manifiesta como inflamación pulmonar causada por daño al tejido alveolar, puede agravar la situación de salud con posibles consecuencias mortales. Además, la tormenta de citocinas es una complicación bastante grave que se asocia a la liberación excesiva e incontrolada de citocinas proinflamatorias durante la infección (Medina et al., 2021).

Desde el punto de vista inmunológico, la COVID-19 se caracteriza por la hiperinflamación sostenida por citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-18, IL-6, TNF- α , IFN- γ), aunado al incremento de estrés oxidativo en respuesta a la infección. En este sentido, ambos procesos son activados a través de la participación de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), una enzima clave en el catabolismo del triptófano (Trp). Algunos metabolitos del Trp se han asociado a la progresión de la enfermedad, así como al desarrollo de post COVID-19 (Almulla, 2022). Al respecto, para monitorear el perfil de los metabolitos antes descritos, es necesario, emplear técnicas analíticas sensibles como la metabolómica.

2.5- Vacunas: SARS-CoV-2

Los reportes estadísticos ante la pandemia COVID-19 mostraron una elevada tasa de letalidad en la población masculina, en México se reportó la más alta a nivel mundial, seguido de Italia, Ucrania, España, Francia y Rusia, además de que la población presentaba factores de riesgo de desarrollar una infección grave ya que eran individuos con comorbilidades como diabetes mellitus, problemas cardiacos e hipertensión (Chakraborty et al., 2023).

La pandemia por SARS-CoV-2, requería la acción rápida y eficaz de moléculas con potencial terapéutico e inmunoterapéutico para el control de la infección. En ese sentido, el desarrollo tecnológico de una vacuna contra SARS-CoV-2 fue imprescindible. En ese sentido y de acuerdo

con la OMS las vacunas son “preparaciones destinadas a generar inmunidad (protección) contra y una enfermedad, estimulando la producción de anticuerpos”, estas preparaciones son administradas a través de un procedimiento médico a la población, a fin de prevenir la enfermedad (OMS, 2021a).

Los estudios previos ante la creación de vacunas para el SARS-CoV y MERS-CoV fueron tomados como base para la creación de las vacunas ante el SARS-CoV-2, ya que también están dirigidas a la glicoproteína Spike y es considerado el objetivo antigénico más importante en estos virus, la proteína S es altamente inmunogénica ya que presenta epítomos pequeños y dominios antigénicos en RBD, es por ello que se le ha tomado como objetivo principal para el desarrollo de las vacunas ante el SARS-CoV-2. Posterior a la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 en China, se publicó en Gen Bank generando la base inmunoinformática para el desarrollo de las vacunas(Chakraborty et al., 2023).

La primer vacuna creada fue mRNA-1273 de Moderna en mayo del 2020, posteriormente Pfizer creó BTN162b2 en colaboración con la compañía alemana BioNTech, estas dos vacunas fueron las primeras en recibir la aprobación inicial por la USFDA (del inglés United States Food and Drug Administration) y EMA (del inglés European Medicines Agency) a finales del 2020, ambas vacunas fueron desarrolladas y aprobadas en aproximadamente 8 meses, lo que se denominó “vacuna desarrollada a velocidad pandemia”(Chakraborty et al., 2023).

Además de esas 2 vacunas, se aprobaron otras alrededor del mundo hasta diciembre del 2022; CoronaVac, BBIBP-CorV, CoviVac, Covaxin, Oxford-AstraZeneca (ChAdOx1 nCoV-19), Sputnik V, Jhonson&Johnson, Convidicea, RDB-Dimer y EpiVacCorona(Chakraborty et al., 2023).

Las vacunas ante el SARS-CoV-2 utilizan diferentes plataformas y estas se pueden dividir en 2 categorías principales: vacunas de virus enteros y vacunas de componentes virales. Las vacunas de virus enteros se dividen en 2 subcategorías: vivo-atenuado e inactivado. Las vacunas de componentes virales se dividen en otras 6 subcategorías: basadas en ADN, basadas en ARN, subunidades proteicas, vectores no replicantes y partículas similares a virus (VLPs) de vectores virales replicantes (Chakraborty et al., 2023; Wong Chew et al., 2021).

Según lo observado, las vacunas inactivadas por calor, irradiadas o químicamente inactivadas pueden perder su inmunogenicidad, por lo que se consideró menos eficiente que las vacunas e plataforma vivo-atenuado (Chakraborty et al., 2023).

Las vacunas aprobadas ante el SARS-CoV-2 utilizaron 4 plataformas distintas(Chakraborty et al., 2023; OMS, 2021a; Wong Chew et al., 2021):

1. Vacunas de ácidos nucleicos: tecnología reciente que usa el ARNm del SARS-CoV-2 que codifica para la proteína de espiga (proteína S) que será reconocido y traducido en las células del hospedero, que posteriormente desencadenará la respuesta inmune y la producción de anticuerpos. Ya que no contiene componentes vivos es una vacuna inocua y no puede generar la enfermedad.
2. Vacunas basadas en vectores virales: sustancia biológica que no contiene antígenos del virus, sino que usa las células del hospedero para producirlos, para la vacuna contra el SARS-CoV-2 se hizo uso de un virus modificado, un adenovirus, para poder introducir en las células del hospedero humano el código genético de la proteína S del SARS-CoV-2, que posteriormente infecta a las células del hospedero y estas producen la proteína S que a su vez desencadena una respuesta inmunitaria.
3. Vacunas con virus vivos atenuados/ inactivados: hace uso del virus SARS-CoV-2 el cual es debilitado, es decir aún puede replicarse, pero no induce la enfermedad o bien su material genético fue deshabilitado por medios térmicos, químicos o radioactivos de modo que aún puedan replicarse en las células hospederas y desencadenar una respuesta inmune contra el virión.
4. Vacunas con subunidades proteicas o acelulares: hace uso de subunidades proteicas del SARS-CoV-2, específicamente de la proteína S que estimula la respuesta inmunitaria del hospedero sin generar la enfermedad.

Las vacunas que la OMS aprobó para ser usada en la población humana son: Pfizer-BioNtech (BNT162b1), Oxford-AztraZeneca (ChadOx1), Johnson & Johnson (Ad26.COV2.S), Moderna (Mrna-1273/83), Sinopharm (BBIBP-CorV) y Sinovac (CoronaVac)(OMS, 2021a).

De las vacunas antes mencionadas, la tabla 2 muestra las referencias principales de las 11 vacunas aprobadas por la OMS (Chakraborty et al., 2023; OMS, 2021a; Wong Chew et al., 2021):

Tabla 2. Vacunas SARS-CoV-2

Plataforma vacunal	Nombre de la vacuna	País de origen	Compañía que la realizó	Eficacia general	Dosificación	Temperatura de almacenamiento °C	Efectos adversos (EA) reportados
Vacunas de ácidos nucleicos	BNT162b1 (ARNm)	USA/ Alemania	Pfizer/BioNTech	94.6%	2 dosis de 0.5ml vía IM 21 días intervalo entre dosis	-70±10	Dolor, hinchazón del área de punción, fatiga, mialgia, escalofrío, artralgia, fiebre
	mRNA-1273/83 (ARNm)	USA	Moderna /NIAID	94.1%	2 dosis de 0.5ml vía IM 28 días intervalo entre dosis	-20±10	Dolor en el sitio de inyección, fatiga, mialgia
Vacuna con vector viral no replicante	ChAdOx1 NCoV-19	Inglaterra	AstraZeneca/Oxford	59.9% hasta 81.3%	2 dosis de 0.5ml via IM 4-12 semanas de intervalo entre dosis	2-8	Fiebre, fatiga, cefalea, mialgias, escalofríos, artralgias y fiebre
	Convidencia (Ad5-nCoV)	China	CanSino Biological Inc	65.7%	1 dosis IM	2-8	Dolor en sitio de aplicación, fatiga, mialgia, cefalea, fiebre.
	Sputnik V (rAd26-S y rAd5-S)	Rusia	Gamaleya	91.6%	2 dosis de 0.5ml IM 21 días días intervalo entre dosis	≤ -18	Enfermedad estilo gripe, reacción en

						sitio de punción, astenia y cefalea.	
	Israel					2-8	Dolor en sitio de punción, fatiga, mialgia, cefalea. Extremo: trombosis trombocitopénica.
Janseen (Ad26.COV2.S)		Johnson&Johnoson	57 hasta 72%	1 dosis vía IM			
Vacuna con virus vivo o atenuado	China						Reacción local en el área de punción: exantema, eritema, induración, mialgia. Reacción sistémica: cefalea, fatiga, mialgia, fiebre, diarrea, escalofríos.
Coronavac		Sinovac	50.6% hasta 91.0%	2 dosis IM 14 días de interdosis			
	India	Sinopharm Group				2-8	Dolor, prurito, edema, hinchazón, fatiga, fiebre, disnea, tos, anorexia, mareos.
BBIBP-CorV		Instituto de Productos Biológicos de Beijing, instituto de productos biológicos de Wuhan.	86.0%	2 dosis via IM de 0.5mL 21 a 28 días intervalo entre dosis			
BBV152	India	Bharat Biotech	N/D	2 dosis 4 semanas intervalo de dosis		2-8	N/D

	CoviVac	Rusia	Academia de Ciencias Rusa	N/D	2 dosis 2 semanas intervalo de dosis	2-8	N/D
Vacunas con subunidades proteicas virales	EpiVacCorona	Rusia	Vector Institute	N/D	2 dosis via IM 21 dias de intervalo entre dosis	2-8	N/D
	ZF2001	China	Academia de Ciencias de China Biologic Pharmacy Co.				

N/D: no disponible

En la tabla 2 se muestra la eficacia general, la dosificación, la temperatura de almacenamiento y los efectos adversos asociados a las vacunas. Al respecto, es importante mencionar que a través de la aplicación de las diversas vacunas, se ha mitigado los casos graves de la COVID19 pero siguen los contagios aún hoy en día. En ese sentido, diversos organismos gubernamentales se han dado a la tarea de cuantificar el número de casos positivos, defunciones a causa de la COVID-19. Del mismo modo, también se han registrado las dosis aplicadas de la vacuna contra el SARS-CoV-2 por zona geográfica. En el siguiente apartado se describe algunos datos epidemiológicos.

3. Epidemiología

El SARS-CoV2, es el agente etiológico de la COVID-19 que detonó en una pandemia, declarada oficialmente por la OMS el 11 de marzo del 2020. Interesantemente, los primeros casos se dieron en la provincia de Wuhan, China desde el mes de diciembre en el año 2019 (Singhal, 2020).

Hasta la fecha de corte propuesta en el presente proyecto, el 27 de agosto del 2023 a nivel mundial la OMS reportó 770, 085, 713 casos positivos de SARS-CoV-2 y 6, 956, 173 defunciones a causa de la COVID-19; mientras a nivel República Mexicana se reportaron hasta el 30 de agosto del presente año, 7, 633, 355 casos positivos de SARS-CoV-2 y 334, 336 defunciones a causa de la COVID-19. Finalmente, a nivel estatal, se reportó hasta el 25 de junio del 2023 un total de 84,133 casos positivos al SARS-CoV-2 y 4, 016 defunciones a causa de la COVID-19. (CONAHCYT, 2023; OMS/WHO, 2023).

Así mismo, hasta el 27 de agosto del 2023, la OMS reportó la administración de 13, 499, 983, 736 dosis de vacunas a nivel mundial; 222, 226, 293 dosis de vacuna a nivel República Mexicana, donde al menos 96, 727,823 personas tienen 1 dosis (CONAHCYT, 2023; OMS/WHO, 2023). Interesantemente, el pasado 05 de mayo del 2023, el Director General de la OMS, manifestó que la COVID-19 a pesar de representar un problema de salud establecido y persistente, no constituye una emergencia de salud pública de importancia internacional (ESPII), debido a esto las plataformas de información epidemiológica respecto a la COVID-19 han cesado de actualizar sus cifras (OMS, 2023).

Por otro lado, distintos autores han reportado que cerca de un tercio (1/3) de la población recuperada de la COVID-19 aún presenta signos y síntomas posteriores a la infección del SARS-

CoV2 que se caracterizan por ser persistentes y similares a los manifestados durante la convalecencia. A continuación, se describen particularidades del post-COVID19.

4. Post COVID-19

De acuerdo con la OMS, la mayoría de las personas que desarrollan la COVID-19 se recuperan por completo; sin embargo, la OMS ha reportado que del 10-20% de la población aún experimenta efectos a medio y largo plazo post recuperación. Por su parte, la OMS a través de la Unidad de Clasificación de Terminologías desarrolló los códigos CIE-10 y CIE-11 para definir “post COVID-19” como resultado de una condición clínica (secuela) en individuos con historial probable o confirmado de infección por SARS-CoV-2 después de los 3 meses posteriores al inicio de la infección con síntomas persistentes durante 2 meses o más. Interesantemente, estos síntomas persistentes no se pueden explicar bajo ningún diagnóstico de enfermedad; algunos de los síntomas más comunes en esta afección son fatiga, disnea, disfunciones cognitivas, cefalea. Esta sintomatología persistente genera impacto en el día a día y funcionamiento del organismo, estos pueden desaparecer/ fluctuar con el tiempo (WHO, 2021).

Dentro de las secuelas con mayor prevalencia post-COVID-19 son: astenia 95.9 %, malestar general 95.5%, cefalea 86.5%, bajo animo 86.2%, dolor muscular 82.8%, disnea 79.3%, dolor articular 79.1%, falta de concentración 78.2%, dolor de espalda 77.7%, presión en el pecho 76.8%, fiebre 75%, ansiedad 75.5%, tos 74.3%, fallo de memoria 72.6%, dolor de cuello 71.3%, diarrea 70.8%, dolor torácico 70.1%, palpitaciones 69.9%, mareos 69.4%, hormigueo 67.3%, boca seca 65.8%, anorexia 64.7%, gases 64.5%, sudoraciones y calores 63%, taquicardias 62.3%, odinofagia 59.7%, anosmia 58.4%, adelgazamiento 56.6%, caída de pelo 56.2%, depresión 54% (SEMG, 2021)

Dentro de las investigaciones realizadas por el Laboratorio de Inmunotoxicología y terapéutica experimental de la Universidad Autónoma de Zacatecas en el proyecto central (Galván-Tejada et al., 2020) “Tamizaje poblacional para la evaluación de la inmunidad colectiva ante SARS-CoV-2-COVID-19 como estrategia de vigilancia epidemiológica” dirigido por la Dra. Irma Elizabeth González Curiel, se obtuvieron resultados que coinciden con la situación vivida en Italia donde se encontró que el 87.4% de los individuos recuperados de la COVID-19 presentaban al menos 1 síntoma recurrente y al menos el 55% presentó 3 o más síntomas, de los cuales destacan la astenia y la disnea. Esto inicia la pauta para describir el estado post- COVID, otros países como China,

Estados Unidos de América, Francia, Irlanda y otros. Se han reportado otros síntomas persistentes que afectan la calidad de vida como; problemas en la salud mental, disgeusia y anosmia. En ese sentido, las investigaciones de grupo de la Dra. Glez.-Curiel son coincidentes con otros autores en cuanto a la presencia de síntomas persistentes en recuperados de la COVID-19 como: tos, disnea, cefaleas, dolor estomacal, mialgia y fiebre (Galván-Tejada et al., 2020)

5. Metabolómica.

La metabolómica estudia sustancias denominadas metabolitos, las cuales están presentes en las células y tejidos, son moléculas pequeñas que se producen cuando el organismo descompone alimentos, sustancias químicas, medicamentos o el propio tejido. Estos metabolitos se pueden encontrar en sangre, orina y otros líquidos del cuerpo, donde son medibles. Algunas enfermedades o factores ambientales (alimentación, medicamentos, sustancias químicas) pueden afectar la forma en la que se elaboran los metabolitos y se usan en el cuerpo. A través de la metabolómica se puede identificar los perfiles metabolómicos involucrados en las distintas enfermedades. Cabe mencionar que el perfil metabolómico consiste en medir aminoácidos, ácidos orgánicos, aminas biogénicas, glicerofosfolípidos, esfingolípidos, azúcares y otros compuesto, como productos finales o intermediarios de alguna vía metabólica para reflejar la fisiopatología de un suceso biológico en la salud o en la enfermedad (Fraser et al., 2020; NCI, 2021; Xu et al., 2021).

Los individuos con infección activa por SARS-CoV-2, presentan un perfil metabolómico alterado respecto a algunos metabolitos importantes como lo son: triptófano, quinurenina, 3-hidroxi-DL-quinurenina, 4-hidroxiprolina, citrulina, carnitina, acetil carnitina, asparagina, ácido glutámico, glutamina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, tirosina, valina, ornitina, taurina, ácido butírico, entre otros (Ansone et al., 2021; Luporini, 2020; Vyavahare et al., 2021).

Al respecto, entre todos los perfiles metabolómicos antes mencionados, el perfil de Trp/IDO/Kyn ha tomado relevancia en los individuos expuestos a SARS-CoV2 de manera natural (enfermos activos y recuperados de la COVID19) y de forma artificial (vacunados). Al ser un posible marcador de severidad y progresión de la enfermedad. A continuación se describen las generalidades y su participación de los metabolitos en la modulación del sistema inmune (Fraser et al., 2020; Méndez et al., 2019; Xu et al., 2021).

5.1 Triptófano

El Triptófano es parte de los 20 aminoácidos esenciales para el buen funcionamiento y orden del organismo, abreviado como Trp el cual debe que ser ingerido en la dieta (carne, huevos, lácteos, frutas, frutos secos, entre otros), es el único aminoácido que se encuentra unido a la albúmina y al transportador de aminoácidos neutros grandes 1 (LAT1-CD98). Por su estructura, Trp es un aminoácido neutro largo (LNAA) como se observa en la figura 4. Los niveles de Trp libre en el

organismo son determinados por la dieta alimenticia y por las actividades de las vías metabólicas. Tiene diferentes funciones en el organismo como bloque de construcción de proteínas, de neurotransmisores y señalización molecular (Cubero, 2006; SOLVO, 2022).

El aminoácido triptófano se cataboliza por 3 vías diferentes, haciendo uso de diferentes enzimas generando diversos productos. La principal vía de metabolismo del triptófano es la vía de la quinurenina (KP) a través de las enzimas triptófano-2,3-dioxigenasa (TDO) que se encuentra en hígado inducida por corticosteroides y por la enzima indolamina-2,3-dioxigensasa que se encuentra en células inmunes y el organismo, es inducida por la presencia de IFN- γ . El metabolismo por estas enzimas da como resultado la quinurenina (Kyn) un metabolito inicial que participa en otros procedimientos metabólicos que donde se generan otros metabolitos que tienen diferentes efectos en el organismo (Badawy & Guillemin, 2019).

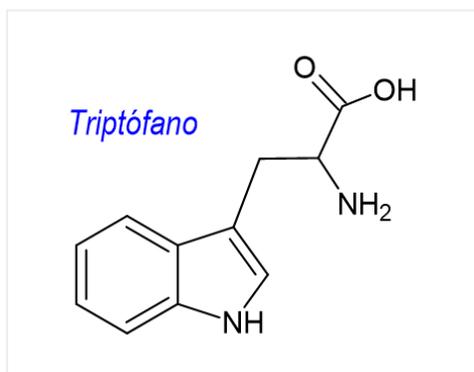


Figura 4. Aminoácido esencial Triptófano (Trp). Nombre IUPAC: ácido 2- amino-3-(1H-indol-3-il) propanoico.

El triptófano, a su vez, juega un papel importante en la regulación del sistema inmune y promueve la diferenciación de las células linfocíticas T reguladoras (T reg CD4+FOXP3+CD25+) cuando se metaboliza hacia Kyn y activa AhR (receptor de arilo) (Ding et al., 2020; Miyajima, 2020).

5.1.1. Metabolismo del Trp

El triptófano es un precursor de distintos metabolitos como: alcaloides, pigmentos y hormonas que se generan a través de diferentes rutas de metabolismo, como: descarboxilación, transaminación, eliminación de piruvato, 5- hidroxilación, prenilación y escisión oxidativa. De estas rutas metabólicas, aquellas que tienen importancia inmunológica se describen a continuación:

(Castellano & Molinier-Frenkel, 2020; Cataldo et al., 2014; Corral, 2013; Cubero, 2006; Platten et al., 2019a).

1. La escisión oxidativa o vía de la quinurenina (KP, del inglés Kinurenine Pathway), llevada a cabo por IDO y la enzima triptófano-2,3-dioxigenasa (TDO), de la cual se obtiene Kyn, se lleva a cabo en un 90% del total del Trp. De la Kyn se obtienen otros derivados metabólicos. La vía de la quinurenina puede seguir y dar como resultado bastantes metabolitos con diferentes funciones. Llevada a cabo en musculo esquelético, hígado, células blancas y células del intestino. En esta vía, IDO se activa cuando en el medio se encuentran bajos niveles de IL-10, niveles altos de IL-6, IL-1, IFN- γ , TNF- α . Por otro lado TDO que se encuentra en hígado se activa por niveles altos de cortisol.
2. La 5-hidroxilación, de la cual se obtienen aminos biológicamente activas como la serotonina y la melatonina, se lleva a cabo en un 5% del total del Trp mediada por la enzima triptófano hidrolasa. Llevada a cabo en células argentinas y entero cromafines del tubo gastro intestinal y en la glándula pineal.
3. La vía de degradación por el microbiota que se lleva a cabo en menos de un 5% del total de Trp mediada por la L-feniloxidasasa (IL4I1) de la cual se obtiene el cetoácido 3-ácido indol acético (IAA), los derivados indólicos tienen acción de estimulación del AhR que estimula la producción de IDO en las células dendríticas. Por otro lado, la microbiota aprovecha los derivados indólicos y en las células linfoides innatas del grupo 3 (ILC3s) estimula la producción de IL-22 que estimula la producción de péptidos antimicrobianos en los enterocitos.

En la figura 7 se observa esquemáticamente las rutas metabólicas del aminoácido Trp que permiten visualizar los productos.

La vía catabólica tiene la función de inducir la respuesta tolerogénica, especialmente en las células T reg. La inanición de Trp sobre las células pueden inducir la regulación de linfocitos T naive CD4+. Esta vía está regulada por citocinas y moléculas inflamatorias como el interferón gamma que induce IDO en las células del sistema inmune (Cubero, 2006; Ding et al., 2020).

En casos de escasez extrema de Trp (menos de 1 μ M) induce acumulación de ARNt sin carga y como consecuencia se activa la vía de la GCN2 que conduce a una supresión de la respuesta en las

células T efectoras y células presentadoras de antígeno (CPA). En ese sentido, asume que las propiedades inmunoregulatoras del Trp son consecuencia de los metabolitos de KP más que por el agotamiento de Trp (Platten et al., 2019a).

5.2 Quinurenina

La quinurenina (Kyn) es un metabolito del aminoácido L-Trp, su estructura se muestra en la figura 5 por el metabolismo a través de IDO/TDO, puede transformarse a diferentes metabolitos con diversas funciones, tiene la capacidad de atravesar barrera hematoencefálica (BHE). Algunos de los metabolitos son: ácido quinolínico (QA), ácido xanturénico (XA), 3-hidroxiquinurenina (3HK), ácido 3-hidroxi-antranílico (3HA), ácido picolínico (PA), ácido quinurénico (KA), ácido antranílico (AA), niacina, nicotinamina adenina nucleotido (NAD) (Almulla, 2022; Ding et al., 2020; Miyajima, 2020).

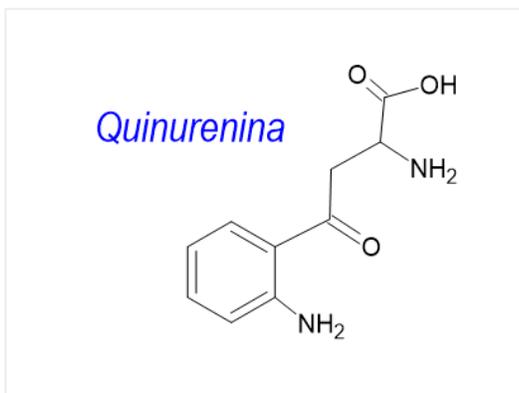


Figura 5. Metabolito de Trp: Quinurenina (Kyn). Nombre IUPAC: ácido 2-amino-4-(2 aminofenil)-4-oxobutanoíco.

Los metabolitos de KP, son regularmente asociados a neurotransmisión, inflamación y respuesta inmune. Algunos de los metabolitos de KP y sus derivados indólicos se unen al receptor de hidrocarburos de arilo (AhR) e inducen la expresión de FoxP3 promoviendo la diferenciación de células Treg FoxP3⁺. El efecto sinérgico entre la disminución de Trp y el aumento de Kyn en el medio inducen la transformación de LTCD4⁺ naive a LTreg (Ding et al., 2020).

Kyn atraviesa BHE y causa efectos fisiopatológicos cerebrales (inflamación, alta producción de ROS y aumento de transmisión de glutamato (Harkin, 2014).

XA y KA tienen propiedades antioxidantes, unidos a Kyn, QA y 3HK tienen propiedades regulatorias en la producción de IFN- γ , algunos otros inducen la apoptosis de Th1 y promueve la diferenciación a Th2 y el aumento de la IL-10. Esto resulta en una retroalimentación negativa que limita la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y disminuye el incremento de la hiperinflamación. (Almulla, 2022).

5.3 Indol amina oxigenasa (IDO)

La indol amina 2,3-dioxigenasa (IDO) es una enzima predominante extrahepática, su estructura se muestra en la figura 6, se encuentra en diferentes células como: macrófagos, microglía, neuronas y astrocitos. Consta de un homólogo; indolamina 2,3 dioxigenasa-2. Es bactericida mediante la degradación del triptófano provocando la muerte del microorganismo. Se relaciona con la inmunosupresión, esta misma situación se lleva a cabo en la tolerancia inmunológica, donde IDO induce una mayor producción de TGF- β e IL-10 (Harkin, 2014).

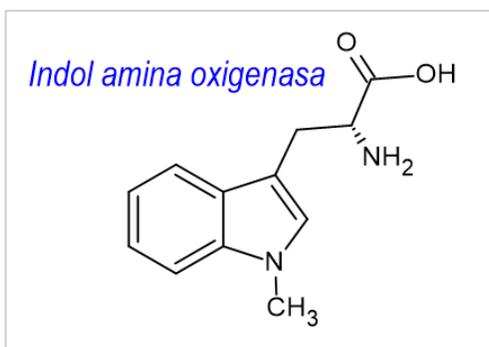


Figura 6. Enzima Indol amina oxigenasa (IDO). Nombre IUPAC: indolamina-2,3-dioxigenasa.

La actividad de IDO puede verse inhibida por 1-metil-triptófano (1-MT), la relación de IDO y las T reg es de tipo bidireccional, es decir, puede inducir la producción de T reg y el incremento de T reg induce la expresión de IDO (Ding et al., 2020; Lionetto et al., 2020).

Dado que IDO es la enzima que por excelencia cataliza Trp en Kyn y sus metabolitos, el nivel de IDO será importante en KP. Durante infecciones, IDO-1 se verá aumentada en células dendríticas y macrófagos y actuará en la KP cuando en el medio se encuentren altas concentraciones de IL-6, IL-1 β y bajas concentraciones de IL-10, y se verá inducida en medios donde haya presencia de

IFN- γ así como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-1 β , CTLA-4, IFNs, corticoesteroides y ligandos AhR, incluidos los metabolitos de Kyn (Ding et al., 2020; Lionetto et al., 2020; Miyajima, 2020; Moreno Calderón et al., 2019; Platten et al., 2019a).

Dado queIDO es una enzima que se encuentra en muy bajas concentraciones y dentro del espacio intracelular, es necesario recurrir a la relación Kyn/Trp como medida de inferencia de la activación y función de la enzima debido a metabolismo que ejerce sobre Trp, se ha realizado ya en estudios in vitro y se usa en estudios in vivo (Almulla, 2022; Badawy & Guillemin, 2019).

Tal como se muestra en la figura 7, Dentro de las rutas metabólicas de interés inmunológico se encuentran la ruta KP que usa el 90% del Trp, la ruta de la 5-Hidroxilación que usa el 5% del Trp, la ruta, degradación por microbiota que usa el 5% del Trp.

