

Título de la Propuesta: Evaluación del efecto del Colágeno-Polivinilpirrolidona como co-adyuvante terapéutico en la hiperinflamación y la posible secuela de fibrosis pulmonar en pacientes infectados por el virus SARS-CoV2 (Covid-19). Estudio piloto doble ciego comparado con placebo.

Objetivo General: Evaluar el efecto clínico en la tormenta de citocinas de la administración intramuscular de la colágena tipo I polimerizada en pacientes con enfermedad leve a grave por Covid-19.

Demanda específica a abordar: Ensayo clínico controlado aleatorizado para evaluar la eficacia terapéutica del Fibroquel como co-adyuvante terapéutico en el manejo del síndrome de hiperinflamación en los pacientes con COVID-19.

Pertinencia de la propuesta: La infección con el virus SARS-CoV2 produce un estado de hiperinflamación, lo que causa el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, la destrucción celular masiva del pulmón y como posible secuela la fibrosis pulmonar en los pacientes recuperados y en algunos casos la falla multiorgánica (Ye Q, 2020). En un esfuerzo por tratar de controlar el proceso inflamatorio, como una vía que permite prevenir el deterioro de los pacientes con COVID-19, se está evaluando el efecto de los anticuerpos monoclonales anti-receptor de IL-6 (tocilizumab) y el uso de células mesenquimales precursoras. El común denominador de estos trabajos es el modular la respuesta inflamatoria, con lo que se acorta el período de estado y potencialmente se limita el desarrollo de la fibrosis pulmonar. También se está evaluando el papel de la hidroxicloroquina o la hidroxicloroquina y de la azitromicina como un recurso para modular la respuesta inmune. Tomando como base la información anterior, proponemos, al COLÁGENO-POLIVINILPIRROLIDONA (Fibroquel marca registrada; clave SSA: 010 000 3999) como co-adyuvante terapéutico en la tormenta de citocinas, ya que tiene un mecanismo de acción que de manera relevante: modula negativamente la expresión de la IL-1 β , IL-8, TNF- α , TGF- β 1, IL-17, Cox-1, moléculas de adhesión leucocitaria (ELAM-1, VCAM-1 e ICAM-1), incrementa sensiblemente los mediadores y mecanismos moduladores de la inflamación (expresión de IL-10 y el número de células T reguladoras), así como disminuye la fibrosis tisular, sin producir efectos adversos. Sugerimos un estudio clínico aleatorizado, doble ciego, comparado con placebo, de este medicamento administrado por la vía intramuscular, ya que debido a su efecto sistémico, pudiera tener algún efecto en la regulación negativa de la expresión de citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión leucocitaria, e incrementar la de IL-10 y el número de células T reguladoras, lo que puede derivar en importantes beneficios para el tratamiento de la fase hiperinflamatoria que presentan los pacientes con Covid-19.

Resultados e impactos: La evaluación de la administración intramuscular de la colágena tipo I polimerizada puede ser un potencial co-adyuvante terapéutico en el manejo de la tormenta de citocinas que se presenta durante la infección con el virus SARS-CoV-2, sin producir efectos adversos. Si este fuere el caso se esperaría que al final del tratamiento los pacientes se encuentren sin requerimiento de oxígeno para mantener la SpO₂ \geq 92%, o con disminución de la categoría en relación a la Tabla 1 al menos 1 nivel, o con una reducción en el tiempo de desaparición de los síntomas, de al menos un 30% con respecto al placebo y a la basal, o una recuperación de al menos en un 30% el número de linfocitos con respecto al placebo y a la basal (neutrófilos/linfocitos; NLR). Se considerará falla al tratamiento, en caso de no cumplir con el primer criterio o en su defecto con los 2 restantes. Asimismo, se considerará falla al tratamiento si el paciente requiere de terapia de rescate; o si el paciente fallece.

Descripción del proyecto

Antecedente y Motivación:

La enfermedad por el coronavirus 2019 (COVID-19) es una enfermedad infecciosa causada por el virus SARS-CoV-2 produciendo síntomas entre los que se incluyen la fiebre, tos seca y disnea (Huang C, 2019).

A pesar de todos los esfuerzos de la comunidad médica y científica en materia de salud, no se ha encontrado un tratamiento curativo, o bien que destruya al agente infeccioso.

Con base en lo anterior se han hecho innumerables esfuerzos por ayudar a los pacientes afectados por este padecimiento para corregir el estado patológico y sus posibles secuelas (Mehta P, 2020; Leng Z, 2020).

Hechos:

La mayoría de los pacientes con COVID-19 desarrollan síntomas leves a moderados, mientras que algunas personas infectadas el virus SARS-CoV2 presentan en el pulmón la destrucción celular masiva. Ésta se acompaña por un estado de hiperinflamación inducida por la producción intensiva de citocinas y quimiocinas, llamada “tormenta de citocinas”, que provoca neumonía y síndrome de dificultad respiratoria aguda (SIRA) lo que se encuentra directamente relacionado con la gravedad de la enfermedad (Mehta P, 2020; Huang C, 2019; Zhang C, 2020; Huang C, 2019; Ye Q; 2020). Aunque no existe una terapia antiviral específica para COVID-19, la comprensión del mecanismo de la tormenta de citoquinas en esta enfermedad puede ayudar para proponer posibles intervenciones terapéuticas (Zumla A, 2020). Los estudios más recientes han presentado diferentes perfiles de citocinas en pacientes con COVID-19 grave (Huang C, 2019; Li B, 2020; Zhou Y, 2020; Yang Y, 2020; Gong J, 2020; Zheng H-Y, 2020; Wang S, 2019). Por ejemplo, las concentraciones más altas de interleucina (IL)-2, IL-7, IL-10, factor de necrosis tumoral (TNF)- α , el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), la proteína 10 inducida por interferón gamma (IP-10; CXCL10), MCP-1 (CCL2), MIP-1A (CCL3), e IL-6, han sido demostradas en los pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI) en comparación con pacientes fuera de la UCI pero con disnea (Huang C, 2019; Ye Q, 2020). Algunos otros estudios han demostrado la contribución de otras citocinas, incluidas IL-1 β , IL-1ra, IL-2R, IL-6, IL-8 (CXCL8), IL-17, interferón (IFN)- γ y GM-CSF (factor estimulante del crecimiento de colonias de granulocitos y monocitos), durante las infecciones graves con COVID-19 (Li B, 2020; Zhou Y, 2020; Zheng H-Y, 2020; Wang S, 2019). Así, en la mayoría de los reportes existentes, los niveles elevados de varias citocinas/quimiocinas (IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF e IP-10) se han presentado en pacientes con COVID-19 gravemente enfermos (UCI) más que en el grupo de enfermedad leve a moderada (no UCI) (Huang C, 2019; Li B, 2020; Zhou Y, 2020; Yang Y, 2020; Gong J, 2020). La elevación de la IL-10, una citocina derivada de las células Th2, macrófagos, células dendríticas plasmacitoides y T reguladoras tipo 1, que suprime la inflamación, es una característica destacada de todos los estudios. Un desequilibrio y/o agotamiento de las células T también pueden estar involucrado (Huang C, 2019). Se están empleando varios enfoques para la regulación de la inflamación, incluida la inhibición total de la misma o la neutralización de un solo mediador inflamatorio clave para hacer frente a la tormenta de citocinas en COVID-19. Entre las citocinas relevantes, la IL-6 ha generado un gran interés ya que altas concentraciones, se asocian con la severidad de las complicaciones pulmonares (SIRA), y los anticuerpos que bloquean el receptor de la IL-6 (tocilizumab y sarilumab) están actualmente siendo evaluados en ensayos clínicos en fase 2/3 (Zhang C, 2020). La terapia anti-IFN- γ es otro enfoque prometedor, que se ha concretado en un ensayo clínico

para el inhibidor JAK-STAT (ruxolitinib, NOVARTIS) para controlar la gravedad de COVID-19 (Stebbing J, 2020). Los anticuerpos anti-TNF- α actúan río arriba de la IL-6 por lo que podrían tener efectos protectores en la infección mortal por SARS-CoV (Channappaavar R, 2016). Varios anticuerpos que bloquean el TNF- α (por ejemplo, adalimumab, etanercept y golimumab) se usan con éxito para tratar enfermedades inflamatorias, y estas terapias se han recomendado con urgencia para los pacientes hospitalizados con COVID-19 (Feldmann MM, 2020).

Es probable que la IL-10 esté regulada positivamente para contrarrestar una infección abrumadora durante la infección por SARS-CoV-2, pero también puede estar involucrada en la infiltración de células inflamatorias y la fibrosis pulmonar (Sun L, 2011). El bloqueo de IL-10, solo o en combinación con la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1), es prometedor para revitalizar las células T exhaustas y podría controlar la patogénesis de COVID-19 (Saeidi A, 2018). A pesar de los beneficios, todavía hay desventajas, como el desarrollo de trastornos inflamatorios crónicos, por lo que se deben realizar más estudios experimentales para aclarar si la sobreactivación o la ablación de IL-10 podrían ser útiles para el COVID-19 grave. En algunos países, incluidos Irán y Turquía, tocilizumab es una estrategia terapéutica recomendada para pacientes de UCI con COVID-19 grave (Kodaz H, 2020). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la concentración sérica elevada de IL-6, así como de TNF- α , no tiene un patrón específico en todos los pacientes graves con COVID-19, por lo que niveles no se asocian con la gravedad de la enfermedad (Huang C, 2020; Li B, 2020; Zhou Y, 2020). Por lo tanto, como los pacientes con COVID-19 grave presentan patrones diferenciales de citocinas, se debe ser cauteloso al sugerir el uso de terapias inmunosupresoras con los bloqueadores de citocinas.

Por lo que será recomendable emplear factores capaces de inmunomodular en lugar de inmunosuprimir. Obviamente, también debe tenerse en cuenta una combinación de terapia inmunosupresora con terapias antivirales que disminuyen el título del virus.

Antecedentes:

Tomando como base la información anterior, proponemos la evaluación del colágena tipo I polimerizada (Fibroquel marca registrada; clave SSA: 010 000 3999), que es la mezcla irradiada por rayos γ de colágena porcina atelopectídica (pepsinizada) tipo I y la polivinilpirrolidona (PVP) en una solución amortiguadora de citratos, que estabiliza el pH. En condiciones de cultivo a 37°C y pH neutro, la molécula no forma un gel, como la colágena, y sus propiedades electroforéticas, fisicoquímicas y farmacológicas se encuentran modificadas por la unión covalente entre la proteína y la PVP. Se ha demostrado, tanto *in vitro* como *in vivo*, que el compuesto actúa diferente de como lo hacen sus componentes por separado (colágena y PVP) (Chimal-Monroy J, 1997).

La adición de colágena atelopectídica tipo I polimérica al 1% a cultivos tejido sinovial de pacientes con AR o con OA ha demostrado inducir la regulación negativa de la producción de citocinas pro-inflamatorias (IL-1 β , TNF- α , IL-8, IL-17, IFN- γ , PDGF y TGF- β 1) (Furuzawa-Carballeda J, 2002; Furuzawa-Carballeda J, 2005; Furuzawa-Carballeda J; 2012), la expresión de las moléculas de adhesión, ELAM-1 (*endothelial leucocyte adhesion molecule*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*) e ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) (Furuzawa-Carballeda J, 2002; Furuzawa-Carballeda J, 2005; kFuruzawa-Carballeda J; 2012), de la enzima ciclooxigenasa (Cox)-1 (Furuzawa-Carballeda J, 2002), así como la actividad colagenolítica (Furuzawa-Carballeda J, 2002) a través de la modulación del factor de transcripción NF- κ B (Furuzawa-Carballeda J, 2009; Furuzawa-Carballeda J, 2002; Furuzawa-Carballeda J, 1999; Furuzawa-Carballeda J, 2012). Por otra parte, la colágena tipo I polimerizada con PVP ha mostrado inducir la regulación positiva del inhibidor tisular de metaloproteasas, TIMP-1 (Furuzawa-Carballeda J, 2002), la producción del IL-10 (Furuzawa-Carballeda J, 2009; Furuzawa-Carballeda J, 2012), la presencia de células T reguladoras (Furuzawa-Carballeda J, 2012; Furuzawa-Carballeda J, 2012), y la proliferación de los condrocitos en co-cultivos de tejido sinovial y cartílago articular de los