La quinurenina puede ser producida en células inmunes. Kyn y sus derivados pueden inhibir a células dendríticas, inducir a los linfocitos T reg e inclinar la respuesta inmune Th2. La KP genera diferentes metabolitos: quinurenina (Kyn), ácido quinurénico (KA), ácido quinolínico (QA), 3-hidroxiquinurenina (3-HK), ácido 3-hidroxi-antranílico (3-HA), ácido xanturénico (XA), ácido picolínico (PA), ácido antranílico. Y otros como nicotinamida dinucleótido (NAD⁺), acetil CoA. En esta vía las enzimas de principal aplicación son el indol amina-2,3-dioxigenasa (IDO) y triptófano-2,3-dioxigenasa (TDO), IDO se expresa cuando en el medio se encuentra IL-6, IL-1, IFN- γ , TNF- α y TDO se expresa cuando en el medio hay cortisol.

La vía 5-Hidroxilación a través del triptófano hidrolasa genera serotonina y está a través de la L-aminoácido aromático descarboxilasa genera melatonina. La serotonina se almacena en plaquetas y células inmunes, tiene acciones antiinflamatorias y atrae leucocitos. La melatonina también puede ser producida en macrófagos, células naturales killer, eosinófilos y actúa como antiinflamatorio, anti apoptótico así como en el apoyo de la fagocitosis mononuclear.

A través del microbiota intestinal se genera el ácido 3-indolacético (IAA), por la acción de la L-aminoácido oxidasa del gen 1 inducido por la IL4 (IL4I1). El IAA es producido en el intestino por el microbiota, induce la proliferación de linfocitos T CD4⁺ a linfocitos T reg

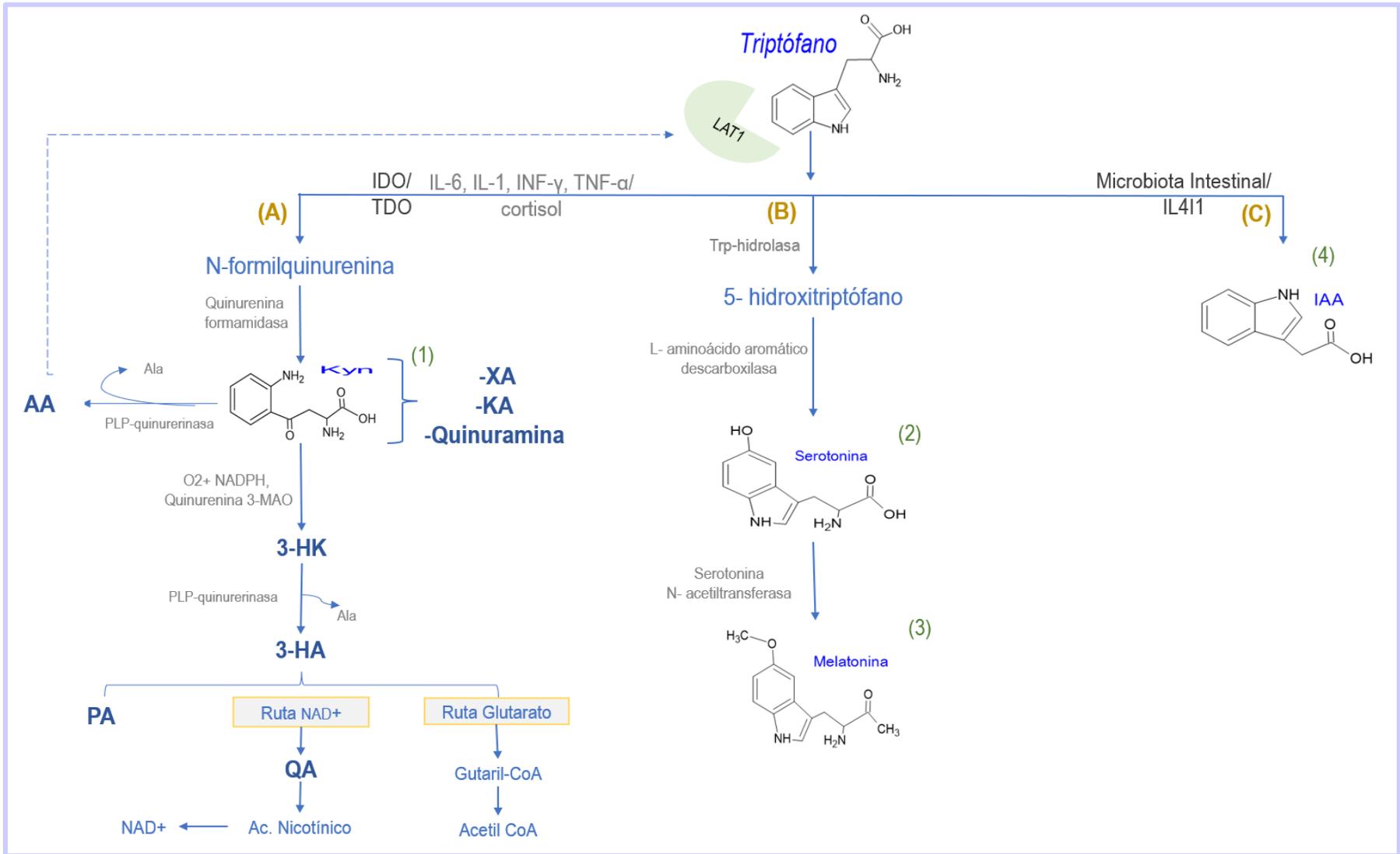


Figura 7. Rutas metabólicas del aminoácido Trp. (Almulla, 2022; Lionetto et al., 2020).

Rutas: (A) KP, (B) 5-Hidroxilación del Trp, (C) metabolismo intestinal del Trp. Vías: (1) metabolismo de Kyn, (2) serotonina, (3) metatonina, (4) IAA. KP (vía de la quinurenina, del inglés Kynurenine Pathway). Metabolitos de la KP: quinurenina (Kyn), ácido quinurénico (KA), ácido quinolínico (QA), 3-hidroxiquinurenina (3-HK), ácido 3-hidroxiantranílico (3-HA), ácido xanturénico (XA), ácido picolínico (PA), ácido antranílico, nicotinamida dinucleótido (NAD⁺). triptófano -2,3-dioxigenasa (TDO), indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO).

5.4 Triptófano, IDO (Kyn/Trp) y quinurenina en COVID-19.

El triptófano funciona como bloque de construcción de las proteínas, así como precursor de neurotransmisores en el cuerpo humano, además de otras funciones en el organismo, sin embargo, cuando el cuerpo se encuentra en un reto inmunológico como lo es una infección o la inoculación artificial (vacuna) el sistema inmune requiere este aminoácido y su metabolismo.

La KP del metabolismo del Trp es activada por citocinas proinflamatorias y mecanismos derivados de la tolerancia inmune, esto propicia el aumento de IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α y ROS que induce la expresión de IDO que funciona como enzima en la vía de Trp a Kyn estimulando AhR y aumentando metabolitos que causan daño, por otro lado también induce la diferenciación de T reg a fin de disminuir la activación de las células Th1 y Th17 (Almulla, 2022).

En individuos activos a COVID-19 se ha reportado la disminución de Trp y el aumento de Kyn y de la relación Kyn/Trp (IDO), especialmente en hombres de mayor edad. Interesantemente, éste aumento se asocia con la gravedad de los síntomas(Almulla, 2022; D'Amora et al., 2021; Lionetto et al., 2021).

La relación Kyn/Trp (IDO) puede ser usada como marcador biológico de la inflamación y/o gravedad de la enfermedad de la COVID-19 activo, además esta relación es usada como medida equivalente a la activación de la enzima IDO, la relación suele ser usada preferentemente en estudios in vitro (Almulla, 2022; D'Amora et al., 2021; Lionetto et al., 2020).

En individuos recuperados de la COVID-19, se ha reportado una desregulación de estos metabolitos, así como también se han asociado a los síntomas post COVID-19, hasta 6 meses después de haber presentado la infección, los más comunes son: fatiga, dolor de cabeza, trastorno de atención, pérdida de cabello y anosmia. Esto se suele asociar a una baja presencia de Trp y un aumento de Kyn e IDO y sus metabolitos quinurénicos (Eroğlu et al., 2021; Lionetto et al., 2021)

En los individuos vacunados se ha observado un comportamiento diferente en cuanto a Trp y Kyn, donde existe un mayor metabolismo del Trp después de la primer dosis de vacunación y un menor metabolismo de Trp en la 2da dosis, por otro lado hay una mayor expresión de Kyn antes de la primer dosis y en el intervalo hacia la 2da dosis (Wang et al., 2022).

6. Planteamiento del problema

La enfermedad por coronavirus (COVID-19) es una enfermedad infecciosa causada por el virus SARS-CoV-2 acompañada de un cuadro clínico de predominio respiratorio caracterizado por una hiperinflamación sistémica estrechamente relacionada con la severidad de la enfermedad. Aunado a lo anterior, es importante mencionar que, existen factores intrínsecos del huésped asociados a la gravedad de la enfermedad en sus diversos estadios, en los que se observan alteraciones del metabolismo por la infección. Al respecto y a través de la metabolómica, es posible la identificación y el análisis de metabolitos claves involucrados en distintas funciones inmunológicas de carácter regulatorio. En ése sentido, el Trp es considerado un aminoácido esencial con funciones de homeostasis en el sistema inmune, que pudieran controlar la hiperinflamación a través de la participación de su metabolito más abundante Kyn y de la enzimaIDO. Diversos autores han reportado que el Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO) sufren alteraciones durante el proceso infeccioso y *a posteriori*. Sin embargo, diversos autores han mencionado que la sintomatología no condiciona la alteración de estos metabolitos. por lo tanto y de acuerdo con la evidencia, no es claro el papel de los metabolitos inmunorreguladores como el triptófano (TRP), la quinurenina (Kyn) y la enzima IDO (Kyn/Trp) en los diferentes estadios de la enfermedad y tras un reto inmunológico como la vacunación.

7.-Pregunta de investigación

¿Existe algún cambio en los niveles plasmáticos de triptófano, quinurenina e IDO en individuos activos a COVID-19, individuos recuperados de COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2?

8. Justificación

La pandemia COVID-19 causada por el SARS-CoV-2 comprometió la estabilidad social, económica, política y salubre de los diferentes países en el mundo y México fue la excepción. La escasa información referente a los temas relacionados a la COVID-19, ha creado incertidumbre en el manejo de esta enfermedad y *a posteriori* de la infección, por ejemplo, el post-COVID19.

En este sentido y bajo la premisa de que, la COVID-19 es una enfermedad de etiología infecciosa con una respuesta inmune exacerbada que ha sido propuesta como un mecanismo de deterioro en la salud de los sujetos infectados con impacto en los productos del metabolismo y más allá de los cambios en el sistema inmune, aún se conoce muy poco sobre las alteraciones a nivel metabólico que ocurren durante y después de la infección. Al respecto, el presente proyecto se centró en el uso de la metabolómica como herramienta imprescindible para determinar los cambios plasmáticos del triptófano (Trp), la quinurenina (Kyn) y la enzima IDO (Kyn/Trp). En ese sentido y a través del análisis inmunometabólico dirigido, de tipo semicuantitativo se podría dilucidar las alteraciones de la vía del Trp (KP) en los diferentes estadios de la enfermedad incluso en aquellos que han sido vacunados, lo anterior permitirá establecer un panorama general del proceso inmunometabólico de la COVID-19 leve, en activos y recuperados con posible post- COVID-19 y en vacunados ante el SARS-CoV-2.

9. Hipótesis

Los niveles plasmáticos de triptófano, quinurenina e IDO se encuentran aumentados en los individuos activos, recuperados de la COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2 en comparación con los sujetos control. Adicionalmente, este incremento se relaciona con los factores intrínsecos (sexo biológico, edad y IMC) y la sintomatología persistente.

10. Objetivos

10.1. Objetivo general

Determinar los niveles plasmáticos de triptófano, quinurenina e IDO en individuos activos COVID-19, recuperados de la COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2 por UPLC-MS y analizar el efecto de las variables biológicas, antropométricas y sintomatológicas sobre los niveles plasmáticos determinados.

10.2. Objetivo específico

1. Determinar y analizar los niveles plasmáticos (AUC) de triptófano, quinurenina en individuos control prepandémicos, activos y recuperados de la COVID19, así como vacunados ante el SARS-CoV-2 por UPLC-MS para dilucidar si se cumple la homeostasis inmunológica.
2. Analizar los niveles plasmáticos (AUC) de la relación Kyn/Trp como medida de inferencia para Indolamanina 2,3-dioxigenasa (IDO) en individuos control prepandémicos, activos y recuperados de la COVID19, así como vacunados ante el SARS-CoV-2 por UPLC-MS para monitorear la activación de la vía del Trp hacia Kyn.
3. Correlacionar los niveles plasmáticos de triptófano respecto a quinurenina para dilucidar funciones indirectas de inmunorregulación en individuos activos, recuperados de la COVID19, controles y vacunados ante el SARS-CoV-2
4. Analizar el efecto de las variables biológicas y antropométricas sobre triptófano, quinurenina y la relación Kyn/Trp (IDO) en individuos control prepandémicos, activos COVID-19, recuperados de la COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2, como medida de inferencia sobre el papel de los factores intrínsecos.
5. Analizar el efecto de la sintomatología sobre triptófano, quinurenina y la relación Kyn/Trp (IDO) en individuos control prepandémicos, activos COVID-19, recuperados de la COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2.

11. Metodología

El presente proyecto, el cual es de tipo observacional, se derivó del proyecto original denominado “Tamizaje poblacional para la evaluación de la inmunidad colectiva ante SARS-CoV2-COVID-19 como estrategia de vigilancia epidemiológica” el cual, ha sido aprobado por el Comité de Investigación (COFEPRIS 19-CI-32-056-045) y por el Comité de Ética en Investigación (CONBIOÉTICA 32-CEI-2018927), obteniendo el registro CI-UAE-08-2020 y 060-CEI-UAE-UAZ/2020, respectivamente. El proyecto se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios de Inmunotoxicología de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

De manera previa, se cuantificaron los niveles de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 (anti-N-IgG) en individuos control, contacto y recuperados, quienes desearon participar voluntariamente. Los individuos que decidieron participar firmaron una CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO, posterior a ello contestaron un cuestionario que evalúa sus condiciones sociodemográficas y clínicas. Además, se les tomó datos biométricos (presión diastólica y sistólica -mmHg-, masa corporal -Kg-, circunferencia de cintura y cadera -ICC-).

11.1. Tipo de estudio

Retrospectivo, Transversal, descriptivo.

11.2. Captación de participante y muestra biológica.

Las muestras se tomaron del biobanco del Laboratorio de Inmunotoxicología de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y del biobanco de muestras del Laboratorio de Metabolómica Clínica de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas.

Se incluyó un total de 94 muestras y se realizó una primera clasificación de los participantes entre “no expuestos al SARS-CoV-2” (controles) y “expuestos al SARS-CoV-2” (activos, recuperados y vacunados), donde el 2do grupo se subclasificó respectivamente (Activos-COVID-19, recuperados COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2).

Cada individuo cumplió con los siguientes criterios de inclusión mostrados en la tabla 3.

Tabla 3. Criterios de inclusión de los grupos de estudio.

Criterios de inclusión	Grupo 1, controles, n = 20	Grupo 2, activos-COVID-19, n= 22	Grupo 3, recuperados COVID-19, n=32	Grupo 4, vacunados SARS-CoV-2, n=22
PCR	Negativa	Positiva	Positiva al momento de la infección y presentarla al momento de toma de muestra	Negativa
Sexo	Indistinto	Indistinto	Indistinto	Indistinto
Edad	18-50	18-50	18-50	18-50
Vacunación COVID-19	No	No	No	Si
Infecciones diferentes a SARS-CoV-2	No	No	No	No
Carta de consentimiento	Firmada	Firmada	Firmada	Firmada
Comorbilidades	Ninguna	Aceptable si: DMT2, HA, EPOC, enfermedad cardiaca, transplante, lupus, enfermedad renal, asma, embarazo.	Aceptable si: DMT2, HA, EPOC, enfermedad cardiaca, transplante, lupus, enfermedad renal, asma, embarazo.	Aceptable si: DMT2, HA, EPOC, enfermedad cardiaca, transplante, lupus, enfermedad renal, asma, embarazo.
Semanas de recuperación	N/A	N/A	Mínimo 3 semanas después del inicio de los síntomas	N/A
Presencia de síntomas	N/A	N/A	Mínimo 2 síntomas	N/A

N/A: no aplica.

Tabla 4. Criterios de no inclusión de los grupos de estudio.

Criterios de no inclusión
Infecciones respiratorias (faringitis bacteriana y/o viral) diferentes a COVID- 19.
Historial clínico con síntomas claramente compatibles con COVID-19 cuando la prueba PCR no haya sido realizada
No haber firmado la carta de consentimiento informado
Presentar enfermedades autoinmunes

Tabla 5. Criterios de eliminación

Criterios de eliminación
Problemáticas durante la toma de biopsia líquida (colección incompleta).
Imposibilidades en el procesamiento de muestra.
No haber firmado la carta de consentimiento informado

11.3. Tipo de ensayo

El presente proyecto se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Inmunotoxicología de la UACQ y en el Laboratorio de Metabolómica Clínica de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la UAZ; en este último se llevó a cabo el procesamiento de la muestra a través de cromatografía líquida de ultra desempeño acoplado a espectrometría de masas (por sus siglas en inglés, UPLC-MS)

Se utilizó metabolómica semicuantitativa dirigida para identificar y determinar los niveles plasmáticos de 2 metabolitos (Trp y Kyn) en plasma humano. El aminoácido y su metabolito se analizaron mediante un ensayo personalizado de cromatografía líquida de fase inversa acoplado a espectrometría de masas (LC-MS)/MS. Se utilizaron reactivos y disolventes grado HPLC.

11.3.1 Preparación de muestras para UPLC-MS

Para el análisis de aminoácidos, se añadieron 150 µL de acetonitrilo frío (marca HONEYWELL, grado LC-MS) y 10 µL de mezcla estándar interna marcada (Trp -D5, a una concentración de 2 µg/mL) a 50 µL de cada muestra biológica (plasma) para precipitación de proteínas en fase líquida durante 24 horas a -20°C, seguido de centrifugación a 13, 000 rpm por 20 minutos. Se recuperó aproximadamente 100 µL del sobrenadante y se llevó a centrifugación-vacío para componentes orgánicos-acuosos. Se desechó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió en 200 µL agua-MQ

adicionada con el 0.1% de ácido fórmico (HONEYWELL, grado LC-MS). Se cargó un total de 200 μ L en cada vial para la placa de 96 pocillos. Simultáneamente, se prepararon los controles de calidad (QC), mezclando cantidades iguales (20 μ L) de cada muestra (plasma) perteneciente a un mismo grupo de estudio, se le dio el mismo tratamiento que a la muestra.

11.3.2 Método Cromatografía líquida de ultra desempeño acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS)

Las muestras se analizaron en un equipo ACQUITY UPLC (Waters, Manchester, NH, USA) acoplado a un espectrómetro de masas XEVO-G2 XS, cuadrupolo con tiempo de vuelo (TOF) (Waters, Manchester, NH, USA) con fuente de ionización por electrospray (ESI). La separación de las diferentes clases de metabolitos se realizó utilizando una columna Agilent, ZORBAX Eclipse XBD-C18 (3.0 x 100mm, 3.5 micron) P.N 961967-302. La fase móvil A: agua Mili-Q suplementada con ácido fórmico al 0.1%; y B: acetonitrilo grado MS suplementado con ácido fórmico al 0.1%.

La fase móvil fluyó a una velocidad de flujo de 0.5 mL/min, inicialmente con 99% de A, seguido de un gradiente lineal a 95% durante 3.5 minutos, posteriormente el porcentaje de A se disminuyó a 5% en un tiempo de 5.5 min y se mantuvo por 7 min, el porcentaje de A aumentó a un 99% y se mantuvo hasta finalizar los 11.5 min.

La temperatura de la columna se ajustó a 50°C. El volumen de inyección fue de 1 μ L. El espectrómetro fue operado en modo ionización positiva y en modo MSE en el rango de m/z 50-600, con un tiempo de adquisición de 0.2 segundo por intervalo. Se utilizó una energía de colisión de 10 eV con gas argón como gas de colisión.

La temperatura de la fuente fue de 120°C, la temperatura de desolvatación y flujo de gas (nitrógeno) de 550°C y 800 L/h, respectivamente.

Para el análisis MRM se utilizaron las siguientes transiciones mostradas en la tabla 6.

Tabla 6. Transiciones en MRM.

Nombre	Masa precursora (m/z)	Producto en masa (m/z)	Tiempo de inicio (min)	Tiempo de final (min)	Collision Energy
Trp	205.0900	188.0700	0.50	9.50	10.00eV
Trp D5	210.1200	192.0900	0.50	9.50	10.00eV
Kyn	209.0920	146.0600	0.50	9.50	10.00eV

Como sustancia de referencia para mediciones de masa precisas se utilizó leucina encefalina (preparación; 200 pg/μL en solución acetonitrilo:agua (50:50, v:v) adicionada con ácido fórmico al 0.1%) y para la calibración del equipo, se utilizó formiato de sodio 0.5 mM.

Se inyectaron tres réplicas de cada control de calidad al inicio de la corrida y posteriormente se intercaló un control de calidad cada 15 muestras inyectadas, para garantizar reproducibilidad del equipo.

11.3.3 Cuantificación

Para cuantificar el aminoácido y su metabolito se realizó una curva de calibración individual de 7 puntos para el aminoácido triptófano (2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.312, 0.156 μg/ mL) $Y=0.8015*X-0.1028$; $R^2=0.9375$ y de 14 puntos para el metabolito Kyn (8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.312, 0.156, 0.0078, 0.0039, 0.0019, 0.00096 μg/ mL) $Y=1.424*X-0.02950$; $R^2=0.9929$. La relación para la intensidad de la señal de cada analito con respecto al estándar interno Trp-D5(triptófano Deuterado-5) se trazó contra las concentraciones específicas conocidas mediante el método del estándar interno, los gráficos se encuentran en material suplementario.

Los estándares se prepararon colocando 1mg del reactivo correspondiente en 1000 μL de agua MQ adicionada con el 0.1% de ácido fórmico y se realizaron diluciones seriadas hasta alcanzar las concentraciones para la curva de calibración.

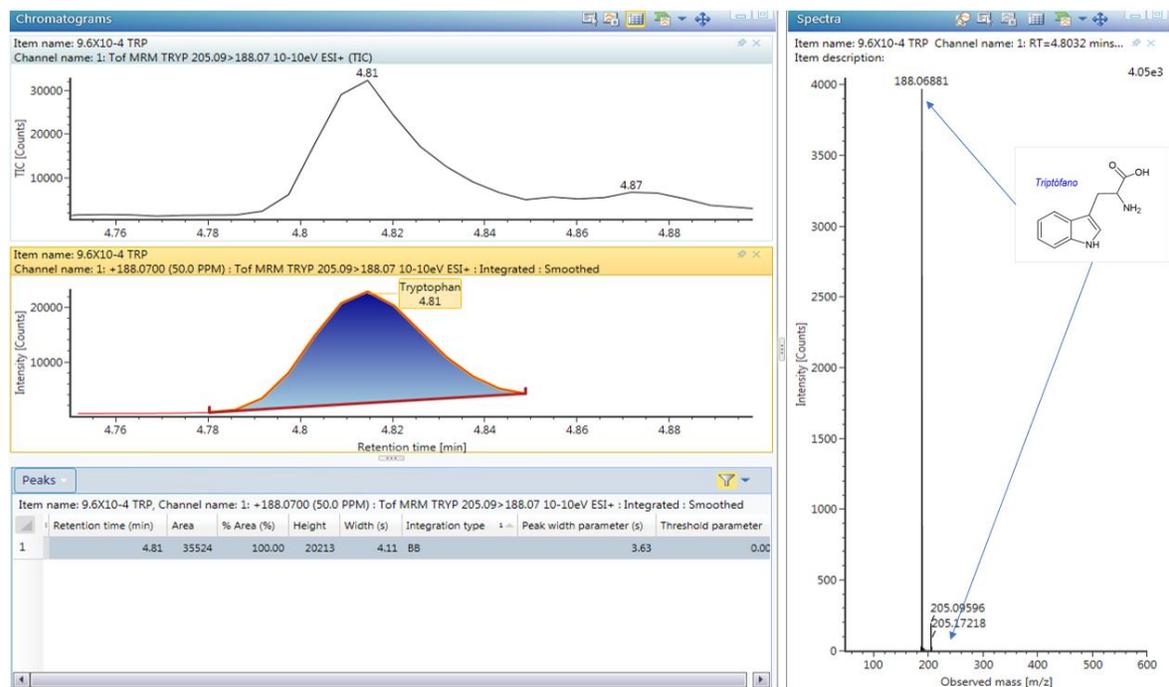


Figura 8. Cromatograma y espectro del aminoácido triptófano (Trp). Tiempo de retención del Trp que muestra el cromatograma; 4.80 min. el espectro muestra el fragmento previsto (188.067) y m/z previsto (205.085).

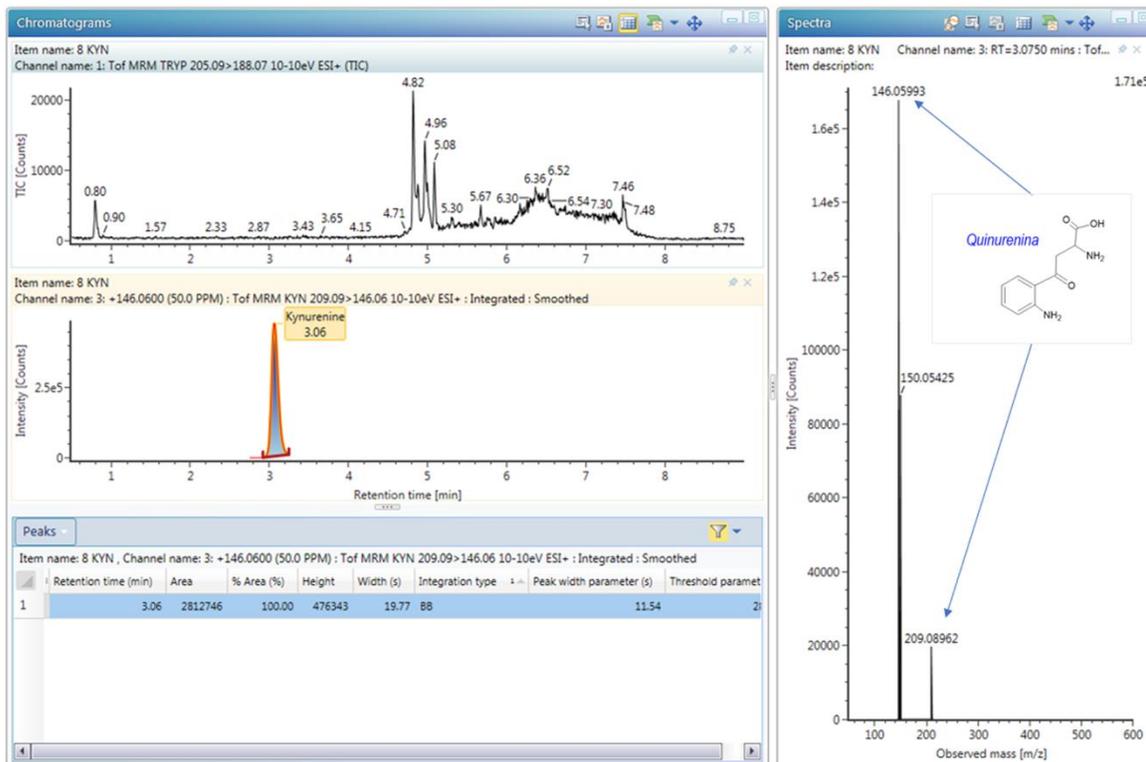


Figura 9. Cromatograma y espectro del metabolito quinurenina (Kyn). Tiempo de retención de la Kyn que muestra el cromatograma: 3.00 min. El espectro muestra el fragmento previsto (146.057) y m/z previsto (209.089).

11.3.4 Validación del método

La validación del método se realizó a través del método del estándar interno así como la determinación de la linealidad en las curvas de calibración con una $R^2 > 0.90$, a partir de las curvas de calibración se determinó el límite de detección (LOD) para Trp (0.1878 $\mu\text{g/mL}$) y Kyn (0.1089 $\mu\text{g/mL}$) así como el límite de cuantificación (LOQ) para Trp (0.3267 $\mu\text{g/mL}$) y Kyn (0.3148 $\mu\text{g/mL}$), respectivamente.

11.4 Análisis estadístico.

Los datos se procesaron a través de diferentes programas estadísticos programas Graphpad Prism versión 8.0.1 e IBM SPSS versión 22. Se evaluó la normalidad de los datos a través de las pruebas Shapiro-Wilk, D'Agostino-Pearson y Anderson-Darling según la n en los diferentes análisis realizados. Para las variables continuas, se realizó estadística descriptiva de los grupos de estudio, se reportaron los datos paramétricos como promedio \pm desviación estándar y los no paramétricos

como P₅₀ (P₇₅-P₂₅); la diferencia de medias se realizó a través de la prueba T de student para datos paramétricos y/o una prueba U de Mann Whitney para datos no paramétricos. Adicionalmente, se aplicó un análisis univariado (ANOVA) de Kruskal Wallis seguido de un post-test de Dunn's y se realizaron correlaciones de Pearson para datos paramétricos y de Spearman para datos no paramétricos. Para el análisis de las variables categóricas se usó una Prueba de Fisher para las tendencias, con una significancia de $p \leq 0.05$. Finalmente, se realizaron gráficos de análisis discriminante parcial de mínimos cuadrados (PLS-DA) para comparar los datos de metabolitos plasmáticos entre los grupos de estudio, este análisis se realizó utilizando el programa estadístico Metaboanalyst 5.0. Los datos con más del 50% de los valores faltantes se excluyeron del análisis estadístico.

12. Resultados

12.1 Variables sociodemográficas y antropométricas

Se procesaron un total de 94 muestras para este estudio pertenecientes a 20 individuos control, 20 individuos activos COVID-19, 32 individuos recuperados COVID-19 y 22 individuos vacunados contra el SARS-CoV-2; cada uno de los grupos se comparó con el grupo control.

Respecto a la variable sociodemográfica que corresponde a la edad (tabla 7) en el grupo control, la mayoría de los individuos se encuentran entre los 27-35 años (25%); en el grupo de activos COVID-19 se encuentran entre los 54-62 años (50%), en el grupo de recuperados de la COVID-19 se encuentran entre los 27-35 años (31.25%) y en el grupo de los vacunados-vs-SARS-CoV-2 se encuentra entre los 18-26 años (37.5%).

Tabla 7. Variable sociodemográfica edad.

Edad (n/%)*	Variable sociodemográfica			
	I. control (n=20)	Activos COVID-19 (n=20)	Recuperados COVID-19 (n=32)	Vacunados COVID-19 (n=22)
18-26	4(20%)	0	2(6.25%)	12 (37.5%)
27-35	6 (30%)	0	10 (31.25%)	4(12.5%)
36-44	5(25%)	4(20%)	7 (21.87%)	5 (15.62%)
45-53	3(15%)	5(25%)	7 (21.87%)	1 (3.12%)
54-62	1 (5%)	11 (50%)	5 (15.62%)	0
63-71	1 (5%)	0	1 (3.12%)	0
72-80	0	0	0	0
Estadística descriptiva	34.00 (44.74-27.50)‡	37.15 ± 11.56#	38.00 (49.75-33.00)‡	29.82 ± 7.95#
Total	20 (100%)	20 (100%)	32 (100%)	22 (100%)

*Se presenta el resultado en proporción. #Los datos con comportamiento paramétricos son representados como media ± DS; mientras aquellos con comportamiento no paramétricos se representan como P₅₀(P₇₅-P₂₅)‡

En relación a la variable sociodemográfica sexo (tabla 8) en el grupo de los individuos control predomina el sexo femenino (70%), en el grupo de los individuos activos COVID-19 no predomina ningún sexo en cuanto a femenino y masculino (50%-50%), en el grupo de recuperados COVID-

19 predomina el sexo femenino (56.3%) y en el grupo vacunados-vs-SARS-CoV-2 predomina el género masculino (63.4%).

Tabla 8. Variable sociodemográfica sexo.

Sexo	I. control (n=20)	Variables sociodemográficas		
		Activos COVID-19 (n=20)	Recuperados COVID-19 (n=32)	Vacunados (n=22)
Femenino (n/%)*	14 (70%)	10 (50%)	18 (56.3%)	8 (36.4%)
Masculino (n/%)*	6 (30%)	10 (50%)	14 (43.8%)	14(63.4%)
Total	20 (100%)	20 (100%)	32 (100%)	22 (100%)

*Se presenta el resultado en proporción

Las variables antropométricas que mostraron un comportamiento paramétrico desde el punto de vista estadístico fueron: estatura, masa corporal, circunferencia cintura, circunferencia cadera, presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), pulso, índice de masa corporal (IMC) mientras la índice cintura cadera (ICC) y las semanas de recuperación mostraron un comportamiento no paramétrico. En ese sentido y al momento de aplicar las pruebas estadísticas, la variable de estatura (m) mostró cambios estadísticamente significativos en grupo control (1.63 ± 0.105) respecto al grupo vacunados (1.72 ± 0.320) obteniendo un valor de $p=0.026$. Adicionalmente, esta misma variable mostró diferencias estadísticamente significativas en el grupo de recuperados (1.65 ± 0.09) respecto al grupo vacunados (1.72 ± 0.320) obteniendo un valor de $p =0.0315$. Respecto a las variables antropométricas definidas como masa corporal, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera, I.C.C, PAS, PAD e IMC, no mostraron cambios estadísticamente significativos en los diferentes grupos analizados. Sin embargo, esta estimación podría ser confusora por que en algunos grupos no se contó con la información requerida. La información antes descrita se puede observar en la tabla 9.

Tabla 9. Variables antropométricas

Variable	Variables antropométricas							
	I. Control	IC 95%	Activos COVID-19	IC 95%	Recuperados COVID-19	IC 95%	Vacunados	IC 95%
^{+/-} Estatura (m)	1.63 ± 0.105	(1.57 – 1.69)	-	-	1.65 ± 0.90	(1.62-1.68)	1.72 (1.80-1.64)	(1.64-1.800)
⁺ Masa corporal (Kg)	70.20 ± 14.62	(62.11 – 78.29)	-	-	80.75 ± 12.77	(27.13- 32.79)	80.89 ± 15.61	(73.20- 92.10)
⁺ Circunferencia de cintura (cm)	-	-	-	-	98.30 ± 12.17	(93.38 – 103.2)	91.25 ± 12.28	(85.00- 100.00)
⁺ Circunferencia de cadera (cm)	-	-	-	-	108.0 ± 9.978	(104.3-111.6)	105.0 ± 9.85	(97.50 – 110)
⁻ I.C.C (riesgo)	-	-	-	-	0.884 (0.9842-0.8053)	(0.80- 0.95)	0.8559 (0.9473-0.7900)	(0.79-0.945)
⁺ PAS (mmHg)	-	-	-	-	123.2 ± 14.34	(118.0-128.4)	116.0 ± 13.94	(105.0- 128.0)
⁺ PAD (mmHg)	-	-	-	-	79.78 ± 9.04	(76.53-83.04)	77.55 ± 8.86	(70.00-86.00)
⁺ Pulso (latidos por minuto)	-	-	-	-	77.22 ± 12.28	(71.91 - 82.53)	-	
⁻ IMC (m ² /Kg)	25.91 ± 4.88	(78.84 - 89.36)	-	-	29.86 ± 4.9	(93.38-103.2)	27.21 ± 4.32	(25.77- 30.75)
- Semana de recuperación	N/A	-N/A	-N/A	-N/A	5 (8.0-4.0)	(5.076- 7.236)	20 (20.00-4.00)	(2.905-33.67)

Los datos que tuvieron un comportamiento paramétrico (+) son expresados como media ± desviación estándar, mientras que aquellos con comportamiento no paramétrico (-) datos no paramétricos se muestran como P50 (P75 - P25). ICC: índice cintura cadera, IMC: índice de masa corporal, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, DMT2: diabetes mellitus tipo 2. N/A: no aplica Con una P<0.05

Respecto a las variables clínicas – patológicas como se muestra en la tabla 10, en el grupo control se observó, la presencia de HA (5%), asma (5%) y tabaquismo (25%). En el grupo de los recuperados se encontró que el 15.62% padecían HA, DMT2 (6.25%), asma (6.25%), hipotiroidismo (6.25%) y consumo de tabaco (18.75). En el grupo vacunados vs- SARS-CoV-2 se observó la presencia de HA (9.1%). Finalmente, no se realizó el análisis de proporciones en el grupo de activos debido a que no se contaron con los datos disponibles.

Tabla 10. Características clínico-patológicas de los grupos.

	Grupo Control (n=20)	Grupo activos (n=20)	Grupo Recuperado COVID-19 (n=32)	Grupo vacunados- SARS-CoV-2 (n=22)
DMT2 (n(%))	0(%)	-	2 (6.25%)	0(%)
Enfermedad cardiaca (n(%))	0(%)	-	-	0(%)
HA (n(%))	1(5%)	-	5 (15.62%)	2(9.1%)
Cáncer (n(%))	0(%)	-	1 (3.12%)	0(%)
Asma (n(%))	1(5%)	-	2 (6.25%)	1(4.54%)
Embarazo	0(%)	-	-	0(%)
Trasplante	0(%)	-	-	0(%)
Lupus	0(%)	-	-	0(%)
Hipotiroidismo	0(%)	-	2 (6.25%)	0(%)
Esplenectomía	0(%)	-	1 (3.12%)	0(%)
Gota	0(%)	-	1 (3.12%)	0(%)
Hernia hiatal	0(%)	-	1 (3.12%)	0(%)
Consumo de tabaco	5 (25%)	-	6 (18.75%)	0(%)

Se presenta el resultado en proporción. DMT2: diabetes mellitus tipo 2, HA: hipertensión arterial.

Las variables clínicas de laboratorio pueden ayudar a esclarecer el panorama del transcurso de la infección así como hacer un pronóstico de la gravedad de la misma, algunos autores han evidenciado que la infección por SARS-CoV-2 puede reflejarse desde ligeras alteraciones en el hemograma hasta cambios que pueden indicar desbalances homeostáticos asociados a falla multiorgánica (Lopez & Mazzuco, 2020). En la tabla 11 se muestra los resultados de las variables clínicas de laboratorio en respuesta a la infección por SARS-CoV-2. Es importante aclarar que los datos no están disponibles para los individuos control, recuperados COVID-19 y vacunados ante el SARS-CoV-2, únicamente están disponibles para los individuos activos-COVID-19. Se observa un aumento marcado en los leucocitos (H: 8.58 ± 2.25), M: 5.65 (7.17-4.97) y en los niveles glucémicos (H: 119.5 ± 24.53). Este resultado es esperado debido a que se trata de una infección viral y las células del sistema inmune son esenciales para combatir y contener la infección aunado con alta demanda energética (Lopez & Mazzuco, 2020).

Tabla 11. Variables de laboratorio en COVID-19.

Variable	Control (n=20)	Activos (n=20)	Recuperados (n=32)	Vacunados (n=22)	Valor de referencia en la literatura	Referencia
Hemograma (serie roja)						
Eritrocitos (millon/ml)	N/D	H: 5.38 ± 0.56 M: 5.17 ± 0.374	N/D	N/D	H:4.1 – 6.0 M: 3.9 – 5.5	(IMSS, 2022; López-Santiago, 2016; Pablo Díaz Piedra et al., 2012; Rodríguez de Cossío & Rodríguez Sánchez, 2011)
Hemoglobina (g/dL)	N/D	H: 15.62 ± 1.22 M:15.20 (15.38- 14.00)	N/D	N/D	H: 14- 17.5 M: 12.3 – 15.3	
Plaquetas (miles/ml)	N/D	H: 358.0 ± 114.2 M: 249.5 ± 87.73	N/D	N/D	H y M: 150-450	
Recuento leucocitario (serie blanca)						
Leucocitos ($10x^3$)	N/D	H: 8.58 ± 2.25 M: 5. 65 (7.17-4.97)	N/D	N/D	0.94- 4.80	(Rodríguez de Cossío & Rodríguez Sánchez, 2011)
Linfocitos (%)	N/D	H: 21.16 ± 12.73 M: 28.30 ± 10.74	N/D	N/D	21.0-48.0	
Monocitos (%)	N/D	H: 5.84 ± 2.74 M: 7.76 ± 2.132	N/D	N/D	2.0 – 8.0	
Neutrófilos (%)	N/D	H: 71.52 ± 14.56 M: 63.22 ± 12.23	N/D	N/D	34.74- 74.0	
I NL	N/D	H: 5.65 ± 4.66	N/D	N/D	1.5-3	

		M: 2. 69 ± 1.51				
Clínica						
Glucosa (mg/dL)	N/D	H: 119.5 ± 24.53 M: 99 (158.8-92.00)	N/D	N/D	≤ 99	(CDC, 2022b)

H: hombre, M: mujer. Datos paramétricos se muestran como media± D.S, datos no paramétricos se muestran como P₅₀ (P₇₅ - P₂₅).

12.2 Análisis de triptófano (Trp)

Los siguientes figuras y tablas corresponden al primer objetivo del presente proyecto, se muestran los resultados de los niveles plasmáticos de Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO) como medida de inferencia para la enzima IDO en los 4 grupos de estudio; para empezar, es importante recordar que el triptófano (Trp) es un aminoácido esencial que lleva a cabo diversas funciones, entre ellas, forma parte del bloque de construcción de proteínas, así como base de neurotransmisores y participa en la activación del sistema inmune. Al respecto, el Trp juega un importante papel en la regulación y contribuye a la diferenciación de las células T reg y como consecuencia controla la activación de las células T efectoras; es importante mencionar que los niveles plasmáticos pueden estar sujetos a la dieta alimenticia de cada individuo participante (Ding et al., 2020; Miyajima, 2020; Platten et al., 2019b).

En la figura 10.a) se muestra el gráfico de los resultados clasificados como expuestos al SARS-CoV2 contemplando todos los individuos con la enfermedad en etapa activa, recuperados y vacunados, respectivamente; mientras que los no expuestos al SARS-CoV2 se consideraron los plasmas de individuos pre-pandémicos a los cuales se les denominó el grupo control. Los resultados muestran que ambos grupos poseen niveles plasmáticos similares debido a que no hubo cambios estadísticamente significativos ($p= 0.5615$). Posteriormente, se decidió analizar si el estadio de la enfermedad pudiera afectar dichos niveles; para ello, se estratificó el grupo de expuesto al SARS-CoV2 como grupo activo, grupo de recuperados y grupo de vacunados-vs-SARS-CoV-2. En la figura 10.b) se muestra el gráfico que permite observar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los niveles plasmáticos de Trp, sugiriendo que el estadio de la enfermedad no influye en los niveles del Trp.

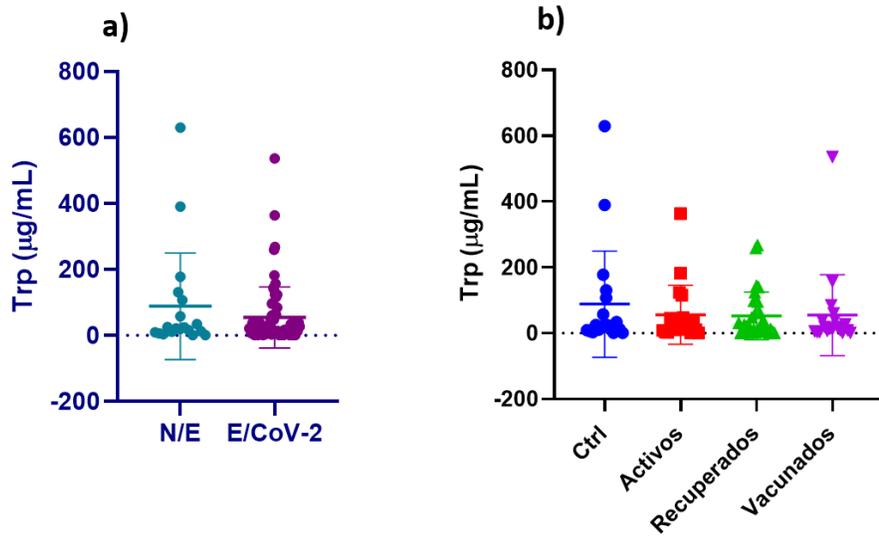


Figura 10. Niveles plasmáticos de triptófano (Trp). a) Niveles plasmáticos de Triptófano en N/E y E-SARS-CoV-2. b) Niveles plasmáticos de Trp en los diferentes estadios de la enfermedad que comprende, activos (n=20), recuperados (n=32) y vacunados (n=22). N/E: no expuestos al SARS-Cov-2 y E-SARS-CoV-2: expuesto al SARS-CoV-2. Se aplicó un test de U de Mann-Whitney para comparar N/E vs E-CoV-2 y se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$.

12.3 Análisis de quinurenina (Kyn).

La quinurenina (Kyn) es uno de los metabolitos más abundante del triptófano (90-95%), el cual es metabolizado por la enzima IDO. El Trp es metabolizado hacia Kyn dependiendo de la condición fisiológica, es decir, los metabolitos están asociados a la neurotransmisión, la inflamación y otros mecanismos inmunológicos (Ding et al., 2020; Harkin, 2014; Platten et al., 2019a).

En la figura 11 se muestra el gráfico con los resultados de los niveles plasmáticos de Kyn en la clasificación antes mencionada en el apartado de anterior. La figura 11.a) muestra un incremento plasmático significativo de Kyn en el grupo de E/CoV2 respecto al grupo N/E obteniendo un valor de $p=0.0274$. Interesantemente, cuando se estratificaron los grupos, se observó un decremento marcado en los niveles plasmáticos de Kyn en el grupo de los vacunados respecto al grupo control ($p=0.0448$), manteniéndose incluso los niveles plasmáticos de Kyn similares entre el grupo de activos y recuperados.

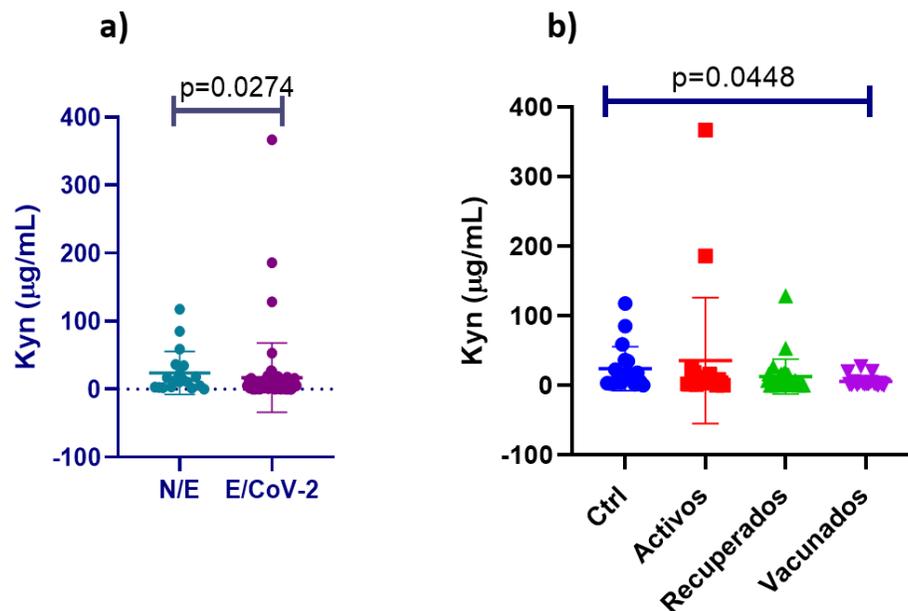


Figura 11. Niveles plasmáticos de quinurenina (Kyn). a) Niveles plasmáticos de Kyn en N/E y E-SARS-CoV-2. b) Niveles plasmáticos de Kyn en los diferentes grupos de estudio. Control (Ctrl, n=20), activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). N/E: no expuestos al SARS-Cov-2. E-SARS-CoV-2: expuesto al SARS-CoV-2. Se aplicó un test de U de Mann-Whitney para comparar N/E vs E-CoV-2 y se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$.

12.4 Relación Kyn/Trp como medida de inferencia de la actividad enzimática de Indolamania 2,3-dioxigenasa (IDO).

La relación Kyn/Trp es una medida indirecta de la activación y función de la enzima IDO, la cual metaboliza Trp libre a Kyn hasta en un 90%. Su activación puede darse en diversas células inmunes y en el organismo en general, es por ello que, su medición indirecta a través de la relación Trp/Kyn permite determinar su activación en el sistema inmune (Badawy & Guillemin, 2019).

La tabla 12 y la figura 12, muestran la relación Kyn/Trp (IDO) obtenida con los niveles plasmáticos de cada uno de los metabolitos, donde se puede observar que no hay cambios estadísticamente significativos ($p=0.4022$) entre los diferentes grupos en la clasificación expuestos al SARS-CoV2 (activos, recuperados y vacunados) y no expuestos al SARS-CoV-2 (control). Sin embargo, se observaron que 4 muestras analizadas del grupo de E-CoV-2 mostraron niveles de la relación Kyn/Trp (IDO) aumentados respecto a la mediana, lo cual es concordante con los resultados de Kyn en el gráfico 11.a). Por otro lado, en el gráfico 12.b) se muestran las medianas muy similares entre los grupos subestratificados E-CoV-2, donde algunos puntos en el grupo de activos y recuperados se muestran fuera de las medianas, evidenciando que a estos grupos pertenecen los 4 puntos del gráfico 12.a).

Tabla 12. Relación Kyn/Trp como medida de inferencia para IDO.

	Estadística	IC 95%
Control (n=20)	0.2200 (0.1200-1.14)-	(1.410 – 0.1200)
Activos (n=20)	0.2940 (1.009-0.1286)	(1.009 -0.1286)
Recuperados (n=32)	0.2575 (0.6421-0.0835)	(0.4710- 0.1166)
Vacunados (n=22)	0.1733 (0.6341 -0.0.970)	(0.6341-0.0970)

Los datos que tuvieron un comportamiento paramétrico (+) son expresados como media \pm desviación estándar, mientras que aquellos con comportamiento no paramétrico (-) datos no paramétricos se muestran como P50 (P75 - P25). Con una $P<0.05$.

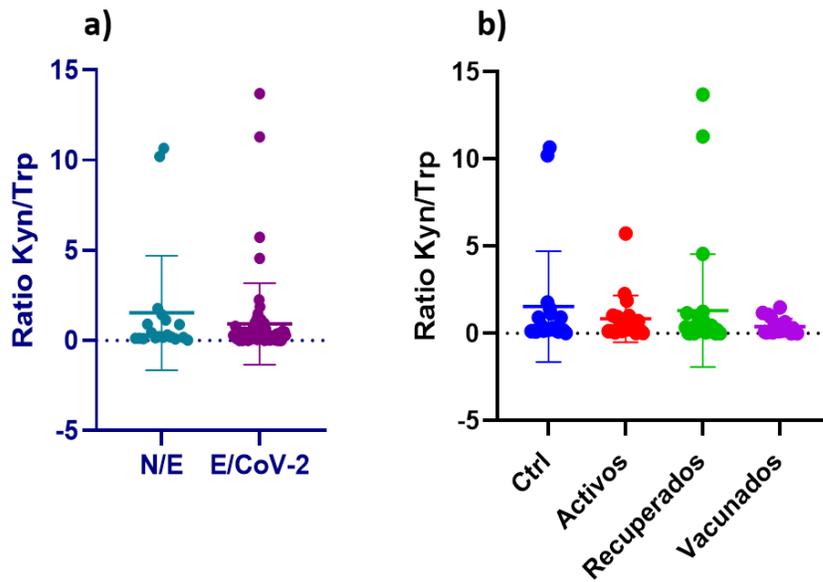


Figura 12. Relación Kyn/Trp (IDO). a) Niveles plasmáticos de relación Kyn/Trp (IDO) en N/E y E-SARS-CoV-2. b) Niveles plasmáticos de relación Kyn/Trp (IDO) en los diferentes grupos de estudio. Control (n=20), activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). N/E: no expuestos al SARS-CoV-2. E-SARS-CoV-2: expuesto al SARS-CoV-2. Se aplicó un test de U de Mann-Whitney para comparar N/E vs E-CoV-2 y se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$.

12.5 Correlación de triptófano respecto a quinurenina como indicador del catabolismo.

De acuerdo a la evidencia en la literatura se estima que el catabolismo del aminoácido Trp genera un incremento directo en los niveles plasmáticos de Kyn. En ese sentido, una disminución del Trp se explica por un aumento en la concentración de Kyn (Badawy & Guillemin, 2019; Platten et al., 2019b). En el presente proyecto, se analizó el grado de asociación de ambos metabolitos a través de correlaciones estadísticas.

Dentro del análisis estadístico que se aplicó, se realizaron correlaciones de Pearson para los datos paramétricos y correlaciones Spearman para los datos no paramétricos, en la tabla 13 se muestra las correlaciones realizadas para el metabolito quinurenina respecto al aminoácido triptófano. Los resultados muestran una correlación significativa en los individuos control ($p=0.0106$) con una relación moderada ($r=0.5713$), activos-COVID-19 ($p=0.0266$) con una relación moderada ($r=0.5072$) y vacunados ante el SARS-CoV-2 ($p=0.0001$) con una relación fuerte ($r=0.7732$), con excepción de los individuos recuperados de la COVID-19 que mantienen una relación débil (0.2837).

Tabla 13. Correlación entre los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina.

Grupo	Triptofano vs Quinurenina			
	Control (n=20) ^S	Activos (n=20) ^S	Recuperados (n=32) ^S	Vacunados (n=22) ^P
r	0.5713	0.5072	0.2837	0.7732
IC 95%	(0.1440 a 0.8191)	(0.05448 a 0.7870)	(-0.1037 a 0.5943)	0.4916 a 0.9084
p	0.0106*	0.0266*	0.1359	0.0001*

^S correlación Spearman, ^P correlación Pearson. Gráfico de correlaciones en material suplementario.

12.6 Análisis del efecto del sexo biológico sobre los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina.

Los niveles plasmáticos del Trp en individuos masculinos y femeninos es variable debido a los diferentes procesos hormonales y fisiológicos atribuidos al sexo biológico *per se* .(Giltay et al., 2008). Los niveles de Trp en los masculinos es mayor que en los femeninos. Estudios clínicos han demostrado que a través de la administración de estrógenos y/o antiandrogenos a individuos masculinos se ha observado la reducción de niveles de Trp circulante, así mismo la administración de testosterona en individuos femeninas ha mostrado un aumento de Trp circulante en plasma (Giltay et al., 2008; Vidal et al., 2020).

En la figura 13 se muestran los resultados de niveles plasmáticos de Trp respecto al sexo biológico y subestratificados por grupo de estudio. La fig.13.a) muestra los niveles plasmáticos de Trp en masculinos y femeninos en general del estudio, se observó que no hay cambios estadísticamente significativos ($p=0.6769$) así como se observó una disminución del 40.09% en femeninas respecto a la mediana de los masculinos. Al realizar la primera clasificación entre N/E y E-CoV-2 para cada sexo biológico, se observó que no hubo cambios significativos para el grupo de masculinos ($p=0.5485$) ni femeninos ($p=0.7383$) interesantemente se observó una disminución del 42.28% en los masculinos respecto al control mientras que las femeninas presentan una mediana muy similar (diferencia del 16.96%) respecto al control, como se muestra en la figura 13 b) y c).

En la figura 13.d) se muestra la estratificación de los E-CoV-2 y la clasificación en el sexo biológico, donde aun cuando no hay diferencias significativas se observó el comportamiento predicho biológicamente, es decir mayores niveles plasmáticos de Trp en masculinos que en femeninas.