pacientes con OA (Furuzawa-Carballeda J, 2009). No obstante, el biopolímero parece estimular de forma selectiva la muerte de las células endoteliales activadas, más no las que se encuentran en reposo, mediante apoptosis (Furuzawa-Carballeda J, 2002). Finalmente, los estudios tanto *in vitro* como *in vivo* han mostrado que la colágena tipo I polimerizada con PVP estimula la remodelación de la matriz extracelular recuperando las proporciones de colágenas tipo I y III sin alterar el contenido total de colágena en los tejidos (Furuzawa-Carballeda J, 2002; Furuzawa-Carballeda J, 1999). También se ha observado que induce la recuperación de colágena tipo II (Furuzawa-Carballeda J, 2009; Almonte-Becerril M, 2017), la proteína oligomérica del cartilago (COMP) (Furuzawa-Carballeda J, 2009) y los proteoglicanos altamente sulfatados en el cartilago (Furuzawa-Carballeda J, 2002; Furuzawa-Carballeda J, 2009; Almonte-Becerril M, 2017). Por otro lado, un patrón similar de respuesta se ha observado en un modelo de estenosis traqueal en donde el tratamiento con colágena tipo I polimeriza induce la disminución de la respuesta inflamatoria y la fibrosis a través de la modulación del TGF- β 1 (Olmos-Zuñiga JR, 2007; Olmos-Zuñiga, 2017). Finalmente, en un modelo de asma en cobayos sensibilizados, la administración de colágena tipo I polimerizada disminuyó la concentración de TNF- α y granulocitos, así como el depósito de colágena en el epitelio, regulando negativamente la inflamación de la vía aérea, los síntomas y mejorando la arquitectura tisular del bronquiolo (Moreno-Álvarez P, 2010).

El efecto sistémico se determinó mediante la administración intramuscular o subcutánea de la colágena tipo I polimerizada a pacientes con AR activa, como coadyuvante terapéutico con el metotrexato (estudios piloto y fase II) produjo una mejoría estadísticamente significativa en la cuenta de articulaciones inflamadas, la rigidez matutina, un ACR 50 en el 57% de los pacientes y un 30% de los pacientes entraron en remisión. La colágena tipo I polimerizada fue segura y bien tolerada en el tratamiento a largo plazo, sin modificar los parámetros serológicos o hematológicos de los pacientes (Furuzawa-Carballeda J, 2003; Furuzawa-Carballeda J, 2006).

La administración intraarticular de la colágena tipo I polimerizada a pacientes con OA ha demostrado producir una mejoría clínica sostenida y tener un efecto en la regulación de la inflamación sistémica (disminución en la producción de IL-1 β y un incremento en la producción de la IL-10 y en el número de las células T reguladoras), sin producir efectos adversos (Furuzawa-Carballeda J, 2009; Furuzawa-Carballeda J, 2012).

Justificación de la Propuesta:

Derivado de los resultados anteriores, proponemos que un estudio clínico de este medicamento administrado por la vía intramuscular (Furuzawa-Carballeda J, 2006), debido a su efecto sistémico, pudiera tener algún impacto en la regulación negativa de la expresión de la tormenta de citocinas proinflamatorias, en el número de células T efectoras Th1, Th17, Th22, de moléculas de adhesión leucocitaria; e incrementar la de IL-10 y el número de células T reguladoras, lo que puede derivar en importantes beneficios para el tratamiento de la fase hiperinflamatoria y probablemente en el síndrome de dificultad respiratoria aguda que presentan los pacientes con Covid-19 leve a grave.

Asimismo, consideramos que este fármaco administrado por la vía intramuscular podría modificar la fibrosis post neumonía por Covid-19, evitando de esta forma que el paciente desarrolle las posibles secuelas fibróticas, sin producir efectos adversos (basados en los resultados de las investigaciones previas) (Furuzawa-Carballeda J, 2003; 2006; 2012; Kröttsch-Gómez FE, 1988).

Hipótesis:

Ho: La administración intramuscular de colágena tipo I polimerizada a pacientes con Covid-19 moderada a grave no tendrá ningún efecto en la regulación sistémica de la tormenta de citocinas y no coadyuvará en el control de la enfermedad.

Ha: ¿La administración intramuscular de colágena tipo I polimerizada a pacientes con Covid-19 leve a grave regulará negativamente la tormenta de citocinas sistémica y coadyuvará en el control de la enfermedad?

Objetivos:

- Registrar el curso clínico de los pacientes con Covid-19. Para ello, la información se concentrará en una base de datos que contenga el nombre del paciente, el teléfono, la edad, el IMC, el sexo, las comorbilidades preexistentes (hipertensión, diabetes, dislipidemia, cardiopatías, hepatopatías, enfermedad renal, sobrepeso/obesidad, alguna otra enfermedad crónica), la fecha de inicio de los síntomas, la fecha de confirmación diagnóstica, fecha de inicio del tratamiento, tratamiento, duración de la sintomatología, pO₂, datos de laboratorio (BH, QS, PFH, EGO, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos etc.), datos de las pruebas de gabinete (RX y electrocardiograma).
- Determinar la ocurrencia de enfermedad crítica mediante la calculadora de puntaje de riesgo clínico (<http://118.126.104.170/>) (Liang W, 2020).
- Evaluar el efecto clínico de la administración intramuscular de la colágena tipo I polimerizada en pacientes con enfermedad moderada a grave por Covid-19, mediante la determinación del tiempo de la desaparición de los síntomas, la recuperación de la linfopenia, la determinación de la resolución de la desaturación mediante pulsoxímetro, la mejoría significativa de la RX a la re-examinación, etc.