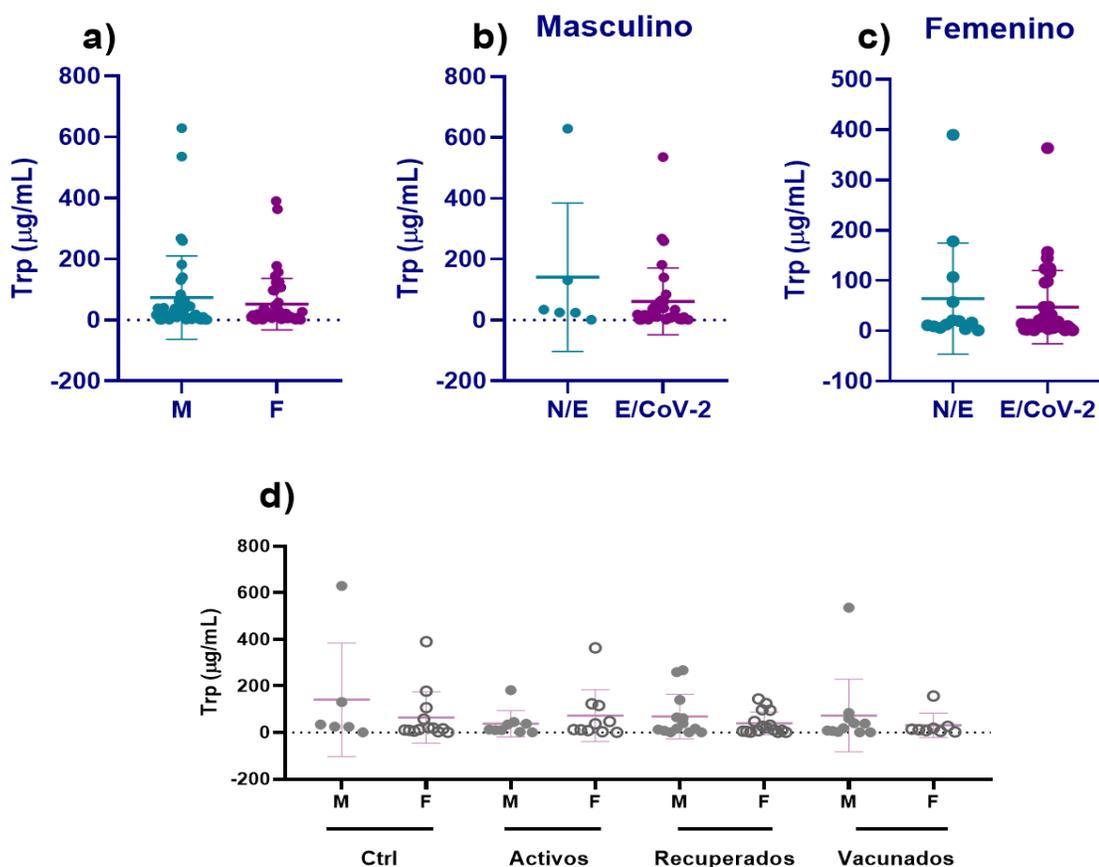


Figura 13. Niveles plasmáticos de triptófano en los diferentes grupos de estudio respecto al sexo biológico y la exposición. a) Niveles plasmáticos de Trp en masculinos y femeninos del estudio, b) Niveles plasmáticos de Trp en masculino, c) Niveles plasmáticos de Trp en femeninas, d) Niveles plasmáticos de Trp en masculinos y femeninos respecto a los grupos de estudio, Control (Ctrl, n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). M: masculino, F: femenino, N/E: no expuestos al SARS-CoV-2, E-CoV-2: expuestos al SARS-CoV-2. Se aplicó un test de U de Mann-Whitney para comparar M y F, N/E vs E-CoV-2 y se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

En la figura 13 se muestran los resultados de niveles plasmáticos de Kyn respecto al sexo biológico y subestratificados por grupo de estudio, fig.14.a) muestra los niveles plasmáticos de Kyn en masculinos y femeninos en general del estudio, se observó que no hay cambios estadísticamente significativos ($p=0.6319$) así como se observó una disminución del 17.19% en femeninas respecto a la mediana de los masculinos. Al realizar la primera clasificación entre N/E y E-CoV-2 para cada sexo biológico, se observó que no hubo cambios significativos para el grupo de masculinos ($p=0.1161$) ni femeninos ($p=0.0938$) interesantemente se observó una disminución del 79.66% en

los masculinos respecto al control mientras que las femeninas presentan una disminución del 65.90% respecto al control, como se muestra en la figura 14 b) y c).

En la figura 14.d) se muestra la estratificación de los E-CoV-2 y la clasificación en el sexo biológico, aun cuando no hay diferencias estadísticamente significativas es interesante el hecho de que las femeninas del grupo activo presentan mayores niveles plasmáticos de Kyn respecto a los masculinos.

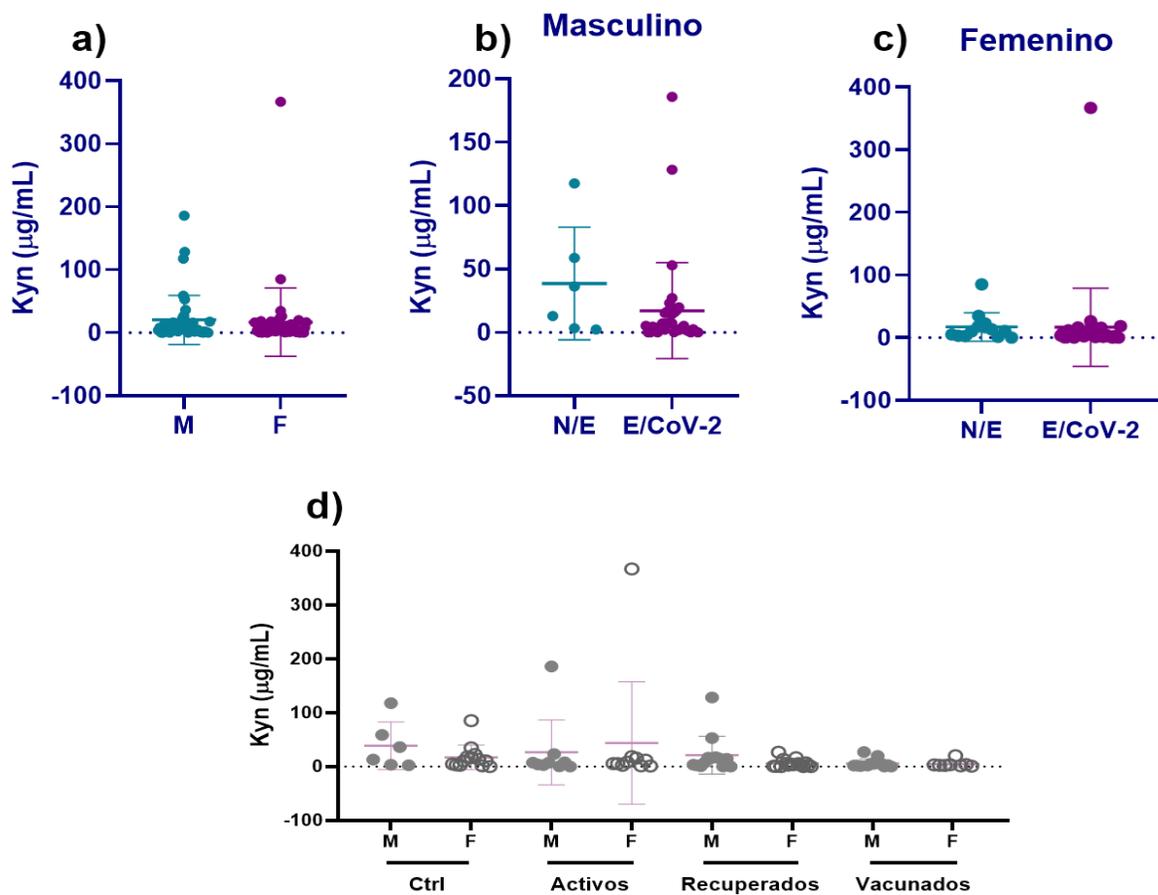


Figura 14. Niveles plasmáticos de quinurenina en los diferentes grupos de estudio respecto al sexo biológico y la exposición. a) Niveles plasmáticos de Kyn en masculinos y femeninos del estudio, b) Niveles plasmáticos de Kyn en masculino, c) Niveles plasmáticos de Kyn en femeninas, d) Niveles plasmáticos de Kyn en masculinos y femeninos respecto a los grupos de estudio, Control (Ctrl, n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). M: masculino, F: femenino, N/E: no expuestos al SARS-CoV-2, E-CoV-2: expuestos al SARS-CoV-2. Se aplicó un test de U de Mann-Whitney para comparar M y F, N/E vs

E-CoV-2 y se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.6.1 Relación Kyn/Trp (IDO) respecto al sexo

En la figura 15 se muestran los resultados la relación Kyn/Trp (IDO) respecto al sexo biológico y subestratificados por grupo de estudio, fig.15.a) muestra los niveles de la relación Kyn/Trp(IDO) en masculinos y femeninos en general del estudio, se observó que no hay cambios estadísticamente significativos ($p=0.9983$) así como se observó un incremento del 10.40% en femeninas respecto a la mediana de los masculinos. Al realizar la primera clasificación entre N/E y E-CoV-2 para cada sexo biológico, se observó que no hubo cambios significativos para el grupo de masculinos ($p=0.7682$) ni femeninos ($p=0.4556$) se observó una disminución del 8.12 % en los masculinos respecto al control mientras que las femeninas, interesantemente se observó un incremento del 16.13% respecto al control, como se muestra en la figura 15 b) y c).

En la figura 15.d) se observa la estratificación de los E-CoV-2 en los masculinos, donde se observó que no hay cambios significativos en la relación Kyn/Trp (IDO), con un comportamiento errático de medianas. Así mismo en la figura 15.e) tampoco se observaron cambios significativos en la relación Kyn/Trp (IDO) en la estratificación de E-CoV-2 en las femeninas, interesantemente se observó un comportamiento similar entre las medianas de los grupos.

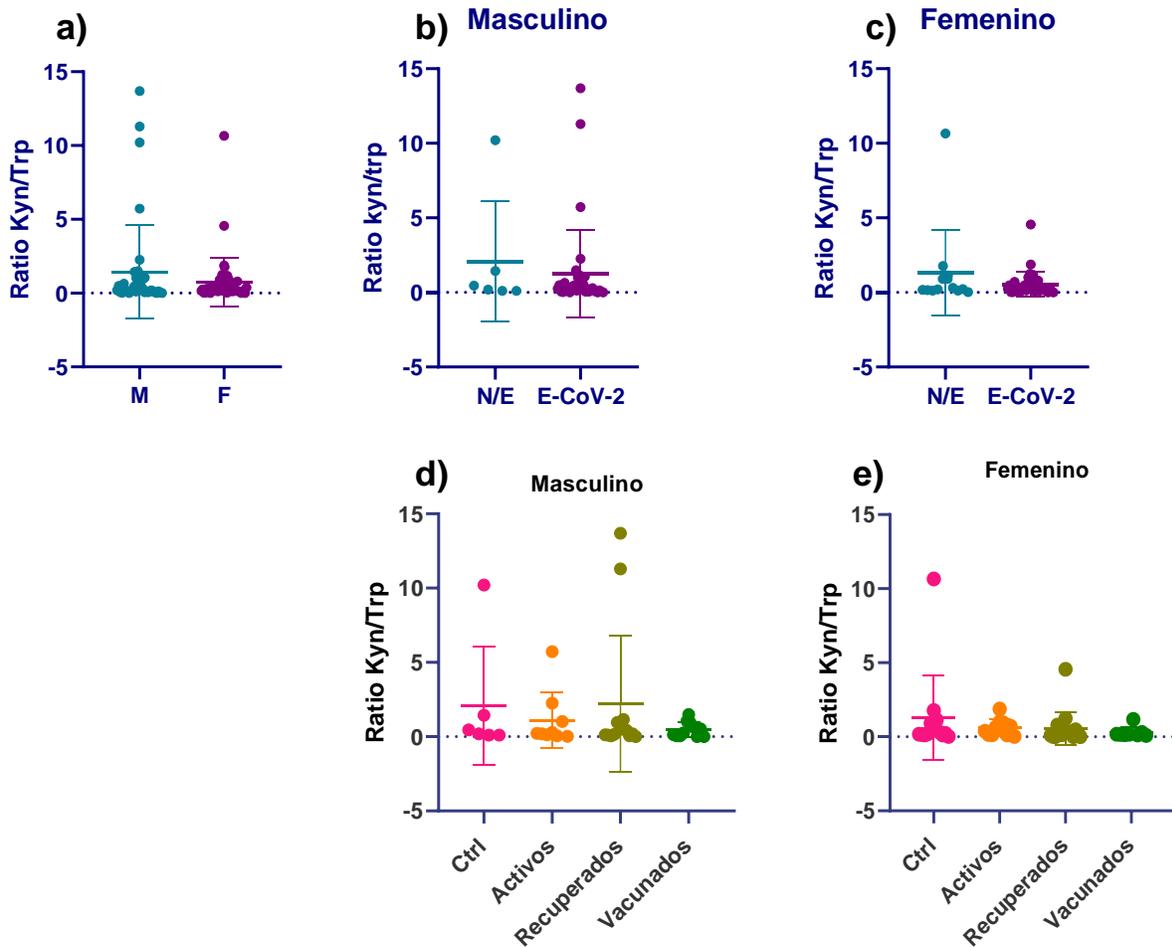


Figura 15. Relación Kyn/Trp (IDO) respecto al sexo biológico clasificado por grupo de estudio. a) Relación Kyn/Trp (IDO) en masculinos y femeninos del estudio, b) Relación Kyn/Trp en masculinos, c) Relación Kyn/Trp(IDO) en femeninos, d) relación Kyn/Trp (IDO) en los subgrupos del sexo masculino, d) relación Kyn/Trp(IDO) en los subgrupos del sexo femenino. Control (Ctrl, n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). M: masculino, F: femenino, N/E: no expuestos al SARS-CoV-2, E-CoV-2: expuestos al SARS-CoV-2. Se aplicó un test de U de Mann-Whitney para comparar M y F, N/E vs E-CoV-2 y se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.7 Análisis de los niveles plasmáticos de triptófano respecto la edad

El proceso de envejecimiento es inevitable en los organismos vivos y con ello suceden alteraciones complejas en el organismo, una de ellas es la inmunosenescencia caracterizada por alterar la inmunidad innata y adaptativa, así como los procesos metabólicos de las células del sistema inmune y su respuesta. El proceso de inflamación crónica en el envejecimiento es común e induce la regulación del sistema inmune a través de las células T reguladoras (FOXP3+ CD4+ CD25+), lo cual produce inmunosupresión que se puede observar a través de una disminución de Trp y aumento de IDO (Kyn/Trp) , todo ello aunado a que los niveles de Trp se ven disminuidos por la edad *per se* (da Silva et al., 2021).

La figura 16, muestra los resultados de los niveles plasmáticos de Trp respecto a la estratificación de edad. El grupo control y vacunados, aun cuando no se mostraron cambios significativos se observaron comportamientos similares en resultados biológicamente esperados respecto al decremento en los grupos etarios de mayor edad como se muestra en la figura 16.a y d). Por otro lado los individuos activos-COVID-19 mostraron cambios significativos ($p=0.0056$) en los niveles plasmáticos de Trp entre los grupos de edad 45-53 años (166.2 ± 120.5) versus 54-62 años ($11.8(34.6-3.70)$) como se muestra en la figura 16.b), por otro lado, los recuperados-COVID-19 presentaron un comportamiento semi-homogéneo.

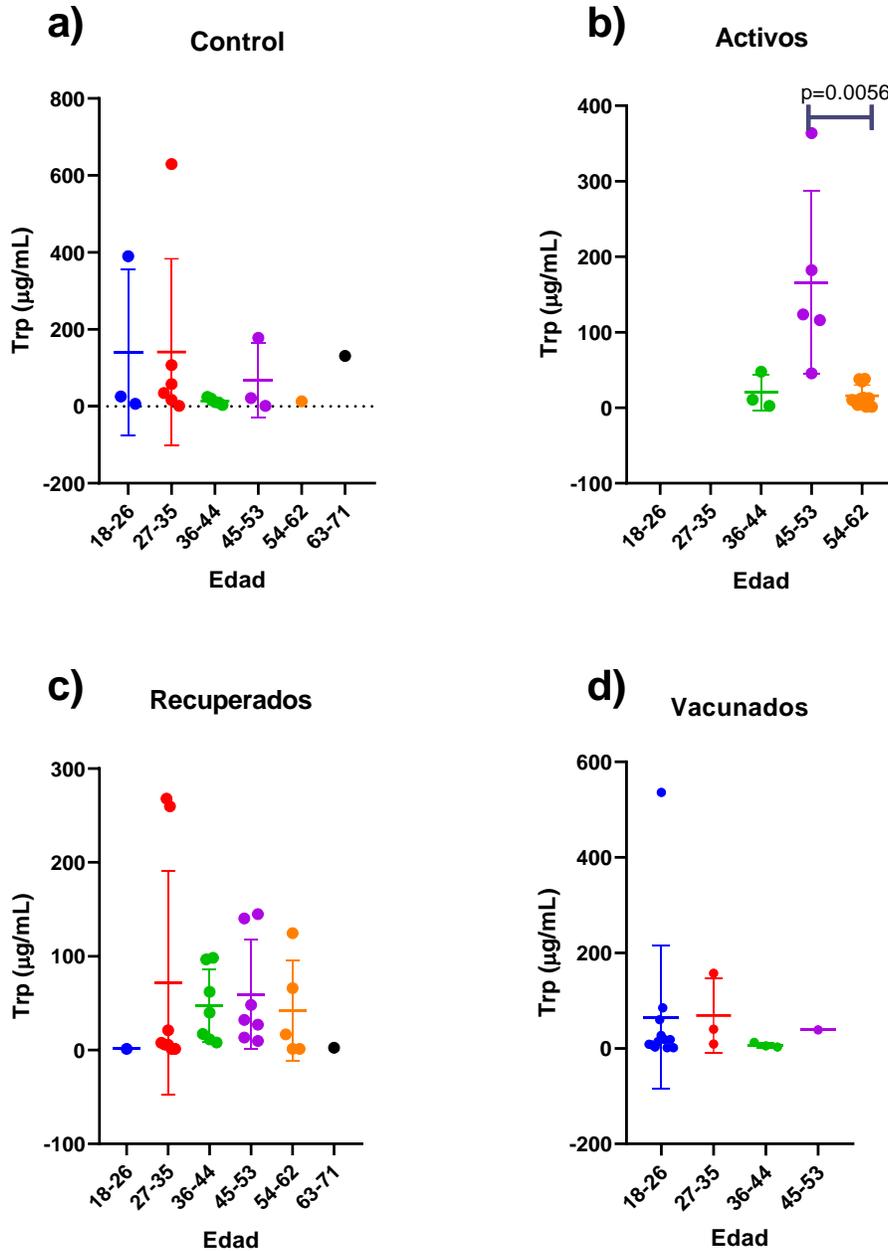


Figura 16. Niveles plasmáticos de triptófano en los diferentes grupos de estudio respecto a la edad. a) Niveles plasmáticos de Trp en individuos control, b) Niveles plasmáticos de Trp individuos activos COVID-19, c) Niveles plasmáticos de Trp en recuperados COVID-19, d) Niveles plasmáticos de Trp en vacunados vs SARS-CoV-2. Control (n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

En la figura 17 se muestran resultados de los niveles plasmáticos de Kyn en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de edades. El grupo control mostró un decremento no

significativo, con un ligero aumento en el grupo etario de mayor edad, lo cual es esperado según el proceso biológico, por otro lado, los recuperados COVID-19 mostraron una tendencia muy similar entre las medianas, incluyendo los grupos etarios mayores, lo cual no concuerda con lo esperado biológicamente, así mismo los vacunados parece ser que presentan un comportamiento similar al de los controles, tal como se observa en la figura 17 a), b) y d). Así mismo donde se observó la presencia de cambios significativos en los activos COVID-19 ($p=0.0055$) fue entre los grupos etarios de 36-44 años (0.5360 ± 0.4927) y 45-53 años (118.1 ± 158.2) respectivamente.

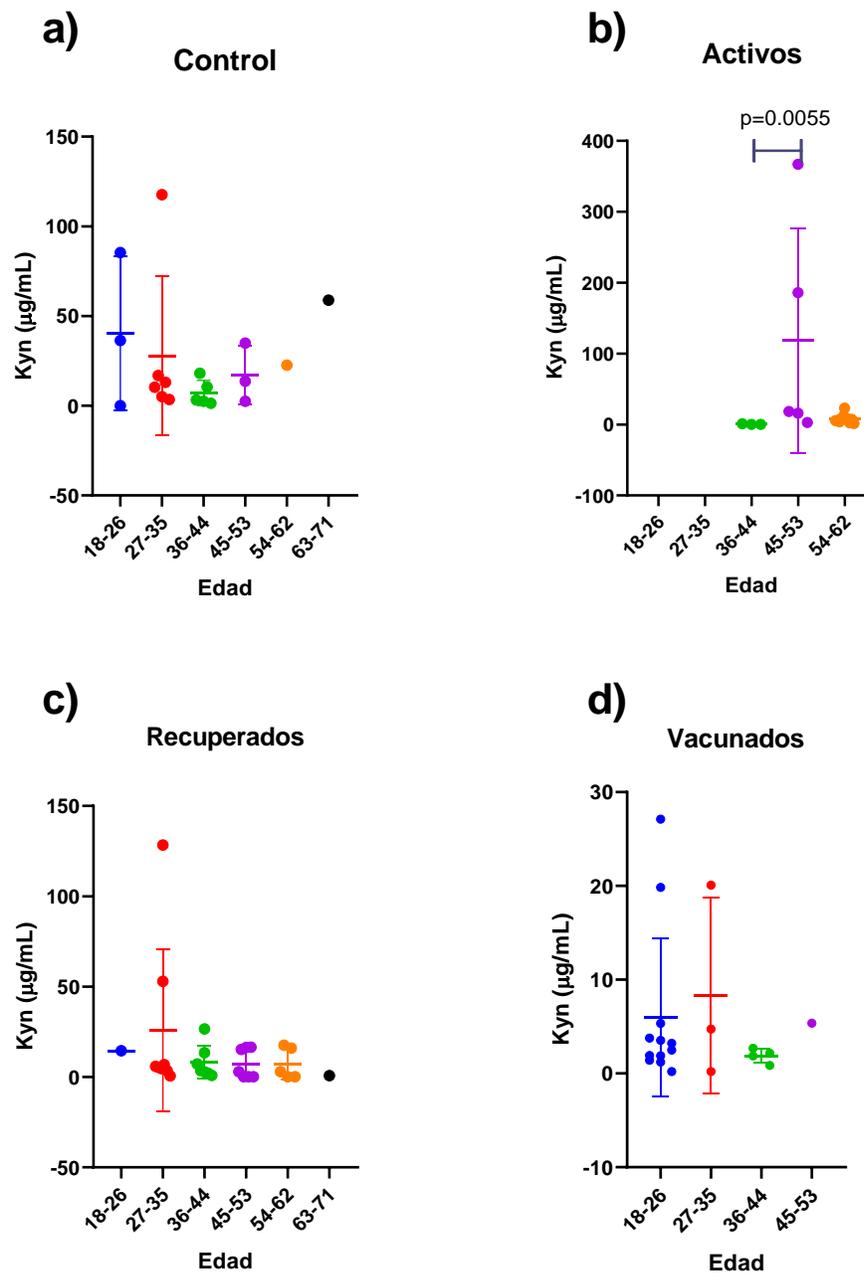


Figura 17. Niveles plasmáticos de quinurenina en los diferentes grupos de estudio respecto a la edad.

a) Niveles plasmáticos de Kyn en individuos control, b) Niveles plasmáticos de Kyn individuos activos COVID-19, c) Niveles plasmáticos de Kyn en recuperados COVID-19, d) Niveles plasmáticos de Kyn en vacunados vs SARS-CoV-2. Control (n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.7.1 Relación Kyn/Trp (IDO) respecto a la Edad

La figura 18, muestra los resultados de la relación Kyn/ Trp (IDO) respecto a la estratificación de edad. El grupo control aun sin cambios significativos mostró un comportamiento esperado biológicamente, interesantemente aún sin mostrar cambios significativos los vacunados mostraron un comportamiento errático, así como los recuperados presentaron un comportamiento muy similar entre grupos etarios, como se observa en la figura 18, a), b) y d). Los individuos activos-COVID-19, que mostraron cambios estadísticamente significativos ($p=0.0058$) entre los grupos etarios de 45-53 ($0.4764 \pm 0.49.47$) y 54-62 ($0.6475(1.876-0.2296)$) respectivamente, con tendencia al aumento, lo cual concuerda con los procesos biológicos propios del estadio (la edad e infección).

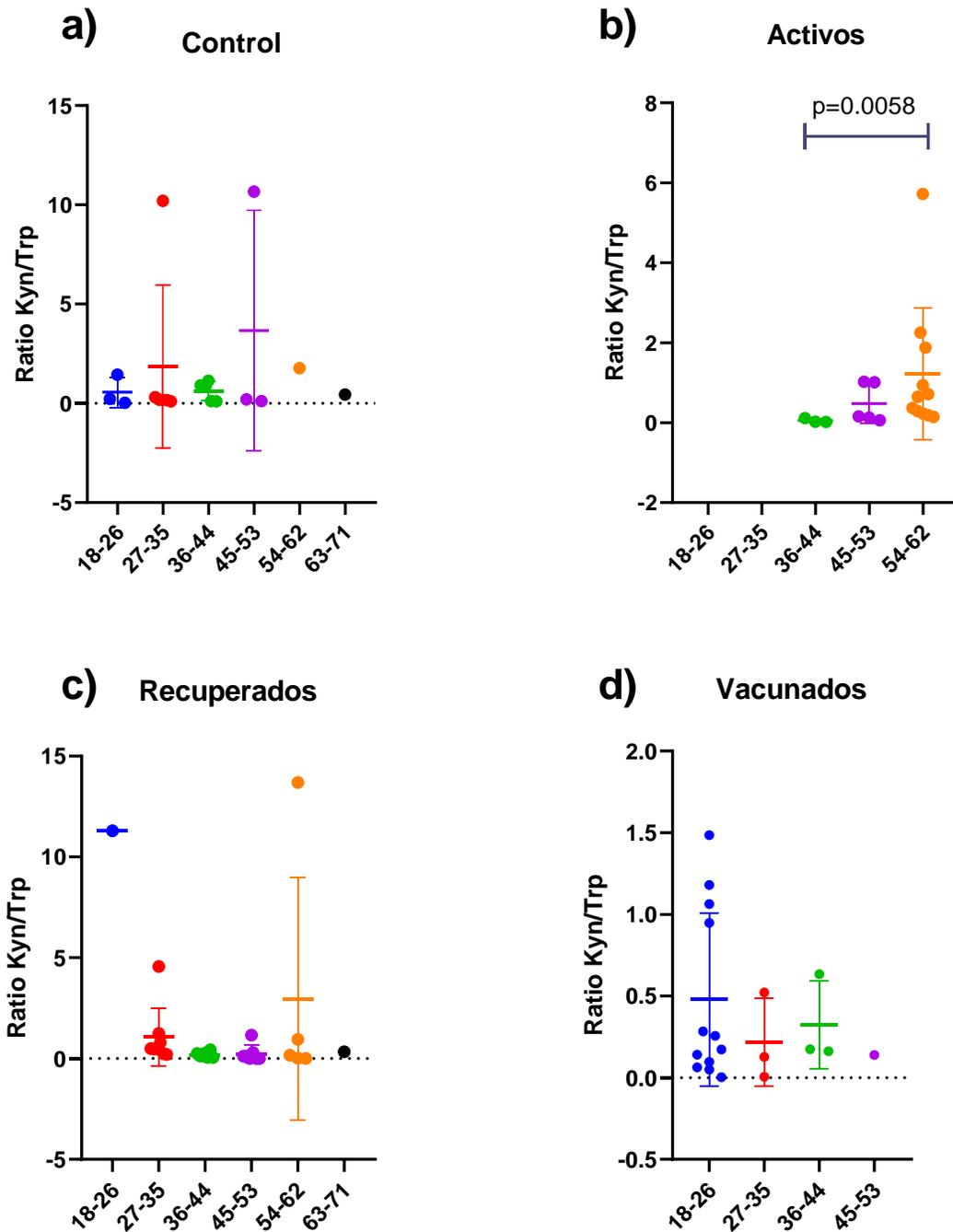


Figura 18. Relación Kyn/Trp (IDO) en los diferentes grupos de estudio respecto a la edad. a) Relación Kyn/Trp (IDO) en individuos control, b) Relación Kyn/Trp (IDO) individuos activos COVID-19, c) Relación Kyn/Trp (IDO) en recuperados COVID-19, d) Relación Kyn/Trp (IDO) en vacunados vs SARS-CoV-2. Control (n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.8. Análisis del efecto del IMC sobre los niveles plasmáticos de Trp, Kyn e IDO.

El índice de masa corporal (IMC) se obtiene como un valor numérico con base al peso y la estatura del individuo para categorizar el peso de un individuo (bajo peso, normo peso, sobrepeso, obesidad leve, obesidad moderada y obesidad mórbida). Si bien la OMS, propone el cálculo del IMC como diagnóstico para la obesidad, este no refleja adiposidad en general (para ello existe el test de % de grasa corporal), pero si permite una evaluación corporal de anormalidades en cuanto al peso que pueden impactar como problemas de salud y metabólicos. La evidencia sugiere una relación entre la obesidad y la activación del sistema inmune a través de la inflamación crónica de bajo grado, activando la enzima IDO y propiciando el catabolismo de Trp hacia Kyn. (CDC, 2022a; López et al., 2017).

Cabe mencionar, que los individuos activos-COVID-19 del presente estudio quedaron excluidos de este análisis respecto al IMC debido a que no se contó con la información disponible para esta métrica.

12.8.1 Análisis de triptófano respecto a estratificación de peso

La figura 19 muestra los niveles plasmáticos de Trp respecto a la estratificación del IMC (bajo peso (BP), normo peso (NP), sobrepeso (SP), obesidad leve (O.L), obesidad moderada (O. Med) y obesidad mórbida(O.Morb), tanto en los individuos control, recuperados y vacunados. Los resultados indican que no se observaron cambios estadísticamente significativos en los niveles plasmáticos de Trp. Lo cual sugiere que la inflamación de bajo grado no tiene efecto sobre los niveles plasmáticos de Trp durante los diferentes estadios de la enfermedad.

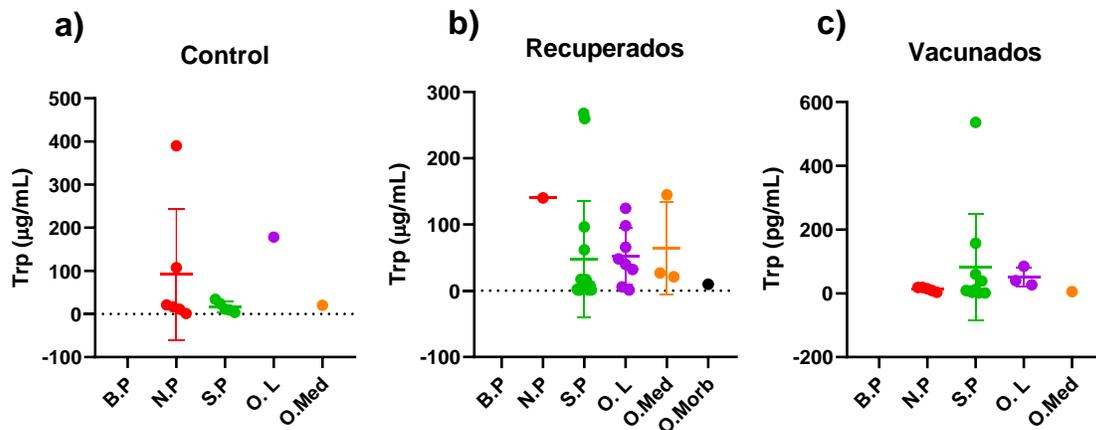


Figura 19. Niveles plasmáticos de triptófano en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de peso. a) Niveles plasmáticos de Trp; en controles, b) Niveles plasmáticos de Trp en recuperados, c) Niveles plasmáticos de Trp en vacunados vs SARS-CoV-2. Bajo peso BP (IMC: menor a 18.99), Normo peso NP (IMC: 19.00-24.99), Sobrepeso S.P (IMC 25.00-29.99), Obesidad leve OL (IMC: 30.00-34.99), Obesidad media O.med (IMC: 35.00-39.99), Obesidad mórbida O. Morb (≥ 40.00). Control (n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.8.2 Análisis de quinurenina respecto a estratificación de IMC

La figura 20, muestra los niveles plasmáticos de Kyn respecto a la estratificación de IMC (bajo peso (BP), normo peso (NP), sobrepeso (SP), obesidad leve (O.L), obesidad moderada (O. Med) y obesidad mórbida(O.Morb), tanto en los individuos control, recuperados y vacunados no se observaron cambios estadísticamente significativos en los niveles plasmáticos del metabolito Kyn. Lo cual sugiere que la inflamación de bajo grado no interfiere con el catabolismo del Trp cuantificado a través de Kyn.

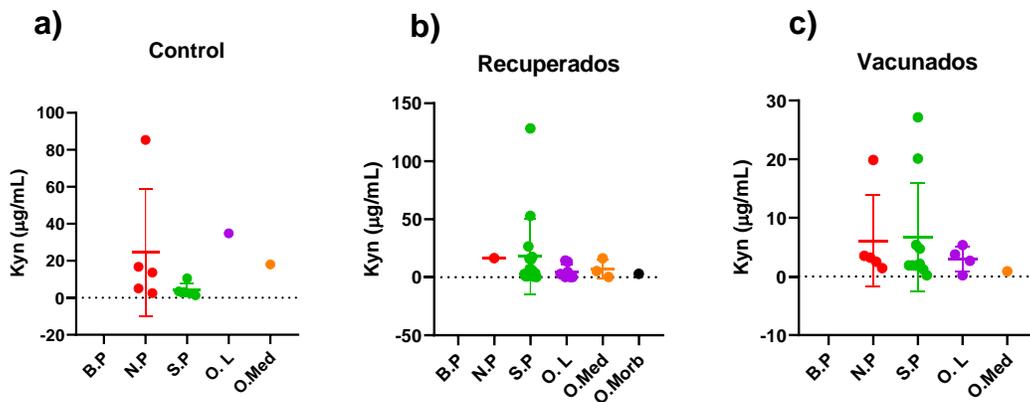


Figura 20. Niveles plasmáticos de quinurenina en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de peso. a) Niveles plasmáticos de Kyn; en controles, b) Niveles plasmáticos de Kyn en recuperados, c) Niveles plasmáticos de Kyn en vacunados vs SARS-CoV-2. Bajo peso BP (IMC: menor a 18.99), Normo peso NP (IMC: 19.00- 24.99), Sobrepeso S.P (IMC 25.00- 29.99), Obesidad leve OL (IMC: 30.00- 34.99), Obesidad media O.med (IMC: 35.00- 39.99), Obesidad mórbida O. Morb (≥ 40.00). Control (n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.8.3 Análisis de relación Kyn/Trp (IDO) respecto a estratificación de IMC

La figura 21, muestra los resultados de la relación Kyn/Trp (IDO) respecto a la estratificación de peso del IMC; (bajo peso (BP), normo peso (NP), sobrepeso (SP), obesidad leve (O.L), obesidad moderada (O. Med) y obesidad mórbida(O.Morb), donde los grupos control, recuperados y

vacunados no observaron cambios estadísticamente significativos. Esto sugiere que la inflamación de bajo grado no afecta en gran medida la activación enzimática de la enzima IDO(Kyn/Trp).

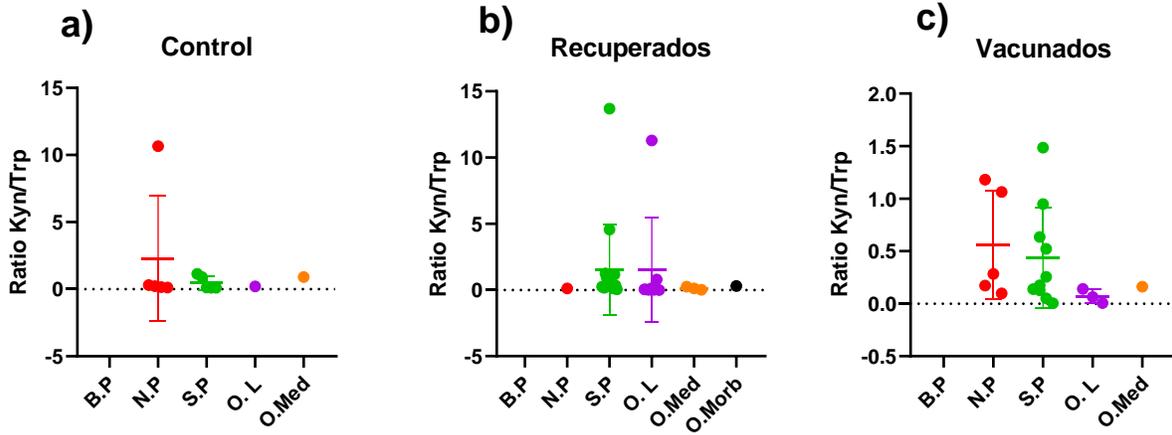


Figura 21. Relación Kyn/Trp (IDO) en los diferentes grupos de estudio respecto a la estratificación de peso. a) Relación Kyn/Trp (IDO) en individuos control, b) Relación Kyn/Trp (IDO) individuos recuperados de COVID-19, c) Relación Kyn/Trp(IDO) en vacunados COVID-19. Bajo peso BP (IMC: menor a 18.99), Normo peso NP (IMC: 19.00- 24.99), Sobrepeso S.P (IMC 25.00- 29.99), Obesidad leve OL (IMC: 30.00- 34.99), Obesidad media O.med (IMC: 35.00- 39.99). Obesidad mórbida O. Morb (≥ 40.00). Control (n=20); activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22). Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.9 Sintomatología COVID-19 y post-vacuna.

Diversos estudios de la literatura científica han evidenciado que los individuos activos-COVID-19 pueden mostrar diferentes sintomatologías tanto respiratorias como sistémicas, sin embargo, los síntomas más comunes son: fiebre, tos, dolor muscular, disnea, disgeusia, anosmia. Así mismos se ha observado la presencia de cuadros gastrointestinales aunado al respiratorio (Masoodi et al., 2022; Pascarella et al., 2020; Singhal, 2020). Tomando en cuenta que la gravedad de la enfermedad podría causar diferentes síntomas y conducir a daños posteriores. En el grupo de activos-COVID-19 del presente estudio, los síntomas más frecuentes ($\geq 50\%$) son: cefalea (80%), Tos (75%), fiebre (55%), mialgia y artralgia (50%), tal como se muestra en la tabla 14.

De acuerdo con la OMS, la mayoría de las personas que se infectaron con SARS-CoV-2 y sobrevivieron, se recuperan por completo, sin embargo los datos a nivel mundial indican que aproximadamente entre el 10-20% de la población que se recuperó presenta diferentes efectos a mediano y largo plazo, esta afección consiste en síntomas prolongados de la enfermedad inicial o bien presentarse justo después de la recuperación y extenderse hasta los 6 meses o más, la OMS denominó a esto “post-COVID-19” y enlisto los síntomas más frecuentes, los cuales son: fatiga, disnea, disfunción cognitiva (confusión, pérdida de la memoria, falta de concentración y claridad mental), haciendo hincapié en el hecho de que esto puede afectar la capacidad de realizar actividades como trabajar, realizar labores domésticas o deportivas (Halabe et al., 2022; WHO, 2021). Si bien la OMS mencionó los más frecuentes, cabe destacar que otros estudios han evidenciado la existencia de más síntomas que no se mencionaron antes, tales como: tos, dolor torácico, palpitaciones, cefaleas, mareos, trastornos del sueño, artralgias, mialgias, niebla mental, ansiedad y depresión, náuseas, diarrea, anorexia, entre otros (Carod-Artal, 2021), los cuales concuerdan con los síntomas post-COVID-19 en el grupo de recuperados COVID-19 del presente estudio, donde los síntomas más frecuentes ($\geq 30\%$) son: fatiga (46.87%), faringalgia, mialgia y artralgia (34.37%), anosmia y disgeusia (31.25%).

Diversas instituciones como la CDC y la OMS, así como otros autores, han mencionado la importancia de la vacunación contra el SARS-CoV-2 en la población y los beneficios de esta a fin de disminuir el número de contagios y muertes a causa del agente etiológico de la COVID-19, la OMS ha aprobado diferentes vacunas alrededor del mundo a fin combatir la COVID-19, durante

el desarrollo de las mismas se evalúa el efecto adverso (EA) a través de signos y síntomas posteriores a la vacunación, los cuales pueden ser similares o bien diferir en cuanto a la plataforma vacunal y los componentes de la misma, entre los EA más usuales se encuentran: dolor y enrojecimiento en área de punción, fatiga, mialgias, escalofríos, fiebre, cefalea, malestar general y en algunos casos se presentaron EA raros como: trombosis trombocitopénica, enfermedad similar a la gripe, brazo COVID (COVID arm) (CDC, 2023; OMS, 2021a; Picone et al., 2022; Wong Chew et al., 2021). En el grupo de vacunados ante el SARS-CoV-2 del presente estudio, los síntomas más frecuentes ($\geq 45\%$) son: Mialgia (72.7%), fatiga (63.6%), cefalea (45.5%).

Por lo anterior, en la tabla 14 se presentan la sintomatología referida por los diferentes grupos participantes. Cabe mencionar que debido a la disposición de los datos se tomaron diferentes criterios de frecuencia. La COVID-19 se compone no solo del proceso infeccioso y sintomatológico, diversos estudios han demostrado la presencia de alteraciones en procesos metabólicos que pueden verse reflejados en la gravedad de la enfermedad y sus síntomas (López-Hernández et al., 2021), entre ellos la vía del metabolismo del Trp, es por ello que en los gráficos posteriores se muestran los niveles plasmáticos de Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO) en los diferentes grupos de estudios y la sintomatología de mayor frecuencia, respectivamente.

Tabla 14. Sintomatología referida en COVID-19 en activos, recuperados y vacunados

Sintomatología	Control (n=20)	Activos COVID-19 (n=20)^a n(%)	Recuperados COVID-19 (n=32)^b n(%)	Vacunados vs SARS-CoV-2 (n=22)^c n(%)	p valúe
Fiebre	N/A	11(55)	1(3.12)	9 (40.9)	0.1458 a vs b 0.5369 a vs c 0.5589 b vs c
Tos	N/A	15 (75)	6 (18.75)	N/D	0.0004 *** a vs b
Cefalea	N/A	16 (80)	9 (28.12)	10 (45.5)	0.0198 * a vs b 0.0289* a vs c >0.9999 b vs c
Disnea	N/A	5 (25)	7 (21.87)	-N/D	>0.9999 a vs b
Diarrea	N/A	2 (10)	6 (18.75)	2 (9.1)	0.2826 a vs b 0.0310 *** a vs c
Opresión de pecho	N/A	4 (20)	-N/D	N/D	
Escalofríos	N/A	4 (20)	4 (12.5)	7 (31.8)	0.5237 a vs b 0.4913 A vs c

					>0.9999 b vs c
Faringalgia	N/A	9 (45)	11 (34.37)	1 (4.5)	0.0031** a vs c 0.0358 * b vs c
Mialgia	N/A	10 (50)	11 (34.37)	16 (72.7)	0.4027 a vs b >0.9999 a vs c
Artralgia	N/A	10(50)	N/D	1 (4.5)	0.0012** a vs c
Rinorrea	N/A	5 (25)	8 (25)	4 (18.2)	0.0060 ** a vs b 0.7139 a vs c
Polipnea	N/A	0	N/D-	N/D	
Anosmia	N/A	2 (10)	10 (31.25)	N/D	0.0060 ** a vs b
Disgeusia	N/A	2 (10)	10 (31.25)	N/D	0.0060 ** a vs b
Ojos rojos	N/A	-N/D	7 (21.87)	2 (9.1)	0.4491 b vs c
Fatiga	N/A	-N/D	15 (46.87)	14 (63.6)	0.2740 b vs c
Amenorrea (femenino)	N/A	-N/D	N7D	3 (13.6)	

Activación de herpes	N/A	-N/D	N/D	1 (4.5)	
Otros				Insomnio	

N/A: no aplica, N/D: no disponible. Activos vs recuperados (a vs b), activo vs vacunados (a vs c), recuperado vs vacunado (b vs c).). $p \leq 0.05$.

12.9.1 Análisis de la sintomatología sobre los metabolitos en activos COVID-19.

En el grupo de activos COVID-19, los síntomas de mayor frecuencia son ($\geq 50\%$): fiebre (55%), mialgia (50%), artralgia (50%) y tos (75%). En la figura 22 y 23 se muestra los resultados del asociados a la sintomatología en activos COVID-19 y los metabolitos (Kyn y Trp) y la relación (Kyn/Trp (IDO)) en cuanto a la presencia del síntoma (C.S) y la ausencia del síntoma (S.S), respecto al control (N/E).

Como se puede observar en la figura 22. a), en el síntoma cefalea no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante, se observó un incremento de Trp en C.S (79.62%) respecto a N/E. Del mismo modo, tampoco se observó cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S pero se observó una tendencia al decremento (45.72%) en los que manifestaron el síntoma respecto a N/E. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos respecto a N/E, como se muestra en la figura 23.a).

La figura 22.b) muestra el síntoma tos, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S, sin embargo, C.S presentó un decremento del 42.52% respecto a N/E, aunque no significativo. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos, aunque los individuos S.S presentaron un incremento del 40.59% respecto a N/E, como se muestra en la figura 23.b).

La figura 22.c) muestra el síntoma fiebre, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante, C.S presentó un incremento del 71.80% respecto a N/E. Del mismo modo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S, sin embargo, C.S presentó un decremento del 44.84% respecto a N/E. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco muestra cambios significativos y S.S mostró una tendencia al incremento (40.59%) respecto a N/E, como se muestra en la figura 23.c).

La figura 22. d) muestra el síntoma mialgia, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S, sin embargo, C.S presentó un incremento (80.56%) respecto a N/E. Así mismo, tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S, sin embargo, C.S presentó un decremento (51.94%) respecto a N/E. La relación

Kyn/Trp (IDO) tampoco muestra cambios significativos, interesadamente S.S mostró un incremento de 3.57 veces (257.159%) respecto a N/E, como se muestra en la figura 24.d).

La figura 22. e) muestra el síntoma artralgia, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante C.S presentó un incremento del 80.56% respecto a N/E. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S, sin embargo, C.S presentó un decremento (51.94%) respecto a N/E, aunque no significativo. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos, interesadamente, aunque no significativo S.S muestra un incremento de 3.57 veces (257.159%) respecto a N/E, como se muestra en la figura 24.e).

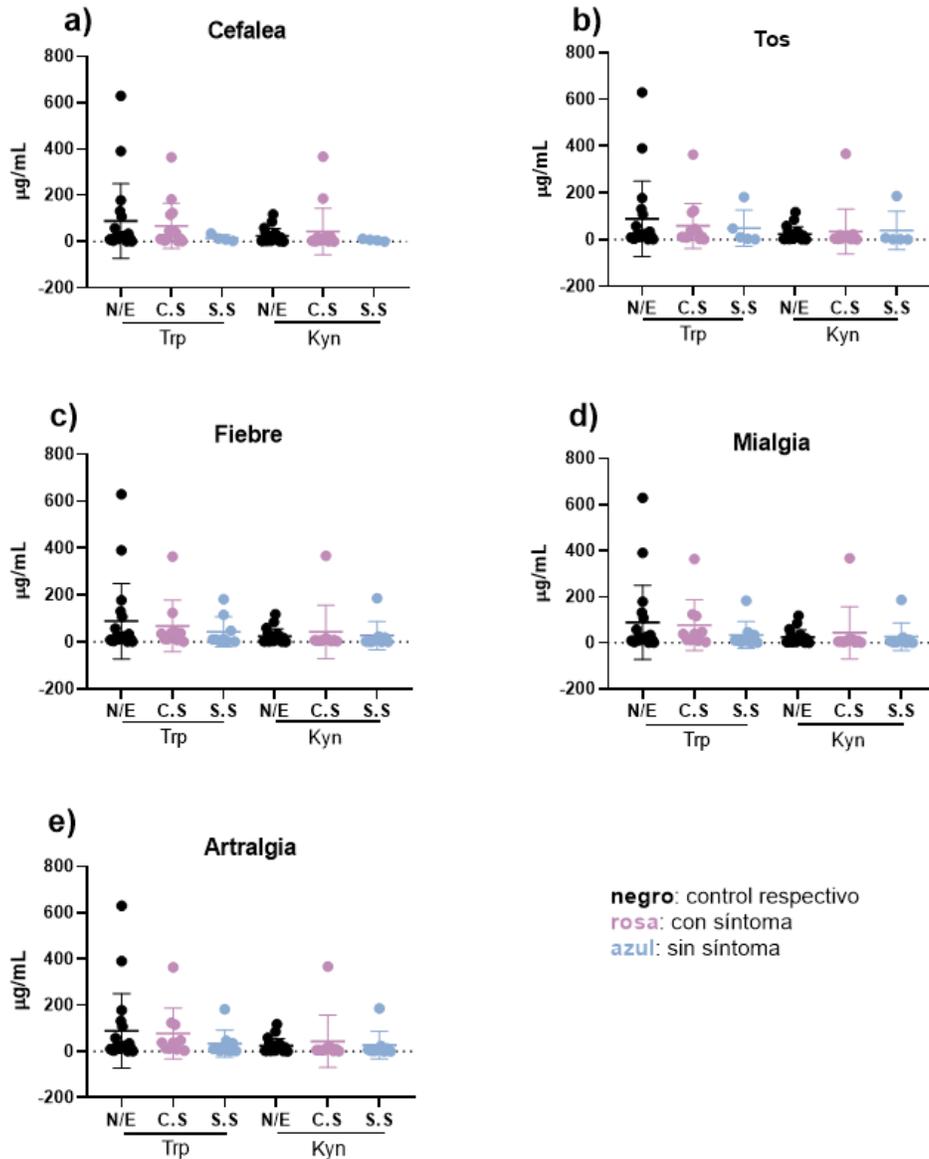


Figura 22. Sintomatología en activos COVID-19 respecto a los niveles plasmáticos de los metabolitos. a) cefalea, b) tos, c) fiebre, d) mialgia, e) artralgia. Individuos activos de la COVID-19 (n=20). N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con sintoma, S.S: sin sintoma. Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn´s para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

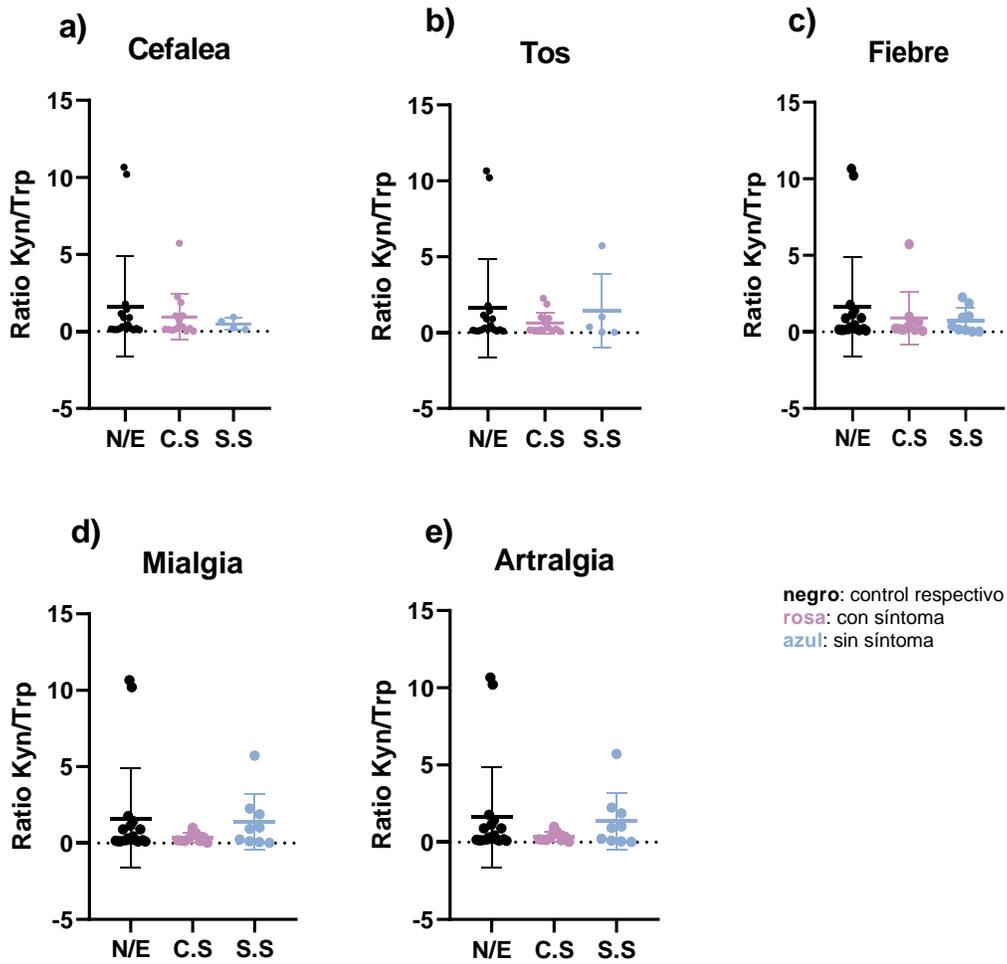


Figura 23. Sintomatología en activos COVID-19 respecto a la relación Kyn/Trp(IDO). a) cefalea, b) tos, c) fiebre, d) mialgia, e) artralgia. Individuos activos de la COVID-19 (n=20). N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con sintoma, S.S: sin sintoma. Individuos activos COVID-19 (n=20). Se aplicó un test de U Mann-Whitney para comparar los los niveles en individuos con síntomas y sin síntomas, se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$.

12.9.2 Análisis de la sintomatología sobre los metabolitos en recuperados COVID-19

En el grupo de recuperados COVID-19, los síntomas de mayor frecuencia son ($\geq 30\%$) son: fatiga (46.87%), faringalgia, mialgia y artralgia (34.37%), anosmia y disgeusia (31.25%). En la figura 24 y 25 se muestra los resultados del análisis de la sintomatología en recuperados COVID-19 y los metabolitos (Kyn y Trp) y la relación (Kyn/Trp(IDO)) en cuanto a la presencia del síntoma (C.S) y la ausencia del síntoma (S.S), respecto al control (N/E).

Como se puede observar en la figura 24. a), en el síntoma fatiga no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. Sin embargo, C.S presentó un decremento del (45.97%) respecto a N/E. Así mismo tampoco se observaron cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S. No obstante, C.S presentó un decremento del 73.56% y S.S un decremento del 50.09%, ambos respecto a N/E, aunque no significativos. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S respecto a N/E, como se muestra en la figura 25.a).

En la figura 24. b), se muestra el síntoma faringalgia, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante C.S presentó un decremento (45.97%) respecto a N/E. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S. Sin embargo, C.S presentó un decremento del 73.56% y S.S un decremento del 50.09%, ambos respecto a N/E. La relación Kyn/Trp tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S, respecto a N/E, como se muestra en la figura 25.b).

En la figura 24. c), se muestra el síntoma artralgia, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante C.S presentó un incremento de 3.86 veces (286.96%), y S.S presentó un aumento de 3.43 veces (243.127%), ambos respecto a N/E. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S. Sin embargo, C.S presentó un incremento de 3.99 veces (299.31%) y S.S un incremento de 2.54 veces (154.31%), ambos respecto a N/E. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S. No obstante, se observó un incremento en C.S de 83.13% y de S.S 33.85%, ambos respecto a N/E, como se muestra en la figura 25.c).

En la figura 24. d), se muestra el síntoma mialgia, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante C.S presentó un decremento de

41.70%, respecto a N/E. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S. Sin embargo, C.S presentó un decremento de 59.96% y S.S un decremento de 83.48%, ambos respecto a N/E. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S. No obstante, se observó un incremento en C.S de 41.94% respecto a N/E, como se muestra en la figura 25.d).

La figura 24.e) y f) muestra los síntomas anosmia y disgeusia respectivamente, en ambos se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S, sin embargo, C.S presentó un decremento del 68.45% respecto a N/E, aunque no significativo. La relación Kyn/Trp (IDO) tampoco mostró cambios significativos, aunque los individuos S.S presentaron un incremento del 96.53 % respecto a N/E, como se muestra en la figura 25.e) y f).