Acercamiento teórico y conceptual

Diseño:

La presente propuesta es un estudio piloto, de intervención, longitudinal y abierto.

Etapa 1 (Visita 1: Reclutamiento, toma de muestras, electrocardiograma y RX; Visita 2: Asignación de tratamiento e inicio del mismo; Visita 3: terminación de la fase de tratamiento, electrocardiograma y toma de muestras; Visita 4: seguimiento, electrocardiograma, RX y toma de muestras).

- **Reclutamiento de los pacientes (visita 1)**. Se reclutarán aquellos pacientes que lleguen a urgencias con enfermedad leve a grave (1-5; [Tabla 1](#)), con disnea, cefalea, tos seca, odinofagia, sin/con fiebre, artralgias, mialgias, conjuntivitis, dolor torácico y/o, sin/con diarrea ([Figura 1](#)). En la visita basal, se les aplicará la intradermorreacción (IDR) con 200 µl de Colágena polimerizada tipo I en el antebrazo derecho, se les tomará un hisopado nasofaríngeo para la prueba de RT-PCR, RX de tórax, electrocardiograma y los laboratorios según la política de atención institucional de estos pacientes [BH, QS, PFH, EGO, CPK, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos, Tnl]. En ese momento se les solicitará el consentimiento informado por escrito.

- **La asignación al grupo tratamiento (visita 2)** se realizará después de haber obtenido los resultados de la IDR (48 h), los resultados de la RT-PCR y de la RX. Si la IDR es positiva, el paciente será eliminado y se le informará personalmente a él o a la persona legalmente responsable, o bien vía telefónica. Si la RT-PCR es negativa, sin hallazgos en la RX el paciente será eliminado y se le informará personalmente a él o a la persona legalmente responsable, o bien vía telefónica. Los pacientes con RT-PCR(+)/RX(-), RT-PCR(-)/RX(+), RT-PCR(+)/RX(+), serán incluidos en el estudio (Figura 1). Se les solicitará a aquellos pacientes con enfermedad leve, no hospitalizados, que un familiar o persona legalmente responsable acuda al Instituto ... para que su paciente sea aleatorizado a cualquiera de los grupos de estudio y se le otorgará un kit de tratamiento que constará del medicamento, y un cuadernillo y se les habilitará en el llenado de la base de datos del cuadernillo y en la forma de aplicación intramuscular en la pierna. Los pacientes que permanezcan hospitalizados serán aleatorizados y su tratamiento, así como sus cuadernillos serán resguardados en el ..., de donde serán tomados para la administración a los pacientes por 2 residentes. En caso de que los pacientes no puedan llenar sus cuestionarios de puño y letra, se solicitará el apoyo de los residentes o personal de apoyo en el estudio, esto no tomará más allá de 5 min y se avalará la información mediante la huella digital del paciente.
- **Tratamiento con placebo o principio activo.** Una vez seleccionados los pacientes, éstos se tratarán cada 12 h durante 3 días y después cada 24 h durante 4 días en pacientes con enfermedad leve a grave por Covid-19 (basado en el esquema de tratamiento propuesto para la artritis reumatoide activa; [Furuzawa-Carballeda J, 2006](#)).

Los pacientes ambulatorios con enfermedad leve se aplicarán intramuscularmente en la pierna el medicamento durante 7 días. En el caso de los hospitalizados será el personal médico involucrado en el desarrollo del proyecto el responsable de aplicar el medicamento. Durante este periodo se solicitará a los pacientes el llenado diario de los cuestionarios relacionados con la gravedad de los síntomas en donde ellos seleccionarán de entre 4 opciones la que más se apegue a su condición (sin síntoma, leve, moderado o grave) y se registrará la SpO², frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria.

- **Un día después de la última aplicación del medicamento o placebo (visita 3)** se solicitará a los pacientes una muestra de sangre para los laboratorios [BH, QS, PFH, EGO, CPK, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos, TnI] y se realizará un electrocardiograma. Se recogerán los cuadernillos. Los pacientes ambulatorios serán citados en el área de urgencias para la toma de muestras.
- **Siete días después de la última aplicación del medicamento o placebo (visita 4)** se solicitará a los pacientes una muestra de sangre para los laboratorios [BH, QS, PFH, EGO, CPK, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos, TnI] y se realizará un electrocardiograma. Se recogerán los cuadernillos. Los pacientes ambulatorios serán citados en el área de urgencias para la toma de muestras.
- Durante el reclutamiento, tratamiento (primeros 7 días) y seguimiento (visita 4: 7 días después de la última aplicación del medicamento y/o placebo), se registrará el curso clínico de los pacientes con Covid-19 leve a grave (1-5; [Tabla 1](#)). Para ello, la información se concentrará en una base de datos que contenga el nombre del paciente, el teléfono, la edad, el sexo, el IMC, las comorbilidades preexistentes (hipertensión, diabetes, dislipidemia, cardiopatías, hepatopatías, enfermedad renal, sobrepeso/obesidad, alguna otra enfermedad crónica), la fecha de inicio de los síntomas, la fecha de confirmación diagnóstica, fecha de inicio del tratamiento, tratamiento concomitante, duración de la sintomatología (temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia

respiratoria, tos, dolor torácico, cefalea, disnea, anosmia, pérdida del sentido del gusto, artralgias, mialgias, etc.), pSO₂, datos de laboratorio (BH, QS, PFH, EGO, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos etc.) y datos de las pruebas de gabinete (RX y electrocardiograma). Los síntomas, así como la pulsioximetría se registrarán diariamente. Registro de la medicación concomitante: Se llevará a cabo el registro de la medicación concomitante (analgésicos, tromboprolifácticos, estatinas, IECAS, esteroides, oxigenoterapia, etc.). Detección de eventos adversos: La seguridad se determinará de acuerdo a la ocurrencia de eventos adversos locales y/o sistémicos. Los eventos adversos y los eventos adversos serios se determinarán por el investigador durante cada visita y recibirán seguimiento hasta la resolución. La evaluación de la seguridad incluirá análisis de laboratorio y pruebas de gabinete.