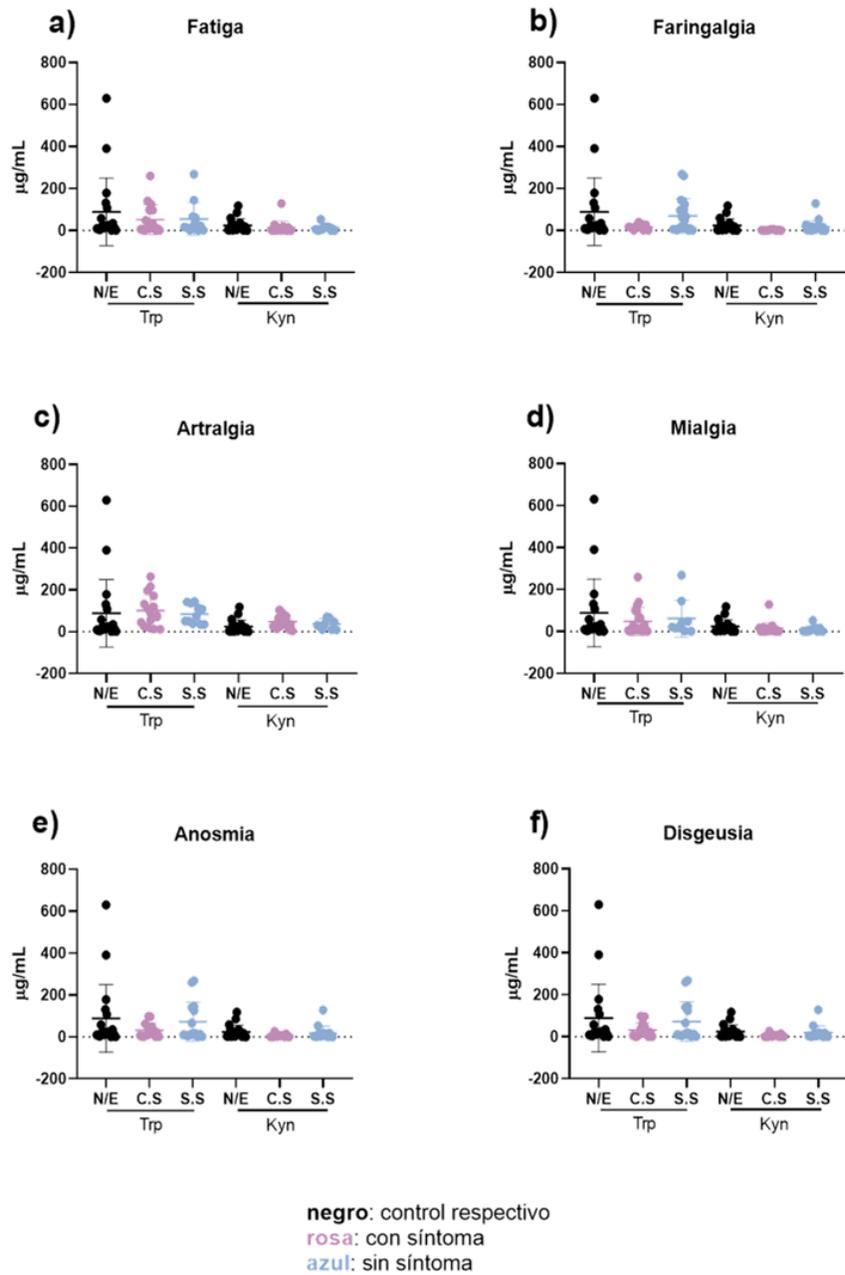


Figura 24. Sintomatología en recuperados COVID-19 respecto a los metabolitos Trp y Kyn. a) fatiga, b) faringalgia, c) artralgia, d) mialgia, e) anosmia y f) disgeusia. Individuos recuperados de la COVID-19 (n=32). N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con sintoma, S.S: sin sintoma Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$.

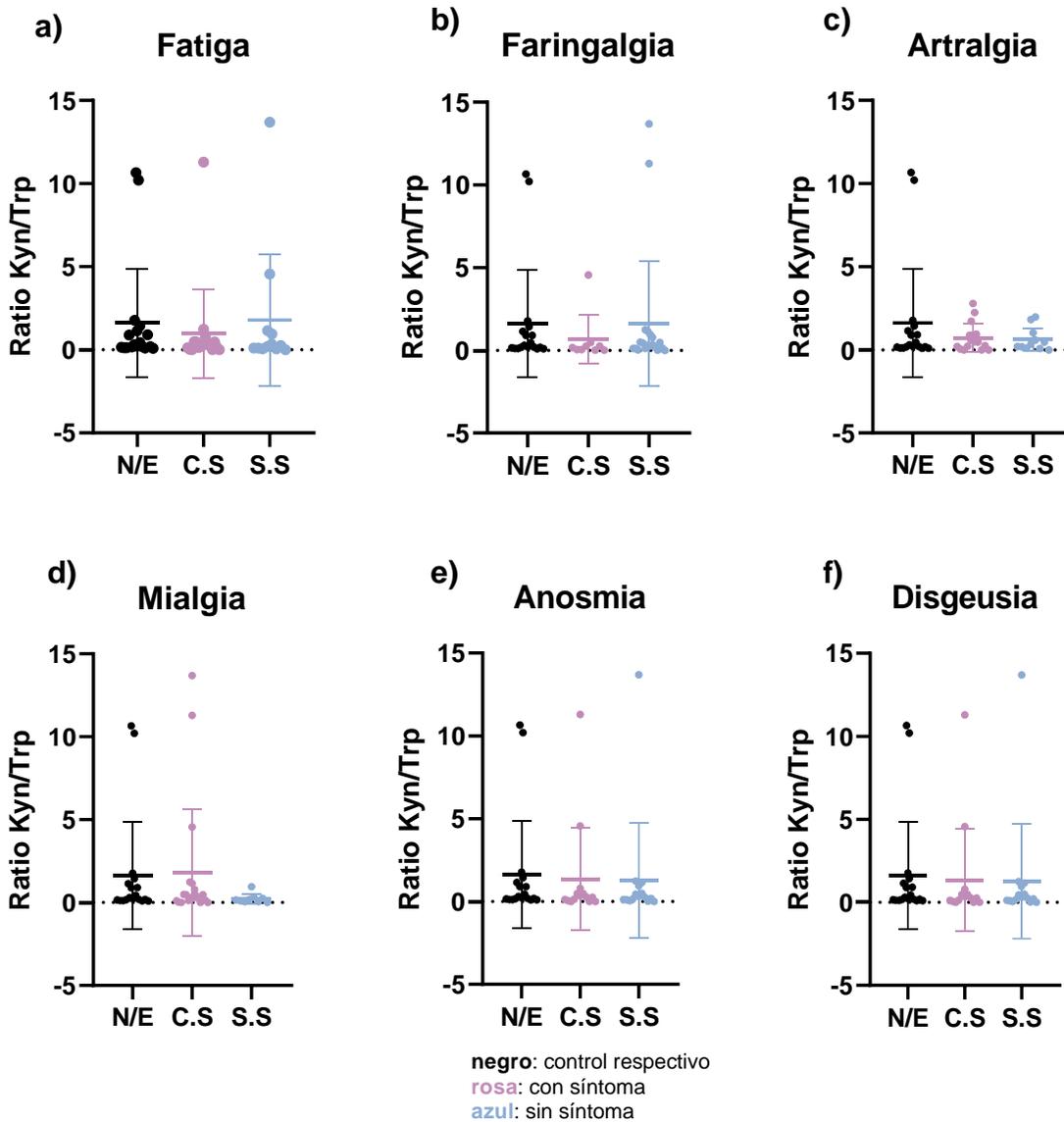


Figura 25. Sintomatología en recuperados COVID-19 a la relación Kyn/Trp(IDO). a) fatiga, b) faringalgia, c) artralgia, d) mialgia, e) anosmia y f) disgeusia. Individuos recuperados de la COVID-19 (n=32). N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con sintoma, S.S: sin sintoma. Se aplicó un test de U Mann-Whitney para comparar los los niveles en individuos con síntomas y sin síntomas, se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$.

La figura 26 muestra los niveles plasmáticos de Trp y Kyn así como la relación Kyn/Trp (IDO) en las diferentes semanas de post convalecencia de los individuos recuperados del SARS-CoV-2. Se observa que no hay cambios significativos para Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp(IDO), interesantemente se observa en la figura 26.a) la tendencia al decremento de Trp y en la figura

26.b) y 26.c) la tendencia al incremento en las semanas 7-10 de recuperación, que interesantemente coincide con el COI de anticuerpos IgG-anti N que presentan los recuperados, como se observa en el la figura 26.d).

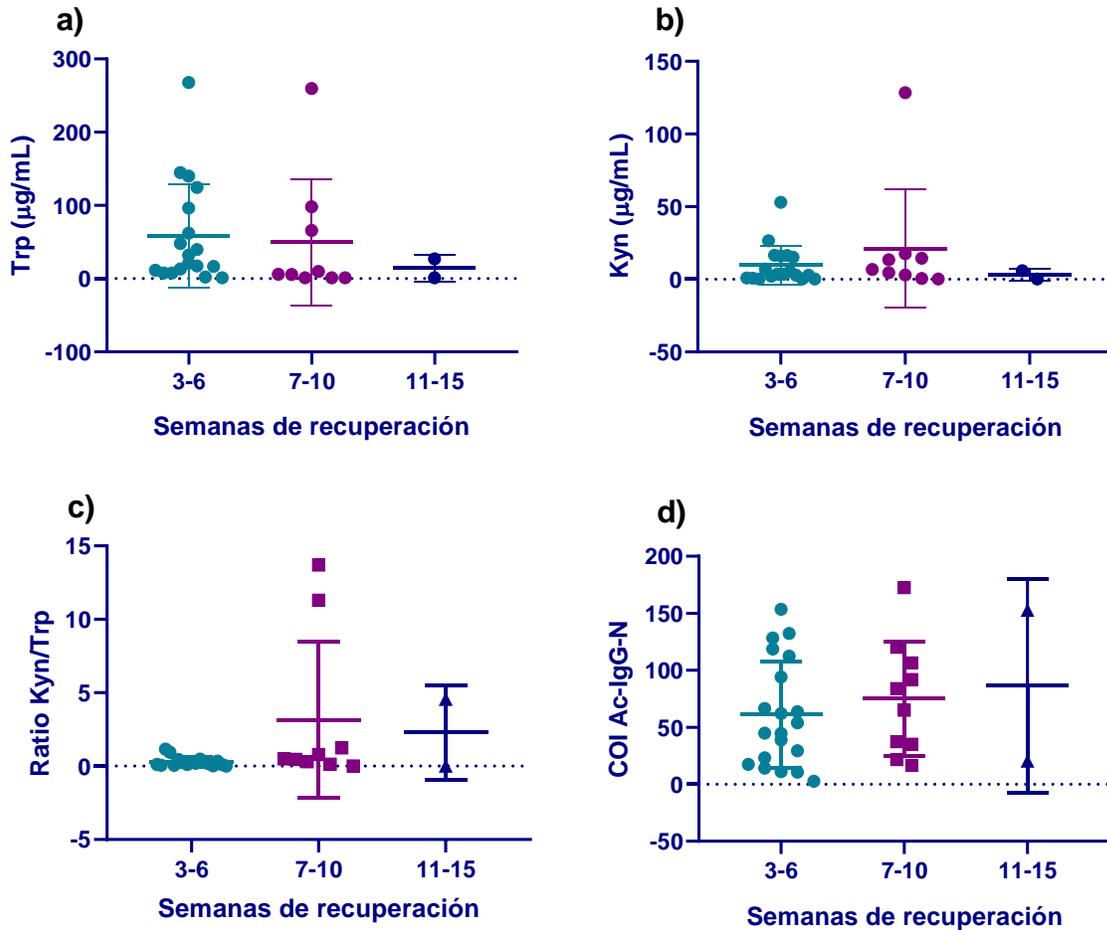


Figura 26. Semanas de recuperación post-COVID-19 en los individuos recuperados. a) Niveles plasmáticos Trp, b) Niveles plasmáticos de Kyn, c) Niveles plasmáticos de Kyn/Trp(IDO), d) COI de anticuerpos IgG-anti-N. Individuos recuperados de la COVID-19 (n=32). N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con síntoma, S.S: sin síntoma. Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

12.9.3 Análisis de la sintomatología sobre los metabolitos en vacunados contra el SARS-CoV-2 COVID-19

En el grupo de vacunados ante el SARS-CoV-2, los síntomas de mayor frecuencia son ($\geq 45\%$): Mialgia (72.7%), fatiga (63.6%), cefalea (45.5%). En la figura 27 y 28 se muestra los resultados del análisis de la sintomatología en activos COVID-19 y los metabolitos (Kyn y Trp) y la relación (Kyn/Trp(IDO)) en cuanto a la presencia del síntoma (C.S) y la ausencia del síntoma (S.S), respecto al control (N/E).

Como se puede observar en la figura 27. a), en el síntoma mialgia no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante, se observó un incremento de Trp en S.S (82.93%) respecto a N/E. Del mismo modo, tampoco se observó cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S pero se observó una tendencia al decremento de C.S (79.48%) y S.S (85.44%), ambos respecto a N/E. La relación Kyn/Trp(IDO) tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S. Sin embargo, se observó una tendencia al decremento de C.S (33.73%) y S.S (46.99%) respecto a N/E, como se muestra en la figura 28.a).

En la figura 27. b), se muestra el síntoma fatiga, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. No obstante C.S presentó un decremento de 41.23% y S.S presentó un aumento de 8.05%, ambos respecto a N/E. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S. Sin embargo, C.S presentó un decremento 82.20% y S.S de 72.13%, ambos respecto a N/E. La relación Kyn/Trp(IDO) tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S. No obstante, se observó un decremento de S.S (42.38%), ambos respecto a N/E, como se muestra en la figura 28.b).

En la figura 27. c), se muestra el síntoma cefalea, se observó que no hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Trp entre C.S y S.S. Así mismo tampoco hay cambios significativos en los niveles plasmáticos de Kyn entre C.S y S.S. Sin embargo, C.S presentó un decremento 80.20% y S.S de 74.61%, ambos respecto a N/E. La relación Kyn/Trp(IDO) tampoco mostró cambios significativos entre C.S y S.S, como se muestra en la figura 28.b).

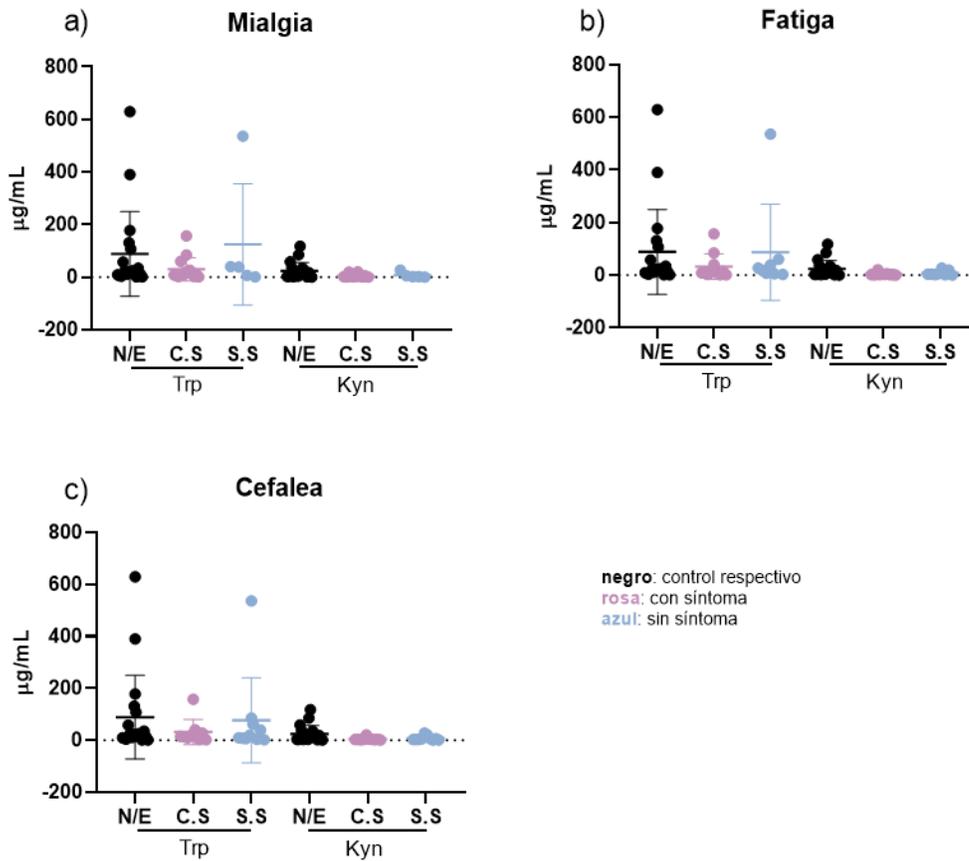


Figura 27. Sintomatología en vacunados contra el SARS-CoV-2 COVID-19 respecto a los metabolitos Trp y Kyn. a) mialgia, b) fatiga, c) cefalea. Individuos vacunados contra el SARS-CoV-2 (n=22), N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con síntoma, S.S: sin síntoma. Se realizó una prueba de ANOVA Kruskal-Wallis con un post-test de Dunn's para los subgrupos y se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

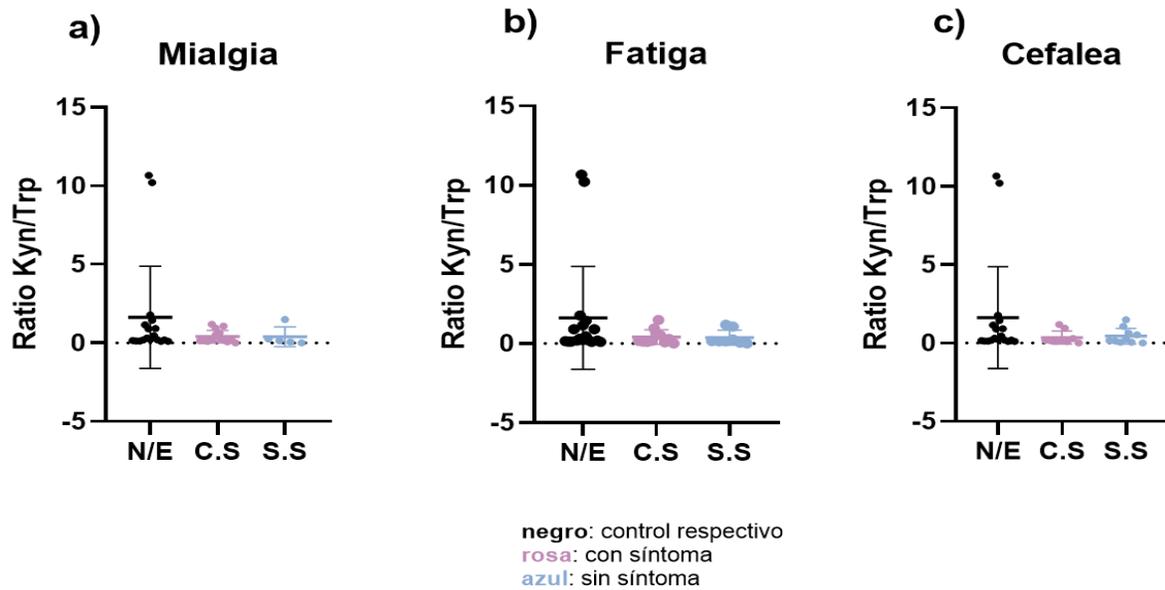


Figura 28. Sintomatología en vacunados contra el SARS-CoV-2 COVID-19 respecto a la relación Kyn / Trp(IDO) . a) mialgia, b) fatiga, c) cefalea. Individuos vacunados contra el SARS-CoV-2 (n=22), N/E: (control) no expuestos al SARS-CoV-2, C.S: con sintoma, S.S: sin sintoma. Se aplicó un test de U Mann-Whitney para comparar los niveles en individuos con síntomas y sin síntomas, se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de $p \leq 0.05$

13. Discusión

El SARS-CoV-2 estimula al sistema inmune y éste responde a través de la expresión de interferones tipo 1 y citocinas proinflamatorias tales como TNF, IL-1, IL-6, e IL-12, todas en su conjunto estimulan la respuesta inflamatoria antiviral, la cual pretende bloquear la infección y eliminar las células infectadas. Los CoV son virus capaces de evadir los mecanismos de expresión de los IFN lo que contribuye a la creciente inflamación y daño del tejido infectado (Abbas, 2018; Anamary & Villegas, 2020; Berrueta, 2007; Muyayalo et al., 2020; Nungaray, 2021; Pastrian-Soto, 2020)

Adicionalmente, la respuesta inflamatoria induce la activación de células Th17 y tipo Th1, así mismo, se aumenta la producción del tipo IgM e IgG contra las proteínas antigénicas del virus. El sistema inmune activado requiere regulación, la cual se da a través de los linfocitos T y B reguladores, estos son capaces de bloquear o regular la respuesta de los linfocitos T efectores (Abbas, 2018; Pastrian-Soto, 2020).

Durante la infección por COVID-19, los cambios metabólicos pueden afectar las funciones del sistema inmune. El presente proyecto se centra en ello, en las funciones del Trp en el sistema inmune, específicamente en su función reguladora a través del metabolismo de Trp por la enzimaIDO que da origen a su principal metabolito; Kyn, que también tiene funciones en el sistema inmune (Almulla, 2022).

El presente proyecto se centra en ello, en las funciones del Trp en el sistema inmune, específicamente en su función reguladora a través del metabolismo de Trp por la enzimaIDO que da origen a su principal metabolito; Kyn, que también tiene funciones en el sistema inmune (Almulla, 2022).

Diversos autores han realizado estudios en individuos con COVID-19 leve, moderado y severo, donde han observado desregulaciones en el metabolismo de los aminoácidos, lípidos, etc. (Lionetto et al., 2021; López-Hernández et al., 2021; Masoodi et al., 2022; Thomas et al., 2020). Sin embargo, una de las vías más afectadas que se ha observado es la del metabolismo del Trp, tomando en cuenta que la desregulación de esta vía obedece a la gravedad de la enfermedad donde se observan diferentes signos y síntomas. Además de la desregulación en el proceso activo de la infección por SARS-CoV-2 se han reportado signos y síntomas persistentes hasta por 6 meses en

recuperados de la COVID-19, lo que la OMS denominó post-COVID-19 (OMS, 2021b), cerca de 1/3 de la población recuperada ha presentado la condición, afectando su calidad de vida y de salud.

En el presente estudio se cuantificaron los niveles plasmáticos de Trp y Kyn en individuos activos a la COVID-19 leve, recuperados de COVID-19 leve, donde no se observó el comportamiento de desregulación que otros autores mencionan en COVID-19 moderado, crítico y fallecidos a causa de la enfermedad, en los que se ha reportado una disminución de Trp y aumento de Kyn y de la relación Kyn/Trp(IDO) que responde a un proceso de regulación intenso que no está logrando su cometido llevando al individuo a un estado grave de la enfermedad (Lawler et al., 2021; Lionetto et al., 2021; Masoodi et al., 2022; Thomas et al., 2020). Nuestros resultados son concordantes con los reportados por (Shi et al., 2021) en una cohorte de individuos con COVID-19 leve donde también observaron una nula desregulación del metabolismo de Trp, lo cual sugiere que la desregulación del Trp obedece a la gravedad de la enfermedad, aunque los niveles plasmáticos de Kyn fueron más elevadas en los individuos expuestos al SARS-CoV-2, especialmente en los activos, lo cual sugiere que en efecto se está llevando a cabo a través de un proceso catabólico del Trp hacia Kyn que se traduce en regulación del sistema inmune en COVID-19 leve, pero no se observa un aumento notable en recuperados COVID-19 ni en vacunados ante el SARS-CoV-2.

Contrario a lo que (Herrera Cartaya et al., 2021) menciona en su estudio, donde se asocia la severidad de la enfermedad COVID-19 a la edad del individuo (59.8 -86.0) el presente estudio mostró una mayor prevalencia (50%) de individuos activos a COVID-19 leve en la edad de 54-62 años. Los recuperados de COVID-19 leve mostraron una mayor prevalencia (31.25%) en la edad 27-35 años, sin embargo todos presentaron por lo menos 2 síntomas post-COVID-19, esta edad difiere con lo la edad reportada en recuperados por (Huang et al., 2021) de 43 ± 15.18 años. Los niveles de Trp pueden descender con la edad, esto induce un proceso de inmunosenescencia que compromete el reconocimiento de antígenos y de activación del sistema inmune (da Silva et al., 2021) este hecho se observa en los activos a COVID-19 leve del presente estudio donde se obtuvo una mayor cantidad de Trp en individuos jóvenes, aunado a la edad, el proceso de infección requiere regulación, por lo que la disminución de Trp en los individuos activos de COVID-19 leve con edad de 54-62 años puede obedecer a los dos factores antes mencionados, además en este mismo grupo del estudio se observó un aumento de Kyn y de la relación Kyn/Trp (IDO), que indica un aumento en la regulación del sistema inmune.

Además de la edad, otro factor que puede afectar los niveles plasmáticos de Trp y Kyn, es el IMC, donde se reporta la disminución de la relación Kyn/Trp (IDO) debido al proceso inflamatorio crónico de bajo grado que se induce en el tejido adiposo visceral; en éste tejido se ha observado la infiltración de linfocitos TCD8+ debido a la ausencia de células T y B reguladoras (López et al., 2017). En el presente estudio, los individuos de los grupos presentaron un IMC que pertenece a la categoría sobrepeso (25.00-29.99) sin embargo los niveles de Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO) no se ven alterados, esto sugiere que están llevando a cabo la regulación de forma normal y la disminución de la relación Kyn/Trp (IDO) obedece a un IMC más elevado que corresponde a la obesidad.

El sexo biológico es otro de los factores que puede afectar los niveles plasmáticos de Trp y Kyn así como de la relación Kyn/Trp(IDO), diversos autores han mencionado una mayor porcentaje de enfermos COVID-19 en individuos masculinos así como se asocia a una mayor gravedad de la enfermedad (Harapan et al., 2020), de manera fisiológica se ha demostrado que los niveles plasmáticos de Trp en masculinos y femeninas es variable, esto debido a los diferentes procesos hormonales y fisiológicos *per se*. Al respecto, los niveles de Trp en masculinos es mayor que en los femeninos. Esto se ha demostrado con el uso de estrógenos y antiandrógenos en individuos masculinos (se reducen los niveles de Trp circulante) y la administración de testosterona en individuos femeninos (aumenta los niveles de Trp en plasma) (Vidal et al., 2020). El estudio de (Lionetto et al., 2021) demostró este hecho en individuos sanos y enfermos de COVID-19 severo, donde se observó una mayor expresión de los niveles plasmáticos de Trp en individuos control masculinos y en individuos con COVID-19 severo respecto a las femeninas de ambas categorías, en cuanto a Kyn encontraron mayor expresión de los niveles plasmáticos de Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO) fue mayor en individuos masculinos con COVID-19 severo respecto a las femeninas de esa categoría y a los controles (femenino y masculino), sin embargo en el presente estudio no se observaron tales cambios significativos, lo cual sugiere una vez más que estas desregularizaciones obedecen a la gravedad de la enfermedad, específicamente se observó una disminución de Kyn/Trp(IDO) en los individuos vacunados . Este resultado es concordante con (Wang et al., 2022) en cuyo estudio metabolómico en individuos vacunados, se observó la relación Kyn/Trp(IDO) disminuida, debido a que la inflamación que induce la vacuna es leve y controlada; interesantemente también en este grupo se observaron los niveles plasmáticos de Kyn y Trp disminuidos de manera simultánea, ya que el sistema inmune utiliza Trp en la respuesta humoral

para la formación de las inmunoglobulinas vacunales, esto podría explicar por qué los controles presentan mayor expresión de los niveles plasmáticos de Kyn que los vacunados.

Los síntomas manifestados por los individuos activos-COVID-19 leve y recuperados correspondieron a los mencionados en la literatura. Al respecto, en los individuos recuperados no se observaron cambios significativos en el síntoma fatiga, anosmia y disgeusia que corresponden a los principales síntomas post COVID-19 reportados (Carod Artal, 2021). Curiosamente, los individuos recuperados con síntoma mostraron una disminución del 68.45% en Kyn respecto a los no expuestos, sugiriendo que existen rutas metabólicas alternas para regulación, aunque se requiere investigación al respecto para mayor certeza. Dentro de las pocas evidencias hasta el momento, en la literatura se ha propuesto la hipótesis de que la vía de la quinurenina tiene relación con la anosmia. La Kyn se metaboliza hacia otras sustancias que pueden tener acciones neurotóxicas (3-HK, QA,) y neuro protectores (KA, XA, NAD⁺). En individuos con COVID-19 severo, anosmia y disgeusia se ha encontrado un aumento de los metabolitos neurotóxicos y una disminución de los metabolitos neuro protectores (Almulla, 2022; Lawler et al., 2021; Lionetto et al., 2021; Masoodi et al., 2022; Wang et al., 2022). Del mismo modo, una de las hipótesis más aceptadas ante la anosmia y la disgeusia es la propuesta por (Jain, 2021), la cual sostiene que las células sustentaculares que se infectan por el virus SARS-CoV-2 liberan interferón gama que induce una mayor expresión de la enzima IDO en las células yuxtapuestas (epiteliales y endoteliales) y el epitelio nasal-olfativo, que da como resultado el metabolismo de Trp a Kyn y sus derivados quinurénicos, entre ellos 3HK y QA, los cuales tienen una alta actividad glutaminérgica que se difunden a través de los receptores NMDA que se expresan en gran cantidad en los bulbos olfatorios, generando neurotoxicidad a través de acción agonista de NMDA. Estos metabolitos también se ven aumentados en el síntoma fatiga y pérdida de la memoria post COVID-19. Los individuos recuperados del presente estudio aún cuando presentan niveles bajos de Kyn en la clasificación con síntoma y sin síntoma, se observa que con el paso de las semanas de recuperación el Trp se ve disminuido a partir de la semana 11-15 de recuperación y se presenta un aumento de Kyn así como de la relación Kyn/Trp(IDO) entre las semanas 7-10 de recuperación, esto aunado a los síntomas persistentes fatiga, anosmia, faringalgia y disgeusia, lo que puede indicar que aún hay un proceso de metabolismo de la Kyn hacia metabolitos neurotóxicos tal como se mencionó antes. Por otro lado, la sintomatología en vacunados presenta una mayor cantidad de Trp y menos cantidad de Kyn, lo cual podría indicar que el Trp se está usando en la respuesta humoral tal como

ya se había mencionado anteriormente. Los síntomas post vacuna presentados por el grupo de vacunados del presente estudio son similares a los reportados por la literatura (Chakraborty et al., 2023; OMS, 2021a; Wong Chew et al., 2021).

En el presente estudio los datos sobre comorbilidades y el tratamiento farmacológico no se tomaron en cuenta, esto debido a que no había datos representativos que permitieran para lograr una inferencia al respecto.

14. Conclusión

1. Los niveles plasmáticos del Trp son similares en los estadios de la enfermedad respecto al grupo control, sin embargo, los niveles plasmáticos de Kyn presentan un aumento significativo en los individuos expuestos al SARS-CoV2.
2. Los individuos vacunados muestran los niveles más bajos de Kyn y la relación Kyn/Trp(IDO) tiene un comportamiento equiparable entre los grupos.
3. Se observó un catabolismo significativo en una relación moderada en controles y activos; mientras que el grupo de vacunados mostró una relación fuerte, sugiriendo la transformación de Trp hacia Kyn.
4. Los factores intrínsecos como el sexo biológico y el IMC no afectaron los niveles plasmáticos del Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp(IDO) en los diferentes estadios de la COVID19 respecto al control. Sin embargo, la edad en el grupo de activos representa un factor a considerar en el grupo etario de 45-53 años vs 54-62 años para Trp; mientras para Kyn en el grupo de 36 – 44 años vs 45 – 53 años. Lo anterior se podría atribuir al papel que cumple la inmunosenescencia *per se* aunado al proceso antiviral.
5. El síntoma más persistente entre los grupos de estudio correspondió a mialgia, sin embargo este síntoma no afectó los niveles plasmáticos de Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp(IDO).
6. Los síntomas asociados a post COVID-19 en la población recuperada se manifestaron como: fatiga, faringalgia, artralgia, mialgia, anosmia y disgeusia mostraron niveles plasmáticos de Trp, Kyn y la relación Kyn/Trp (IDO) de manera heterogénea, sin embargo, se destaca que en el síntoma de fatiga y faringalgia hubo decremento en presencia del síntoma. Al respecto con el síntoma de artralgia, se observó un comportamiento contrario en donde hubo incrementos independientemente de la presencia del síntoma. Interesantemente, aquellos pacientes que manifestaron anosmia y disgeusia mostraron un decremento de Kyn, cuyos metabolitos secundarios podrían estar asociados a estos síntomas. En resumen, las anteriores observaciones podrían estar sugiriendo que el Trp podría estar jugando un papel clave en las secuelas de post-COVID19.

7. En los niveles plasmáticos de Trp y Kyn, así como la relación Kyn/Trp (IDO) en las diferentes semanas post convalecientes de los individuos recuperados del SARS-CoV-2, se observa de manera interesante una tendencia al decremento de Trp así como la tendencia al incremento en Kyn y la relación Kyn/ Trp (IDO) en las semanas 7-10 de recuperación, ambas observaciones coinciden con el COI de anticuerpos IgG-anti N que presentan los recuperados.
8. Se rechaza la hipótesis de manera parcial.

15. Perspectivas

:

1. Evaluar los metabolitos antes mencionados en los diferentes estadios de la enfermedad con sintomatología moderada, grave y crítica, respectivamente.
2. Determinar el fenotipo de células T reguladoras en los diferentes estadios de la enfermedad y su correlación con la actividad enzimática deIDO.
3. Asociar los metabolitos de Trp con la calidad del sueño, depresión y comportamiento en individuos post-COVID-19.

16. Bibliografía

- Abbas, A. . e. al. (2018). *Inmunología celular y molecular*. (9na ed.). ELSEVIER.
- Almulla, A. (2022). *The tryptophan catabolite or kynurenine pathway in COVID-19 and critical COVID-19: a systematic review and meta-analysis*. 1–53. <https://doi.org/https://doi.org/10.1101/2022.02.01.22270268>
- Alves, A., Quispe, A., Avila, A., Valdivia, A., Chino, J., & Vera, O. (2020). Breve historia y fisiopatología del covid-19. *Cuadernos Hospital de Clínicas*, 61(1). http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1652-67762020000100011&script=sci_arttext
- Anamary, S., & Villegas, C. (2020). Características y especialización de la respuesta inmunitaria en la COVID-19. *Revista de La Facultad de Medicina*, 63(4), 7–18. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.4.02>
- Ansone, L., Briviba, M., Silamikelis, I., Terentjeva, A., Perkons, I., Birzniece, L., Rovite, V., Rozentale, B., Viksna, L., Kolesova, O., Klavins, K., & Klovins, J. (2021). Amino Acid Metabolism is Significantly Altered at the Time of Admission in Hospital for Severe COVID-19 Patients: Findings from Longitudinal Targeted Metabolomics Analysis. *Microbiology Spectrum*, 9(3), 1–6. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00338-21>
- Badawy, A. A. B., & Guillemin, G. (2019). The Plasma [Kynurenine]/[Tryptophan] Ratio and Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Time for Appraisal. *International Journal of Tryptophan Research : IJTR*, 12. <https://doi.org/10.1177/1178646919868978>
- Berrueta, L. et al. (2007). Respuesta Inmunitaria Frente a Tumores. *Revista Medica de La Extension Portuguesa*, 1(2), 2527-25–20. https://d1wqtxts1x7le7.cloudfront.net/62064165/articulo4.pdf?1581426299=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DRespuesta_inmunitaria_frente_a_virus.pdf&Expires=1602476785&Signature=eTXoBOF26i4KRf89tMV39N8fnY3NuKZ3KzNsfrBnZVqV67aLR7AeT57m49Oxgk
- Carod-Artal, F. J. (2021). Post-COVID-19 syndrome: Epidemiology, diagnostic criteria and pathogenic mechanisms involved. *Revista de Neurologia*, 72(11), 384–396. <https://doi.org/10.33588/RN.7211.2021230>
- Carod Artal, F. J. (2021). Síndrome post-COVID-19: epidemiología, criterios diagnósticos y mecanismos patogénicos implicados. *Revista de Neurología*, 72(11), 384. <https://www.neurologia.com/articulo/2021230>
- Castellano, F., & Molinier-Frenkel, V. (2020). Control of T-Cell Activation and Signaling by Amino-Acid Catabolizing Enzymes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(December), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.613416>
- Cataldo, L. R., Cortés, V. A., Galgani, J. E., Olmos, P. R., & Santos, J. L. (2014). Papel de la serotonina periférica en la secreción de insulina y la homeostasis de la glucose. *Nutricion Hospitalaria*, 30(3), 498–508. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.30.3.7531>
- CDC. (2022a, March 17). *Índice de masa corporal* . DNPAO . <https://www.cdc.gov/healthyweight/spanish/assessing/bmi/index.html>
- CDC. (2022b, December 30). *Detección de Diabetes*. Centro Para El Control y La Prevención de Enfermedades . <https://www.cdc.gov/diabetes/spanish/basics/getting-tested.html>
- CDC. (2023). *Posibles efectos secundarios después de vacunarse contra el COVID-19*. Centro Para El Control y La Prevención de Enfermedades. <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/expect/after.html>
- Chakraborty, C., Bhattacharya, M., & Dhama, K. (2023). SARS-CoV-2 Vaccines, Vaccine Development Technologies, and Significant Efforts in Vaccine Development during the Pandemic: The Lessons Learned Might Help to Fight against the Next Pandemic. *Vaccines 2023, Vol. 11, Page 682, 11(3)*, 682. <https://doi.org/10.3390/VACCINES11030682>
- CONAHCYT. (2023). COVID-19 Tablero México - CONAHCYT - CentroGeo - GeoInt - DataLab. *Gobierno de Mexico*. <https://datos.covid-19.conacyt.mx/>
- Corral, M. et al. (2013). La enzima Indol amina oxigenasa 2,3 (IDO) y la tolerancia inmune. *Electron J Biomed*, 3, 47–52. <https://biomed.uninet.edu/2013/n3/coma-es.html>
- Cubero, J. et al. (2006). Anotaciones basicas sobre el aminoacido triptofano. *Infancia y Aprendizaje*, 4(15), 123–125. <https://doi.org/10.1080/02103702.1981.10821864>
- D’Amora, P., Silva, I. D. C. G., Budib, M. A., Ayache, R., Silva, R. M. S., Silva, F. C., Appel, R. M., Sarat, S., Pontes, H. B. D.,

- Alvarenga, A. C., Arima, E. C., Martins, W. G., Silva, N. L. F., Diaz, R. S., Salzgeber, M. B., Palma, A. M., Evans, S. S., & Nagourney, R. A. (2021). Towards risk stratification and prediction of disease severity and mortality in COVID-19: Next generation metabolomics for the measurement of host response to COVID-19 infection. *PLoS ONE*, *16*(12 December), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259909>
- da Silva, I. D. C. G., Marchioni, D. M. L., Carioca, A. A. F., Bueno, V., & Colleoni, G. W. B. (2021). May critical molecular cross-talk between indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) and arginase during human aging be targets for immunosenescence control? *Immunity & Ageing: I & A*, *18*(1). <https://doi.org/10.1186/S12979-021-00244-X>
- Ding, X., Ding, X., Ding, X., Bin, P., Bin, P., Bin, P., Wu, W., Wu, W., Wu, W., Chang, Y., Chang, Y., Chang, Y., Zhu, G., Zhu, G., & Zhu, G. (2020). Tryptophan Metabolism, Regulatory T Cells, and Inflammatory Bowel Disease: A Mini Review. *Mediators of Inflammation*, *2020*. <https://doi.org/10.1155/2020/9706140>
- Eroğlu, İ., Eroğlu, B. Ç., & Güven, G. S. (2021). Altered tryptophan absorption and metabolism could underlie long-term symptoms in survivors of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Nutrition*, *90*, 111308. <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2021.111308>
- Esakandari, H., Nabi-Afjadi, M., Fakkari-Afjadi, J., Farahmandian, N., Miresmaeili, S. M., & Bahreini, E. (2020). A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *Biological Procedures Online*, *22*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00128-2>
- Fraser, D., Marat, S., & Martin, C. (2020). Metabolomics Profiling of Critically Ill Coronavirus Disease 2019 Patients: Identification of Diagnostic and Prognostic Biomarkers. *Critical Care Explorations*, *2*(10). <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1097%2FCCE.0000000000000272>
- Galván-Tejada, C. E., Herrera-García, C. F., Godina-González, S., Villagrana-Bañuelos, K. E., Amaro, J. D. D. L., Herrera-García, K., Rodríguez-Quiñones, C., Zanella-Calzada, L. A., Ramírez-Barranco, J., Ruiz de Avila, J. L., Reyes-Escobedo, F., Celaya-Padilla, J. M., Galván-Tejada, J. I., Gamboa-Rosales, H., Martínez-Acuña, M., Cervantes-Villagrana, A., Rivas-Santiago, B., & Gonzalez-Curiel, I. E. (2020). Persistence of covid-19 symptoms after recovery in mexican population. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(24), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249367>
- Giltay, E. J., Bunck, M. C., Gooren, L. J., Zitman, F. G., Diamant, M., & Teerlink, T. (2008). Effects of sex steroids on the neurotransmitter-specific aromatic amino acids phenylalanine, tyrosine, and tryptophan in transsexual subjects. *Neuroendocrinology*, *88*(2), 103–110. <https://doi.org/10.1159/000135710>
- Halabe, J., Robledo, Z., & Fajardo, G. (2022). *Síndrome post-COVID-19 Certezas e interrogantes* (primer edición). Editorial Medica Panamericana. https://anmm.org.mx/publicaciones/ultimas_publicaciones/Libro-Sindrome-post-COVID.pdf
- Harapan, H., Itoh, N., Yufika, A., Winardi, W., Keam, S., Te, H., Megawati, D., Hayati, Z., Wagner, A. L., & Mudatsir, M. (2020). Review article on Coronavirus. *Journal of Infection and Public Health*, *13*(5), 667–673. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.03.019>
- Harkin, A. (2014). Muscling In on Depression. *New England Journal of Medicine*, *371*(24), 2333–2334. <https://doi.org/10.1056/NEJMCIBR1411568>
- Herrera Cartaya, C. E., Betancourt Cervantes, J., Lage Dávila, A., Barreto Fiu, E. E., Sánchez Valdés, L., Elibet Chávez González, E., & Caballero López, A. (2021). Variables associated with severity in COVID-19 patients. *International Journal of Medical and Surgical Sciences*, *8*, 1–15. <https://doi.org/10.32457/ijmss.v8i3.1612>
- Huang, C., Huang, L., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Gu, X., Kang, L., Guo, L., Liu, M., Zhou, X., Luo, J., Huang, Z., Tu, S., Zhao, Y., Chen, L., Xu, D., Li, Y., Li, C., Peng, L., ... Cao, B. (2021). 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet (London, England)*, *397*(10270), 220. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32656-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32656-8)
- IMSS. (2022). *Guía de Práctica Clínica: prevención, diagnóstico y tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro*. IMSS. <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/415GRR.pdf>
- Jain, A. (2021). Deregulated kynurenine metabolism – An alternate hypothesis for COVID-19 associated anosmia. *Medical Hypotheses*, *157*(January), 2020–2022. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2021.110721>
- Lawler, N. G., Gray, N., Kimhofer, T., Boughton, B., Gay, M., Yang, R., Morillon, A. C., Chin, S. T., Ryan, M., Begum, S., Bong, S. H., Coudert, J. D., Edgar, D., Raby, E., Pettersson, S., Richards, T., Holmes, E., Whiley, L., & Nicholson, J. K. (2021). Systemic Perturbations in Amine and Kynurenine Metabolism Associated with Acute SARS-CoV-2 Infection and Inflammatory Cytokine Responses. *Journal of Proteome Research*, *20*(5), 2796–2811. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00052>

- Lionetto, L., Ulivieri, M., Capi, M., Bernardini, D. De, Gentile, G., Casolla, B., Curto, M., Salerno, G., & Schillizzi, S. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information. *ELSEVIER, January*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.166042>
- Lionetto, L., Ulivieri, M., Capi, M., De Bernardini, D., Fazio, F., Petrucca, A., Pomes, L. M., De Luca, O., Gentile, G., Casolla, B., Curto, M., Salerno, G., Schillizzi, S., Torre, M. S., Santino, I., Rocco, M., Marchetti, P., Aceti, A., Ricci, A., ... Borro, M. (2021). Increased kynurenine-to-tryptophan ratio in the serum of patients infected with SARS-CoV2: An observational cohort study. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease, 1867*(3), 166042. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2020.166042>
- López-Hernández, Y., Monárrez-Espino, J., Oostdam, A. S. H. van, Delgado, J. E. C., Zhang, L., Zheng, J., Valdez, J. J. O., Mandal, R., González, F. de L. O., Moreno, J. C. B., Trejo-Medinilla, F. M., López, J. A., Moreno, J. A. E., & Wishart, D. S. (2021). Targeted metabolomics identifies high performing diagnostic and prognostic biomarkers for COVID-19. *Scientific Reports 2021 11:1, 11*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94171-y>
- López-Santiago, N. (2016). La biometría hemática. *Acta Pediátrica de México, 37*(4), 246–249. <https://doi.org/10.18233/APM37NO4PP246-249>
- López, C. P. R., Torres, M. C. G., Salinas, C. A. A., & Medina, O. N. (2017). Mecanismos inmunológicos involucrados en la obesidad. *Departamento de Atención a La Salud, UNAM, 22*(2), 175–196.
- Lopez, E., & Mazzuco, D. (2020). Alteraciones de parámetros de laboratorio en pacientes con SARS-CoV-2. *Acta Bioquímica Clpínica Latinoamericana , 54*(3). http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572020000300006&lng=es&tlng=es
- Luporini, R. et al. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information. January.*
- Masoodi, M., Peschka, M., Schmiedel, S., Haddad, M., Frye, M., Maas, C., Lohse, A., Huber, S., Kirchhof, P., Nofer, J. R., & Renné, T. (2022). Disturbed lipid and amino acid metabolisms in COVID-19 patients. *Journal of Molecular Medicine, 100*(4), 555–568. <https://doi.org/10.1007/s00109-022-02177-4>
- Medina, A., Regalado, M., & Rosario, E. (2021). Acute respiratory distress syndrome in the patients with COVID-19. *National Library of Medicine, 3* (4). <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.appr.2021.100097>
- Méndez, K., Santoyo, M., & Sldaña, K. (2019). Metabolómica como una nueva herramienta para el diagnóstico oportuno en enfermedades ni transmisibles. *Rev. Salud Ambiental, 19*(2), 109–115.
- Miyajima, M. (2020). Amino acids: key sources for immunometabolites and immunotransmitters. *International Immunology, 32*(7), 435–446. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXAA019>
- Moreno Calderón, X., Vialva Guerrero, A., & copia, S. (2019). GENERALIDADES EN MICROBIOTA INTESTINAL. *Acta Científica de La Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, 22*(1), 27–34.
- Muyayalo, K. P., Huang, D. H., Zhao, S. J., Xie, T., Mor, G., & Liao, A. H. (2020). COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: Potential relationship to pregnancy outcomes. *American Journal of Reproductive Immunology, July*, 1–7. <https://doi.org/10.1111/aji.13304>
- NCI, I. N. del C. (2021). *Definición de metabolómica - Diccionario de cáncer del NCI*. Instituto Nacional Del Cancer. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/metabolomica>
- Nungaray, E. (2021). *Determinacion de TGF-B asi como sCTLA-4 como molceulas inhibitorias de la co estimulacion en individuos recuperados de COVID-19*. Universidad Autonoma de Zacatecas.
- Oliva, J. (2020). Replicación y patogénesis del SARS-CoV-2. *Departamento de Gobernanza y Gestión Del Conocimiento Del Instituto Nacional de Salud, 3*(2), 79–86. <https://doi.org/doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>
- OMS/WHO. (2023). *Panel de control del coronavirus (COVID-19) de la OMS | Panel de control del coronavirus (COVID-19) de la OMS con datos de vacunación*. Organización Mundial de La Salud. <https://covid19.who.int/>
- OMS. (2021a). *Vacunas*. <https://www.who.int/topics/vaccines/es/>
- OMS. (2021b, December 16). *Coronavirus disease (COVID-19): Post COVID-19 condition*. Organización Mundial de La Salud . [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-\(covid-19\)-post-covid-19-](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-(covid-19)-post-covid-19-)

condition?gclid=CjwKCAiAjs2bBhACEiwALTBWZfLXnVKw1FXK-4x4fy9mmzYAXo2bUtaEWhzeJNorV9wINIpd_4T1xoCdRkQAvD_BwE

- OMS. (2023). *Declaración acerca de la decimoquinta reunión del Comité de Emergencias del Reglamento Sanitario Internacional (2005) sobre la pandemia de enfermedad por coronavirus (COVID-19)*. Organización Mundial de La Salud. [https://www.who.int/es/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/es/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic)
- Pablo Díaz Piedra, G. O. F. H. G., R Daniel Cervantes-Villagrana, J. M. P.-B. L. E., & Alcántara Gómez. (2012). Determinación de los intervalos de referencia de biometría hemática en población mexicana. *Medigraphic*, 59(4), 243–250. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2012/pt124j.pdf>
- Pascarella, G., Strumia, A., Piliago, C., Bruno, F., Del Buono, R., Costa, F., Scarlata, S., & Agrò, F. E. (2020). COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *Journal of Internal Medicine*, 288(2), 192–206. <https://doi.org/10.1111/joim.13091>
- Pastrian-Soto, G. (2020). Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *International Journal of Odontostomatology*, 14(3), 331–337. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2020000300331>
- Picone, V., Martora, F., Fabbrocini, G., & Marano, L. (2022). “Covid arm”: Abnormal side effect after Moderna COVID-19 vaccine. *Dermatologic Therapy*, 35(1). <https://doi.org/10.1111/DTH.15197>
- Platten, M., Nollen, E. A. A., Röhrig, U. F., Fallarino, F., & Opitz, C. A. (2019a). Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond. *Nature Reviews Drug Discovery* 2019 18:5, 18(5), 379–401. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0016-5>
- Platten, M., Nollen, E. A. A., Röhrig, U. F., Fallarino, F., & Opitz, C. A. (2019b). Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond. *Nature Reviews Drug Discovery* 2019 18:5, 18(5), 379–401. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0016-5>
- Rodríguez de Cossío, A., & Rodríguez Sánchez, R. (2011). Pruebas de laboratorio en Atención Primaria (I). *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 37(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/J.SEMERG.2010.06.006>
- Ruiz-Perez, D., Guan, H., Madhivanan, P., Mathee, K., & Narasimhan, G. (2020). So you think you can PLS-DA? *BMC Bioinformatics*, 21(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12859-019-3310-7/FIGURES/6>
- Salud, O. M. de la. (2021). *La OMS caracteriza a COVID-19 como una pandemia - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. <https://www.paho.org/es/noticias/11-3-2020-oms-caracteriza-covid-19-como-pandemia>
- Sánchez Valverde, A. J., Miranda Temoche, C. E., Castillo Caicedo, C. R., Arellano Hernández, N. B., Tixe Padilla, T. M., Sánchez Valverde, A. J., Miranda Temoche, C. E., Castillo Caicedo, C. R., Arellano Hernández, N. B., & Tixe Padilla, T. M. (2021). Covid-19: fisiopatología, historia natural y diagnóstico. *Revista Eugenio Espejo*, 15(2), 98–114. <https://doi.org/10.37135/EE.04.11.13>
- SEMG. (2021). Guía clínica para la atención al paciente long COVID/COVID persistente. In *Sociedad Española de Medicos Generales y de familia* (pp. 1–12). <https://www.semg.es/index.php/consensos-guias-y-protocolos/363-guia-clinica-para-la-atencion-al-paciente-long-covid-covid-persistente>
- Seo, S.-K., & Kwon, B. (2023). Immune regulation through tryptophan metabolism. *Experimental & Molecular Medicine*, April, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01028-7>
- Shi, D., Yan, R., Lv, L., Jiang, H., Lu, Y., Sheng, J., Xie, J., Wu, W., Xia, J., Xu, K., Gu, S., Chen, Y., Huang, C., Guo, J., Du, Y., & Li, L. (2021). The serum metabolome of COVID-19 patients is distinctive and predictive. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 118, 154739. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154739>
- Singhal, T. (2020). Review on COVID19 disease so far. *The Indian Journal of Pediatrics*, 87(April), 281–286.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, J., & Crouch, S. R. (2015). Preparación de disoluciones estándar básicas. In *Fundamentos de química analítica*.
- SOLVO. (2022). *LATI - Transporters*. Solvo Biotechnology. <https://www.solvobiotech.com/transporters/lat1>
- Soto, G. P. (2020). Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune Genetic and Molecular Basis of COVID-19 (SARS-CoV-2) Mechanisms of Pathogenesis and Immune. In *Int. J. Odontostomat* (Vol. 14, Issue 3).

- Thomas, T., Stefanoni, D., Reisz, J. A., Nemkov, T., Bertolone, L., Francis, R. O., Hudson, K. E., Zimring, J. C., Hansen, K. C., Hod, E. A., Spitalnik, S. L., & D'Alessandro, A. (2020). COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI Insight*, 5(14). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.140327>
- Vidal, R., García-Marchena, N., O'Shea, E., Requena-Ocaña, N., Flores-López, M., Araos, P., Serrano, A., Suárez, J., Rubio, G., Rodríguez de Fonseca, F., Colado, M. I., & Pavón, F. J. (2020). Plasma tryptophan and kynurenine pathway metabolites in abstinent patients with alcohol use disorder and high prevalence of psychiatric comorbidity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 102(March), 109958. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109958>
- Vyavahare, S., Kumar, S., Cantu, N., Kolhe, R., Bollag, W. B., McGee-Lawrence, M. E., Hill, W. D., Hamrick, M. W., Isales, C. M., & Fulzele, S. (2021). Tryptophan-Kynurenine Pathway in COVID-19-Dependent Musculoskeletal Pathology: A Minireview. *Mediators of Inflammation*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/2911578>
- Wang, Y., Wang, X., Luu, L. D. W., Chen, S., Jin, F., Wang, S., Huang, X., Wang, L., Zhou, X., Chen, X., Cui, X., Li, J., Tai, J., & Zhu, X. (2022). Proteomic and Metabolomic Signatures Associated With the Immune Response in Healthy Individuals Immunized With an Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine. *Frontiers in Immunology*, 13, 2282. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.848961/BIBTEX>
- WHO. (2021). A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *World Health Organization*, October. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(21\)00703-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(21)00703-9)
- Wong Chew, R. M., Díaz Ramírez, J. B., Bautista Carbajal, P., García León, M. L., Ángel Ambrocio, A. H., Vite Velázquez, X., Cortázar Maldonado, L. A., Valadez González, Y., Vásquez Martínez, L. M., Gutiérrez Bautista, D., Chávez Aguilar, J. E., Cruz Salgado, A. X., Vilchis, H. J., Mosqueda Martínez, E. E., Morales Fernández, J. A., Ramírez Velázquez, I. O., Perón Medina, L. Á., & García Osorno, Z. R. (2021). Vacunas contra la COVID-19. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 19(3), 429–444. <https://doi.org/10.35366/101742>
- Xu, J., Lou, P., & Yin, Z. (2021). Plasma Metabolomic Profiling of Patients Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) With Pulmonary Sequelae 3 Months After Discharge. *Clinical Infectious Diseases*, 73(12), 2228–2239. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/cid/ciab147>

17 Material suplementario

S.1) Fundamento teórico de la técnica UPLC-MS

La cromatografía es un método analítico ampliamente utilizado que separa y determina los componentes químicos de mezclas que son complejas en su composición para su posterior identificación y determinación, los componentes se separan a través de la fase estacionaria basándose en las diferencias de velocidades a las cuales son transportados por una fase móvil líquida través de una fase estacionaria fija que está dentro de una columna, cada compuesto tiene un tiempo de retención (pico) característico donde el tamaño relativo de un pico (área o altura) depende de la señal que genera el detector y es proporcional a los niveles plasmáticos del compuesto de interés (Skoog et al., 2015).