- Con los datos clínicos y de laboratorio obtenidos en la visita basal se determinará la ocurrencia de enfermedad crítica mediante la calculadora de puntaje de riesgo clínico (<http://118.126.104.170/>) (Liang W, 2020).

- Toma de muestras
 - a) En la evaluación basal se tomará una muestra de 10 ml sangre venosa en un tubo BD vacutainer con gel separador para obtener el suero y 2 tubos BD vacutainer con EDTA K2 de 8.0 ml para obtener las células mononucleares. Además, se realizará un hisopado nasofaríngeo para la prueba de RT-PCR, RX de tórax, electrocardiograma y los laboratorios [BH, QS, PFH, EGO, CPK, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos, Tnl, perfil viral (VIH, hepatitis viral)].
 - b) En la evaluación del día 1 postratamiento (un día después de la última aplicación del medicamento o placebo) se tomará una muestra de 10 ml sangre venosa en un tubo BD vacutainer con gel separador para obtener el suero y 2 tubos BD vacutainer con EDTA K2 de 8.0 ml para la obtener las células mononucleares. Además, se realizará un electrocardiograma y los laboratorios [BH, QS, PFH, EGO, CPK, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos, Tnl].
 - c) En la evaluación a 7 días postratamiento (8 días después de la última aplicación del medicamento o placebo) se tomará una muestra de 10 ml sangre venosa en un tubo BD vacutainer con gel separador para obtener el suero y 2 tubos BD vacutainer con EDTA K2 de 8.0 ml para la obtener las células mononucleares. Además, se realizará un electrocardiograma y los laboratorios [BH, QS, PFH, EGO, CPK, ferritina, PCR, DHL, dímero D, troponina, procalcitonina, electrolitos séricos, Tnl].
- Al finalizar el tratamiento (7 días) y seguimiento (7 días postratamiento) de todos los pacientes se evaluará el efecto clínico de la administración intramuscular de la colágena tipo I polimerizada en pacientes con enfermedad leve a grave por Covid-19 (1-5; Tabla 1), mediante:
 - a) la determinación del tiempo de la recuperación de la pSO₂ ≥ 92% mediante pulsioxímetro,
 - b) la determinación del tiempo de la desaparición de los síntomas,
 - c) la recuperación de la linfopenia (NLR),
- Si la clinimetría muestra resultados alentadores (reducción del tiempo en al menos un 30% y recuperación del número de linfocitos en al menos un 30% con respecto al grupo placebo y a la basal), se procederá a iniciar la Etapa 2 del estudio.

Tabla 1.

Categoría de gravedad	Descripción
1	No hospitalizado, sin limitación de actividades
2	No hospitalizado, pero con limitación de actividades y/o requerimiento de oxígeno suplementario
3	Hospitalizado, pero sin requerimiento de oxígeno suplementario ni de atención médica continua (permanece hospitalizado para aislamiento)
4	Hospitalizado, sin requerimiento de oxígeno suplementario, pero requiere de atención médica continua
5	Hospitalizado, requiere oxígeno suplementario
6	Hospitalizado, requiere ventilación mecánica no invasiva o puntas de alto flujo
7	Hospitalizado, requiere VMI o ECMO
8	Muerte

Beigel JH, 2020

Evaluaciones de laboratorio

Las evaluaciones de laboratorio incluirán en la determinación:

Basal: BH, QS, PFH, ES completos, CPK, DD, ferritina, PCR, DHL, Tnl, procalcitonina, perfil viral (VIH, hepatitis viral), examen general de orina.

En el día 1 y 8 postratamiento: BH, QS, PFH, ES compl, CPK, DD, ferritina, VSG, PCR, DHL, Tnl, Proca,

Evaluaciones de gabinete

Basal: electrocardiograma y tomografía computada simple de tórax

En el día 8 postratamiento: electrocardiograma y RX.

Registro de la medicación concomitante

Se llevará a cabo el registro de la medicación concomitante (analgésicos, tromboprolifáticos, estatinas, IECAS, esteroides, oxigenoterapia, etc.).

Detección de eventos adversos

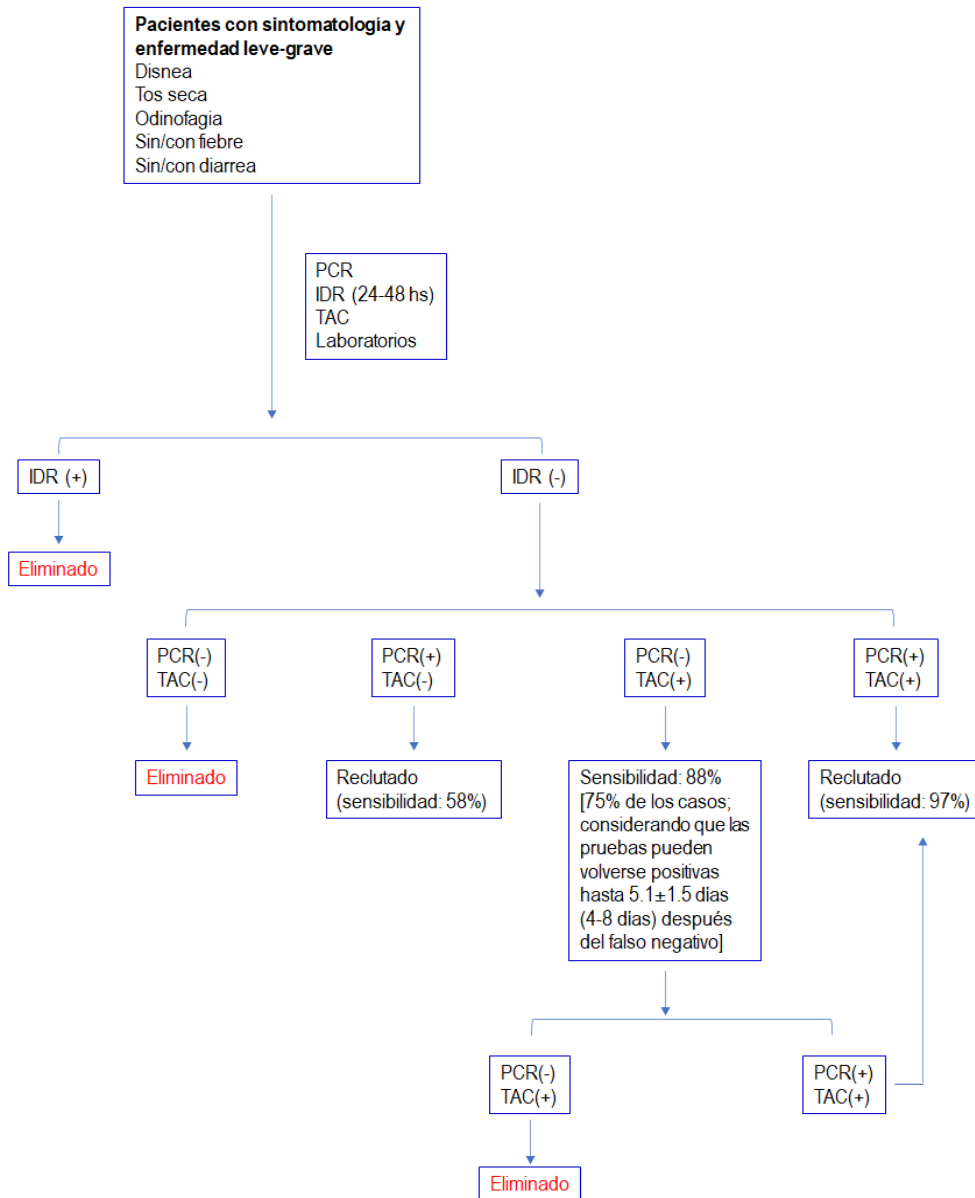
La seguridad se determinará de acuerdo a la ocurrencia de eventos adversos locales y/o sistémicos. Los eventos adversos y los eventos adversos serios se determinarán por el investigador durante cada visita y recibirán seguimiento hasta la resolución. La evaluación de la seguridad incluirá análisis de laboratorio y pruebas de gabinete.

Criterios de inclusión de los pacientes

- Se reclutarán 90 pacientes confirmados de Covid-19, con neumonía por Covid-19 (sintomatología: tos, expectoración, odinofagia, disnea con o sin fiebre; hallazgos radiológicos: vidrio deslustrado multifocal en parches periféricos), de ambos sexos, mayores de 18 años, no embarazadas, sin enfermedad renal crónica, sin enfermedad cerebrovascular y sin enfermedad autoinmune, cáncer o inmunodeficiencias (VIH, pacientes trasplantados, enfermedades hematológicas, pacientes con quimioterapia).

- Se incluirán los pacientes con predictores laboratoriales de enfermedad leve a grave (dímero D >1000 ng/ml; linfocitos totales < 800 células/μl al ingreso, CPK dos veces por arriba del valor superior normal, Troponinas elevadas y ferritina >300 μg/L) (Fig. 1).
- Se reclutarán aquellos pacientes con alteraciones en la RX [modificaciones en la atenuación parenquimatosa; apariencia de vidrio deslustrado (fase inicial de la enfermedad), empedrado (progresión de la enfermedad), patrón mixto o consolidado (enfermedad avanzada) de distribución multisegmentaria, periférica, bilateral, subpleural, con mayor afectación de lóbulos inferiores; con opacidades nodulares, engrosamiento de septos interlobulillares y/o engrosamiento de paredes bronquiales].
- Se incluirán sólo aquellos pacientes que sean negativos a la intradermorreacción de colágena tipo I polimerizada (aplicación subcutánea de 0.2 ml del medicamento o placebo en el antebrazo, valoración a las 24-48h)
- Se reclutarán aquellos pacientes con enfermedad leve (síntomas, sin requerimiento de oxígeno para mantener la SpO₂>92%, sin infiltrados pulmonares o infiltrados discretos).
- Se reclutarán aquellos pacientes con enfermedad moderada (síntomas, requerimiento de oxígeno para mantener la SpO₂>92%, o presencia de infiltrados pulmonares).
- Se reclutarán aquellos pacientes con enfermedad grave (Requerimiento de FiO₂ > 34% para mantener SpO₂ >92%, PAO₂/FiO₂ < 300, Frecuencia respiratoria >30 rpm/min, Infiltrados pulmonares).
- Se reclutarán sólo aquellos pacientes que cuenten con historia clínica (dirigida a patologías principales con resumen de aquellas que representa factores de riesgo), laboratorios [biometría hemática (BH), química sanguínea (QS), pruebas de función hepática (PFH), electrolitos séricos completos (ES compl), creatinina fosfoquinasa (CPK), dímero D (DD), ferritina, proteína C reactiva (PCR), deshidrogenasa láctica (DHL), troponina (Tnl), procalcitonina (Proca), perfil viral (VIH, hepatitis viral), examen general de orina,], electrocardiograma y tomografía computada de tórax.
- Se incluirán sólo aquellos pacientes que no estén participando en otro protocolo y que no estén recibiendo terapia biológica, hidroxiquina, dosis altas de corticosteroides y cuya terapia estandarizada sea la sugerida, , paracetamol, anticoagulantes.
- Se incluirán todos aquellos pacientes que acepten participar en el protocolo y den su consentimiento informado por escrito.