En la cromatografía líquida de alta resolución (por sus siglas en inglés UPLC) la fase móvil es un disolvente líquido que contiene la muestra en la forma de mezcla de solutos. Con el fin de obtener velocidades de flujo más eficientes el líquido se presuriza a cientos de libras por pulgada cuadrada, Se añade a la columna cromatográfica la muestra que contenga la mezcla de analitos problema, se da inicio a la elución de los solutos que son transportados por la fase móvil, al recorrer la columna cada soluto adquiere una velocidad diferente lo que genera una separación al salir de la columna, donde los compuestos separados son interrogados por un detector específico, posteriormente se obtiene un cromatograma del cual se puede llevar a cabo el análisis cualitativo (tiempo de retención) y cuantitativo (área o altura) (Skoog et al., 2015).

El detector ideal para UPLC seleccionado en este proyecto es espectrometría de masas, esta combinación produce una herramienta analítica bastante poderosa, los límites comerciales de detección en EM es de <1 pg, este detector identifica los analitos que salen de la columna de UPLC. El espectrómetro de masas es un instrumento que produce iones, los separa de acuerdo con sus valores m/z , los detecta y los grafica en un espectro de masas (Skoog et al., 2015).

En la EM, la cual es una herramienta analítica versátil y bastante eficiente conformado por un espectrómetro de masas el cual permite obtener información sobre la identidad de compuestos desconocidos, la masa molecular, la composición elemental y la estructura química. En la EM las

moléculas del analito se convierten en iones al aplicarles energía los cuales se separan de acuerdo en su relación carga masa (m/z) a una señal de tipo eléctrica. Estos iones son dirigidos al transductor secuencialmente por medio de un barrido, esto se grafica contra la relación masa-carga y se obtiene el espectro de masas (Skoog et al., 2015)

S.2) Análisis PLS-DA ante los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina.

PLS-DA (análisis discriminante parcial de mínimos cuadrados) es la versión “supervisada de PCA (análisis de principales componentes), al tener pocas muestras es más recomendable el uso de PLS-DA ya que conserva en su primer componente la mayor covarianza posible entre los datos originales y el etiquetado, además supone una mayor separación en clusters (Ruiz-Perez et al., 2020).

La figura 29, muestra los resultados del PLS-DA en componentes principales, donde los separa en 2, obsérvese que no hay agrupaciones específicas en los componentes. Y que el componente 1 tiene el 100% de la covarianza y el componente 2 tiene 0%.

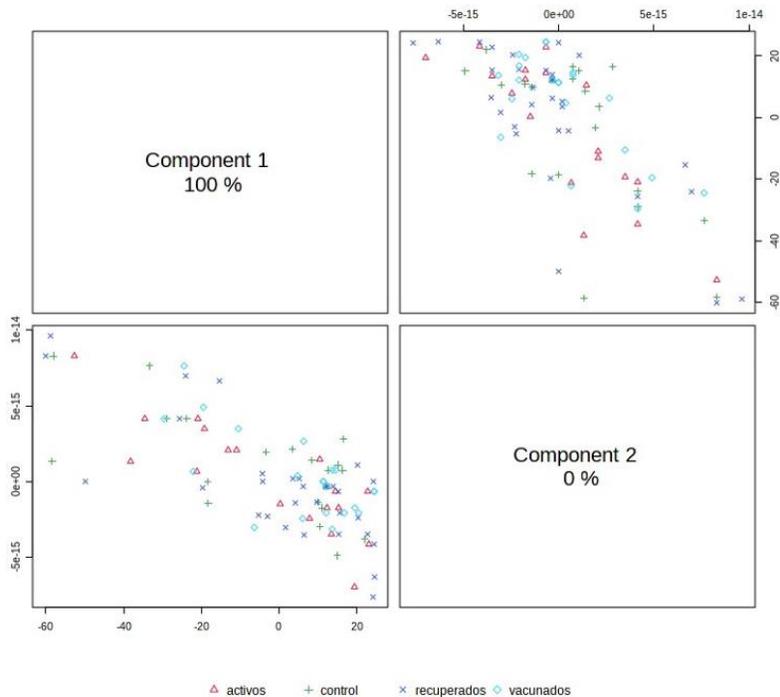


Figura 29. Gráfico de componentes principales PLS-DA de los niveles plasmáticos de Trp y Kyn. Se usaron los resultados de los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina. Cruces verdes representa los individuos control (n=20), Triángulos rojos son individuos activos COVID-19 (n=20), cruz azul representa los individuos recuperados COVID-19 (n =32) y rombo azul cian representa los individuos vacunados SARS-CoV-2(n =22).

La figura 30, muestra el score plot de PLS-DA, se observa que no hay diferenciaciones de grupos, se superponen aunque se forman 4 grupos distintos lo cual indica que no hay diferenciación específica a pesar de que PLS-DA es bastante eficaz en la diferenciación de clústeres (grupos).

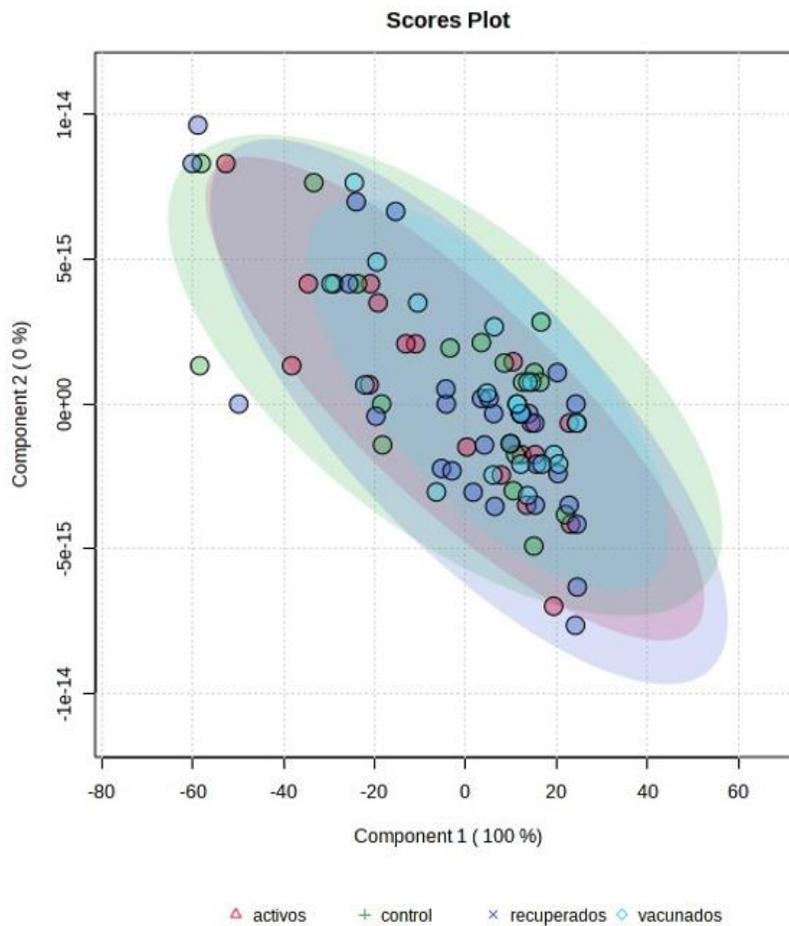


Figura 30. Score plot de PSL-DA de los niveles plasmáticos de Trp y Kyn. Se usaron los resultados de los niveles plasmáticos de triptófano y quinurenina. El color verde pertenece a individuos control(n=20), el punto rojo pertenece a individuos activos COVID-19 (n=20), el lila pertenece a los individuos recuperados COVID-19 (n=32), el azul pertenece a los individuos vacunados SARS-CoV-2 (n=22). Se observan los datos sin generación de clústeres.

S.3) Gráficos de curva de calibración

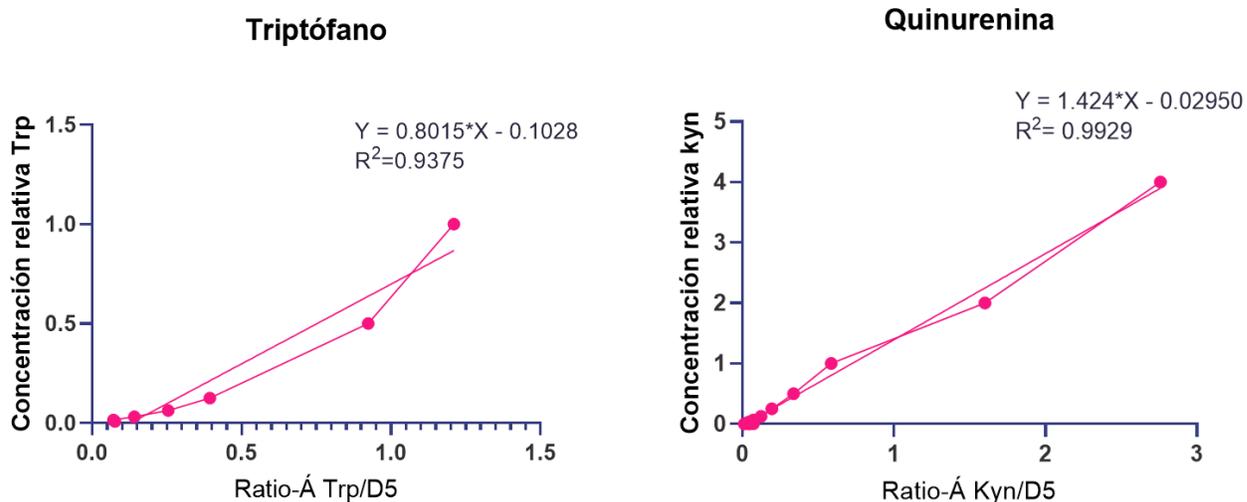


Figura 31. Curva de calibración. a) curva de calibración de L-Trp, b) curva de calibración de L-Kyn.

Tabla 15. Estándares

	Reactivo	Almacenamiento	Empresa	lote
1	L-triptófano	-20°C	Cayman	0604166-12
2	L-triptófano (Indol D5) Estándar interno	-20°C	Sigma-Aldrich	MB
3	L-quinurenine	19°C	Sigma-Aldrich	#BCB2138181

S.4) Generalidades de instrumentación.

Tabla 16. Generalidades de instrumentación

	Triptófano	Quinurenina
Formula	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃
Modo de extracción	XIC	XIC
Respuesta de factor de calibración	1.0	1.0
Tiempo de retención (min)	4.80	3.00
Ventana de extracción	0.5	1.0
Masa neutral (Da)	204.08988	
Aductos	+H	+H
m/z previsto	205.09715	209.0962
Fragmento m/z	188.07000	146.0600

Tabla 17. Flujo cromatográfico

	Time (min)	Flujo (mL/min)	Composición de A (%)	Composición de B (%)	Curva
1	0.00	0.500	99.0	1.0	Inicial
2	2.0	0.500	99.0	1.0	6
3	3.50	0.500	95.0	5.0	6
4	5.50	0.500	5.0	95.0	6
5	6.50	0.500	5.0	95.0	6
6	7.50	0.500	99.0	1.0	6
7	9.50	0.500	99.0	1.0	6
8	11.50	0.500	99.0	1.0	6

S.4) Material visual de apoyo en teoría de linfocitos T reguladores e IDO

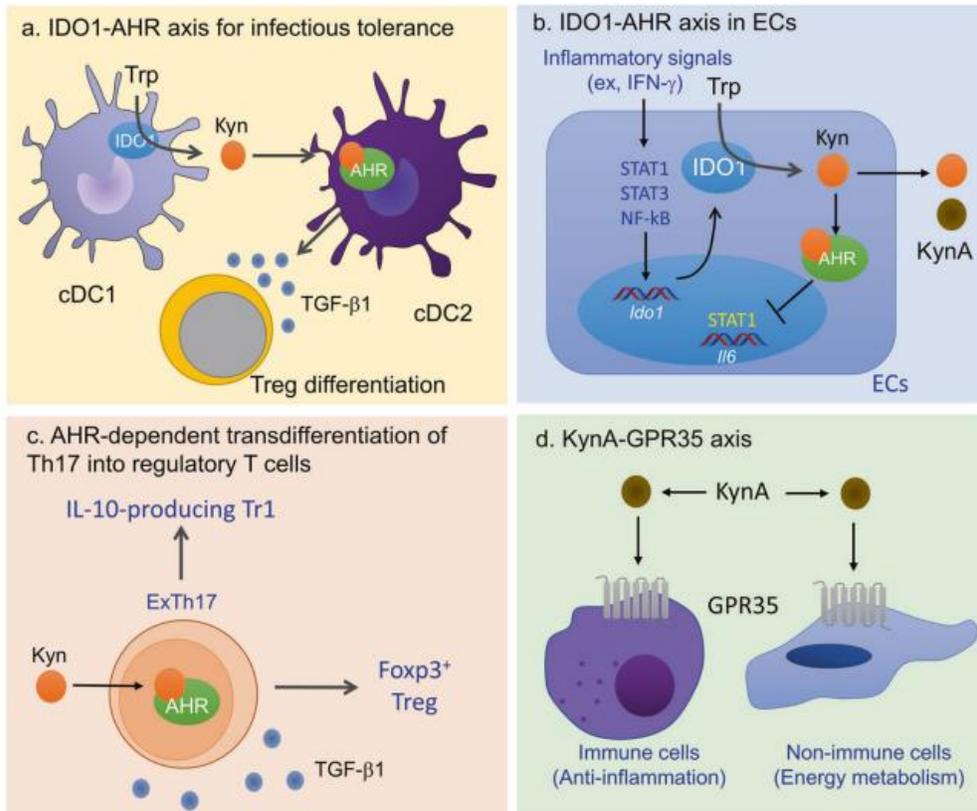


Figura 32. Regulación del sistema inmune a través de Trp y la vía de la quinurenina.

Tomada de (Seo & Kwon, 2023).

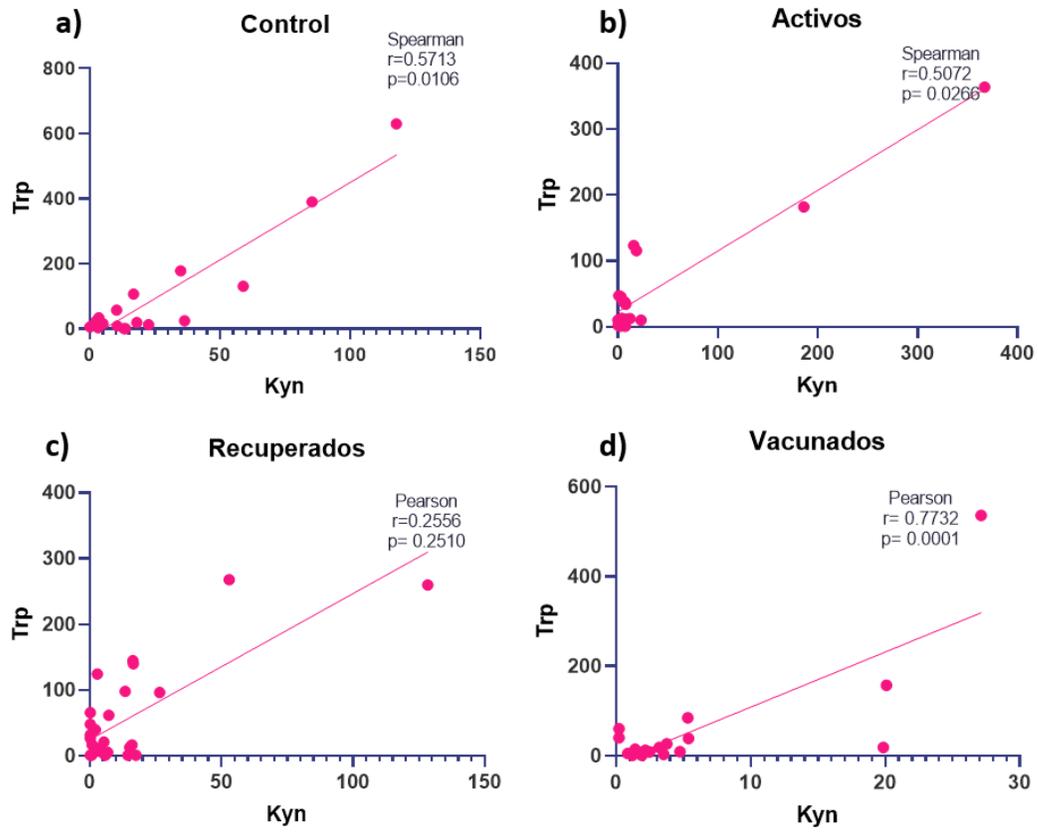


Figura 33. Correlación entre los niveles plasmáticos de Trp y Kyn. Control (n=20), activos (n=20), recuperados (n=32), vacunados (n=22)..

Tabla 18. Vacunas del grupo de estudio

Vacuna	Tipo	# dosis	n (%)	Síntomas del grupo Vacunados
Pfizer BioTech	ARNm *PEG	2	12 (54.54)	Fiebre, faringalgia, secreción nasal, fatiga, amenorrea, insomnio, gripe, ojos rojos, cefalea, mialgia, escalofríos, activación de herpes, artralgia.
AstraZeneca	Vector viral no replicante (genética modificada de adenovirus) *polisorbato 80	2	5 (22.72)	Fiebre, mialgia, fatiga, escalofríos, amenorrea, cefalea, amenorrea.
Sinovac	Virus inactivo	2	3 (13.63)	Rinorrea, mialgia
Cansino	Vector viral no replicante (genética modificada adenovirus)	1	1(4.54)	Fiebre, mialgia, fatiga, escalofríos
Moderna	ARN (fragmento de código genético del virus) *rxn hipersensibilidad retardada	2	1 (4.54)	Fiebre, ojos rojos, cefalea, mialgia, fatiga, escalofríos, nauseas

18. Anexos

18.1) Productos Académicos:

Constancias de participación:

1.- XXV Congreso Nacional de Inmunología Querétaro 2023. SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGIA (SMI), Universidad Autónoma de Querétaro (4-8 de junio 2023).



SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



XXV CONGRESO NACIONAL DE INMUNOLOGÍA QUERÉTARO 2023

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

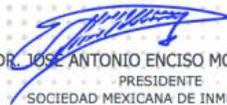
Edna Judith Nungaray Anguiano

Por su participación como **ponente modalidad CARTEL** con el trabajo titulado:

Determination of tryptophan and kynurenine in plasma of active, recovered and vaccinated individuals against SARS-CoV-2.

XXV Congreso Nacional de Inmunología Querétaro 2023

Querétaro, Qro., México, del 4 al 8 de junio del 2023


DR. JOSÉ ANTONIO ENCISO MORENO
PRESIDENTE
SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA


DR. JULIO ENRIQUE CASTAÑEDA DELGADO
SECRETARIO
SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA



<https://revistabiociencias.uan.edu.mx>

Revista Bio Ciencias

ISSN 2007-3380I

Memorias del XXV Congreso Nacional de Inmunología Querétaro 2023 | 4 al 8 junio 23



SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA



Resumen corto

Determination of tryptophan and kynurenine in plasma of active, recovered and vaccinated individuals against SARS-CoV-2.

Nungaray Anguiano, E.J. ^{1*} Méndez-Frausto, G. ², Oropeza-Valdez, J.J. ³,
Romo-García, M.F. ², García-López, D.A. ⁴, Lopez-Hernandez, Y. ⁴,
Godina González, S. ¹, Galván Tejada, C.E. ⁵, Navarro Solís, O. ¹,
Martínez-Orozco, R.A. ¹, Bollain-y Goitia de la Rosa, J.J. ⁶,
González-Curiel, I.E. ^{1*}

¹Maestría en Ciencia y Tecnología Química, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac. ²Laboratorio de Inmunotoxicología, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac. ³Laboratorio de Biología en Sistemas, Instituto de Medicina Genómica, CDMX, México. ⁴Laboratorio de Metabolómica y Proteómica, Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac. ⁵Unidad Académica de Ingeniería Eléctrica, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac. ⁶Laboratorio de Biología Molecular e Inmunología, Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac.
E-mail: irmacuriel@uaz.edu.mx, 32134310@uaz.edu.mx.

COVID-19 is the disease caused by SARS-CoV-2, the coronavirus that emerged in December 2019. This disease characterizes by a metabolic imbalance which contributes to a progression in seriousness and duration of itself. Tryptophan (TRP) and Kynurenine (KYN) are Metabolites with an essential role in the immunological process of disease. Determine TRP and KYN by UPLC-MS among different disease stages on vaccinated subjects. Intensities of TRP and KYN were determined on the plasma of subjects classified into 4 groups: Control (n=20), Actives COVID-19 (n=20), Recovered COVID-19 (n=32), Vaccinated(n=22). Extraction of TRP and KYN was performed on liquid phase with acetonitrile and resuspended on MQ water plus formic acid. As an internal standard, Tryptophan indol-D5 (10µg/ml) was added to samples and were analyzed on UPLC-MS equipment. For statistical

analysis Shapiro-wilk test was performed, followed by descriptive statistics and one-way ANOVA for each metabolite. Intensities obtained between groups Control (TRP: 63.70 (246.2) and KYN: 44.05±22.94), Actives (TRP: 58.45(246.4) and KYN: 32.36±10.34), Recovered (TRP: 93.93±65.83 and KYN:43.13±11.96) and Vaccinated (TRP: 83.53±54.56 and KYN:26.65±11.96) didn't show significant statistical differences. Neither changes statistically significant on relation KYN/TRP upon the 4 groups (Control: 0.3400(3.46), Actives: 0.3343(1.822), recovered: 0.2968(1.975) and Vaccinated: 0.2458±0.1788) were found. No alteration was observed in TRP or KYN levels among the different disease stages and on Vaccinated. This suggests the existence of other immune metabolites intrinsic to COVID-19 pathogenesis.

3.- XVJCQ-UAZ.(24-25 de mayo 2023)

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
ZACATECAS
Francisco García Salinas

A TRAVÉS DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y LA
COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

JORNADAS DE CIENCIAS QUÍMICAS
DR. GERARDO MARTÍNEZ GUAJARDO

OTORGAN LA PRESENTE
CONSTANCIA

A: NUNGARAY ANGUIANO EJ, MÉNDEZ-FRAUSTO G, OROPEZA-VALDEZ JJ, ROMO-GARCÍA MF, GARCÍA- LÓPEZ DA, LOPEZ-HERNANDEZ Y, GODINA GONZÁLEZ S, GALVÁN TEJADA C.E, NAVARRO SOLÍS O, MARTÍNEZ-OROZCO R.A, BOLLAIN-Y GOITIA DE LA ROSA JJ, TERÁN-HERNÁNDEZ M, GONZÁLEZ-CURIEL

Por su valiosa participación en la presentación del trabajo en modalidad Cartel:
"Determinación de triptófano en plasma de individuos activos, recuperados y vacunados ante el SARS-CoV-2"

durante las *XV Jornadas de Ciencias Químicas "Dr. Gerardo Martínez Guajardo"*
en el marco del "60 Aniversario de la Unidad Académica de Ciencias Químicas"
llevadas a cabo los días 24 y 25 de mayo de 2023 en las instalaciones de la
Universidad Autónoma de Zacatecas, con un valor curricular de 10 horas crédito.

Zacatecas, Zac., 25 de mayo de 2023

Dr. Juan Armando Flores de la Torre
Coordinador del
Área de Ciencias de la Salud

SOMOS
ANTE, CONCIENCIA Y
DESARROLLO
CULTURAL

Dra. María Angélica López Luna
Directora de la
Unidad Académica de Ciencias Químicas

60 Aniversario UAQ 1963 - 2023

18.2) Retribución Social:

1.- Docente Adjunto en UAQROO (otoño 2022)



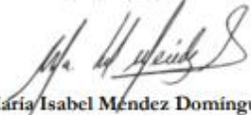
Chetumal, Quintana Roo, 6 diciembre 2022
UAEQROO/CUAZS/DCS/DCE/049/2022

A QUIEN CORRESPONDA

Por medio de la presente se hace constar que la **QFB. Edna Judith Nungaray Anguiano**, durante su estancia de investigación participó en actividades docentes en la asignatura **AD-DCS-1 Estructura y Función I nivel Molecular**, impartida por la profesora titular Dra. Liliana Karina Ruiz García en la División de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Quintana Roo, durante el periodo de otoño 2022.

Se expide la presente para los fines que correspondan.

Atentamente


M.E. María Isabel Méndez Domínguez
Jefa del Departamento de Ciencias de Enfermería



MIMD/nlca
C.c.p. Mtra. Alinda Concepción Lara Canto – Responsable del área de personal DCS-UAEQROO
C.c.p. Archivo.

2.- Docente adjunto en UAZ. Inmunopatología: Inmunodeficiencias. (24 de enero 2023)


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS
"Francisco García Salinas"
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO INGENIERÍA QUÍMICA BIOTECNOLOGÍA INGENIERÍA BIOQUÍMICA QUÍMICO EN ALIMENTOS
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

Const. C.Q. No. 295/2023
Admón 2021-2025

A QUIEN CORRESPONDA:

LA QUE SUSCRIBE **DRA. EN C. MARÍA ARGELIA LÓPEZ LUNA**, DIRECTORA DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS, DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS, "Francisco García Salinas"

HACE CONSTAR:

Que la **M. en C. EDNA JUDITH NUNGARAY ANGUIANO**, fungió como docente en la materia optativa INMUNOPATOLOGIA, con el tema "INMUNODEFICIENCIA", de la Licenciatura de Químico Farmacéutico Biólogo, en esta Unidad Académica de Ciencias Químicas, la cual fue impartida el día 24 de enero de 2023 con una duración de 2 horas, durante el periodo de diciembre de 2022 a enero de 2023.

Se extiende la presente a solicitud de la interesada para los usos y fines legales que a la misma convenga, en la ciudad de Zacatecas capital del Estado de Zacatecas, a los seis días del mes de marzo de dos mil veintitrés.

ATENTAMENTE
"SOMOS ARTE, CIENCIA Y DESARROLLO CULTURAL"


DIRECCIÓN
2021-2025

Article

Downregulation of sCD40 and sCTLA4 in Recovered COVID-19 Patients with Comorbidities

Gwendolyne Méndez-Frausto ^{1,†}, Susana Godina-González ^{2,†} , César E. Rivas-Santiago ^{3,†},
Edna Nungaray-Anguiano ¹, Gretel Mendoza-Almanza ³, Bruno Rivas-Santiago ⁴ , Carlos E. Galván-Tejada ⁵ 
and Irma E. Gonzalez-Curiel ^{1,*} 

¹ Laboratorio de Inmunotoxicología y Terapéutica Experimental, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas 98160, Mexico

² Laboratorio de Biomarcadores, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas 98160, Mexico

³ CONACYT-Academic Unit of Chemical Sciences, Autonomous University of Zacatecas, Zacatecas 98160, Mexico

⁴ Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas, IMSS, Zacatecas 98000, Mexico

⁵ Unidad Académica de Ingeniería Eléctrica, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas 98000, Mexico

* Correspondence: irmacuriel@uaz.edu.mx; Tel.: +52-492-1324310

† These authors contributed equally to this work.

4.- Divulgación científica: Sustancias Tóxicas en mi Hogar . UAQROO (28-30 septiembre 2023)



18.3) Estancia de investigación:



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE QUINTANA ROO

OTORGA LA PRESENTE

Constancia

A:

EDNA JUDITH NUNGARAY ANGUIANO

ESTUDIANTE DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS, QUIEN REALIZÓ UNA ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN, BAJO LA SUPERVISIÓN DE LA DRA. LILIANA KARINA RUIZ GARCÍA, DURANTE EL PERIODO COMPRENDIDO DEL 5 DE SEPTIEMBRE AL 30 DE NOVIEMBRE DE 2022.

CHETUMAL, QUINTANA ROO, A 22 DE NOVIEMBRE DE 2022

LIC. HUGO JOSÉ MANRIQUE AGUILAR
DIRECTOR GENERAL DE LA DIRECCIÓN DE
GESTIÓN EDUCATIVA

FOLIO: 0056/2022