Reclutamiento de Pacientes



Alteraciones en la TAC:

1. Modificaciones en la atenuación parenquimatosa
2. Vidrio deslustrado (fase inicial de la enfermedad), empedrado (progresión de la enfermedad), mixto o consolidado (enfermedad avanzada) de distribución multisegmentaria, periférica, bilateral, subpleural, con mayor afectación predominantemente de lóbulos inferiores
3. Opacidades nodulares
4. Engrosamiento de septos interlobulillares
5. Engrosamiento de paredes bronquiales

Tao A, 2020; Salehi S, 2020; Pan F, 2020

Figura 1. Diagrama de flujo de reclutamiento de los pacientes.

Criterios de exclusión

- Pacientes positivos a la intradermorreacción a la colágena polimerizada tipo I.
- Pacientes embarazadas, con enfermedad renal crónica, con enfermedad cerebrovascular o con enfermedad autoinmune, cáncer o inmunodeficiencias (VIH, pacientes trasplantados, enfermedades hematológicas, pacientes con quimioterapia).

Criterios de eliminación de los pacientes

- Pacientes que a criterio del médico tengan que ser retirados del estudio.

Medicamentos. Terapias concomitantes permitidas.

AmoxiClav o ceftriaxona, o azitromicina, claritromicina o doxiciclina, oseltamivir, ivermectina, anticoagulantes de bajo peso molecular.

Medicamentos. Terapias concomitantes prohibidas.

Tocilizumab, corticoides a altas dosis, colchicina, pifenedona, inhibidores de JAK/STAT, cualquier otro inmunosupresor.

Terapia de rescate

Uso de corticoides a dosis bajas 6mg/día durante 10 días, uso de tocilizumab, Ventilación mecánica asistida, inclusión en cualquier otro protocolo.

Medicamentos. Criterios de falla y éxito.

Etapa 1. Se considerará como criterio de éxito si los pacientes cumplen con el primer criterio, o los 2 restantes:

Que los pacientes al final del tratamiento se encuentren

1. Sin requerimiento de oxígeno para mantener la $SpO_2 \geq 92\%$, o
2. Con disminución de la categoría en relación a la Tabla 1 de al menos 1 nivel, o
3. Si el tiempo de desaparición de los síntomas, se reduce al menos en un 30% con respecto al placebo y a la basal, o
4. Recuperen al menos en un 30% el número de linfocitos con respecto al placebo y a la basal (neutrófilos/linfocitos: NLR)

Se considerará falla al tratamiento en la etapa 1, en caso de no cumplir con el primer criterio o en su defecto con los 2 restantes. Asimismo, se considerará falla al tratamiento si el paciente requiere de terapia de rescate; o si el paciente fallece.

- *Seguimiento.* Manejo de sobredosis.

No existe experiencia de sobredosificación deliberada.

La máxima cantidad de FIBROQUELMR que puede ser administrada sin causar trastornos en dosis única o múltiple, aún no ha sido determinada.

- *Seguimiento.* Terapia de rescate.

Uso de corticoides, Ventilación mecánica asistida, participación en otros ensayos clínicos

- *Retiro*. Criterios para el retiro prematuro de participantes.

Requerimiento de ventilación mecánica asistida

- *Retiro*. Procedimientos para el retiro de participantes.

Si el paciente tiene criterios para retiro del estudio se notificará al paciente o en caso de no ser posible a su representante legal. Posteriormente se seguirá la evolución del paciente con fin de conocer su desenlace.

- *Retiro*. Criterios y procedimientos para la suspensión prematura (temporal o definitiva).

Reacción alérgica al medicamento

- *Riesgos*. Molestias posibles resultantes del estudio

Las molestias inherentes a la aplicación del medicamento por vía intramuscular. Así como la posibilidad de un ligero moretón en el sitio de la punción.

- *Riesgos*. Riesgos potenciales

Como sucede en cualquier tratamiento farmacológico o biológico pueden ocurrir reacciones alérgicas graves que pueden poner en riesgo la vida. Asimismo, pueden ocurrir otros efectos colaterales que todavía se desconocen. Por otro lado, la administración intramuscular puede causar irritación y dolor en el sitio de la aplicación.

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones. No existe riesgo alguno durante la obtención de la muestra de orina.

- *Riesgos*. Métodos de detección de riesgos anticipados

Hasta el momento únicamente se han identificado efectos adversos locales (irritación, dolor) en el sitio de aplicación del medicamento. Se educará al paciente para identificarlos y se comunique con el equipo de investigación ya sea por vía telefónica o en su defecto en las visitas programadas.

- *Riesgos*. Medidas para diagnóstico oportuno y prevención de riesgos

Para prevenir esto se realizará aplicación estándar del medicamento y se educará al paciente para que identifique los posibles efectos adversos y en caso de detectarlo avisar al equipo de investigación ya sea por vía telefónica o en las citas programadas.

- *Riesgos*. Procedimientos a seguir para resolver eventos adversos

En caso de presentar algún efecto adverso se aplicarán medidas locales para manejo de dolor (aplicación de calor local) y se aplicará el medicamento en otro sitio.

- *Métodos de detección de eventos secundarios*

Las experiencias adversas pueden tener lugar en el transcurso del uso de cualquier fármaco o biofármaco. Éstas se registrarán durante todo el estudio y en cada examen del paciente.

Una experiencia adversa se define como cualquier cambio desfavorable e impensado en la estructura, función, o química del cuerpo asociado temporalmente con el uso de la Colágena Tipo I polimerizada, ya sea que se le considere o no relacionado a dicho uso. También se define como experiencia adversa, cualquier empeoramiento (por ejemplo: cualquier cambio clínicamente adverso en la frecuencia y/o intensidad) de una enfermedad preexistente, asociado al uso de la Colágena Tipo I polimerizada.

El investigador evaluará todas las experiencias adversas en lo que se refiere a:

a) Máxima intensidad:

- Leve (tolerable);
- Moderada (molesta);
- Grave (inhabilitante)

b) Gravedad:

Una experiencia adversa grave es una experiencia adversa que tiene lugar a cualquier dosis que:

- *Tenga como resultado la muerte; o
- *Ponga en peligro la vida (coloca al paciente, a los ojos del investigador, ante un inmediato riesgo de muerte debida a la experiencia cuando se produce); o
- *Prolongue una hospitalización existente (la estadía por una noche en el hospital, independientemente de la duración de dicha estadía, aun cuando dicha hospitalización sea una medida precautoria para poder realizar la observación continua del paciente); o
- Produzca un cáncer; o
- Produzca una sobredosis (ya sea accidental o intencional)

Se pueden considerar como experiencias adversas graves otros eventos médicos de importancia que pueden no resultar en muerte, poner en peligro la vida, ni requerir hospitalización, cuando, en base a un criterio médico apropiado, dichos eventos puedan poner en peligro al paciente y requerir intervención médica o quirúrgica para prevenir cualquiera de los resultados antes detallados (marcados con un * en el apartado precedente).

c) Duración:

Registro de las fechas de inicio y finalización de la experiencia adversa. Si es de menos de 1 día, indique el tiempo de duración correspondiente y las unidades.

d) Acción tomada:

¿Provocó la experiencia adversa que el medicamento bajo investigación fuera descontinuado?

e) Relación con el medicamento investigado:

¿Provocó el medicamento bajo investigación la experiencia adversa?

La determinación de la probabilidad de que el medicamento bajo investigación provoque la experiencia adversa, será efectuada por el investigador. Las iniciales firmadas/fechadas del investigador sobre el documento o plantilla fuente, respalda la causalidad anotada en el formulario de efectos adversos, garantiza que se realizó una evaluación profesionalmente calificada para la causalidad. Dicho documento inicialado deberá ser devuelto de acuerdo al marco de tiempo regulatorio requerido. Los siguientes criterios tienen la intención de servir como guía de referencia para asistir al investigador en la evaluación de la probabilidad de una relación entre el medicamento bajo investigación y la experiencia adversa basándose en la información que se tiene disponible.

Los siguientes componentes deben utilizarse para evaluar dicha relación; cuanto mayor sea la correlación con los componentes y sus respectivos elementos en cuanto a cantidad y/o a intensidad), mayor probabilidad habrá de que el medicamento haya provocado el evento adverso:

-Exposición: ¿Existen pruebas de que el paciente estuvo realmente expuesto al medicamento bajo investigación, como ser: historia confiable, evaluación de cumplimiento aceptable, ¿efecto farmacológico esperado?

-Curso del tiempo: ¿Se produjo la experiencia adversa en una secuencia temporal razonable desde la administración del medicamento bajo investigación?

¿Es compatible el tiempo en que comenzó la experiencia adversa con un efecto inducido por el medicamento?

Especificación de la manera en que serán observados los preceptos éticos para la investigación en humanos.

El protocolo deberá tener la aprobación del Comité de Investigación Biomédica en Humano. Este estudio se realizará siguiendo los lineamientos éticos de la Declaración de Helsinki, del Reglamento de Investigación en Salud de la Ley General de Salud. Igualmente, obtendremos el consentimiento informado por escrito de cada paciente, mismo que deberá ser aprobado por el Comité de Investigación Biomédica en Humanos del Hospital.

Cálculo del tamaño de muestra

Por ser un estudio piloto, no se requiere cálculo del tamaño de muestra.

Análisis estadístico

Se realizará estadística descriptiva, las variables continuas con distribución normal se expresarán como media y desviación estándar. En caso contrario se expresaron como medianas y mínimos y máximos o percentiles (5/95). La distribución normal se confirmará con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas se expresarán como porcentajes, y se compararán mediante la prueba de Chi-2 o la prueba exacta de Fisher. Para las variables categóricas de las concentraciones de citocinas, subpoblaciones de células T y biomarcadores se hará un estudio comparativo de comparación de medias con la *t* de student y la prueba de hipótesis con los intervalos de confianza del 95%. El análisis será por intención de tratamiento. Se realizará un análisis estratificado por gravedad de la enfermedad y otro considerando el tiempo de inicio de los síntomas y el tiempo de inicio del tratamiento. Utilizaremos la prueba U de Mann-Whitney para comparar dos medianas. También se empleará la ANOVA de una vía, si esta es significativa, se realizará un análisis post-hoc (prueba de Dunn o Holm-Sidak) para todos los procedimientos de comparación múltiple por pares. Se realizará un análisis estratificado por gravedad de la enfermedad y otro considerando el tiempo de inicio de los síntomas y el tiempo de inicio del tratamiento. Se utilizará el software SPSS (v. 21.0) y GraphPad Prism (v. 5) para el análisis estadístico.

Acciones, estrategias y precauciones que serán tomadas para proteger la confidencialidad de la información de los pacientes

El nombre del paciente no será usado en ninguno de los estudios. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y se codificará con un número de serie o iniciales para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal las muestras biológicas, incluyendo la sangre, serán catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación la muestra no podrá ser devuelta al paciente. Es posible que las muestras biológicas, así como su información médica y/o genética puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que no estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto. Las muestras podrán ser conservadas hasta por 10 años. Los códigos que identifican la muestra estarán solo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar la identidad del paciente. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Solo los investigadores tendrán acceso. Existe la posibilidad de que la privacidad sea afectada como resultado de la participación en el estudio. La confidencialidad del paciente será protegida como lo marca la ley. Será mantenida asignando códigos a la información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre el paciente será compartida con otros sin su autorización, excepto:

Si es necesario para proteger los derechos y bienestar del paciente (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o

Es solicitado por la ley.

Monitores o auditores del estudio podrán tener acceso a la información de los participantes.

Si el paciente decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre.

El Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición

Salvador Zubirán aprobará la realización de este estudio. Dicho Comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si se identifica alguna información que se considere importante para la salud del paciente, se consultará con la Comisión de ética que supervisa este estudio para que se decida la mejor forma de darle esta información al paciente y a su médico. Además, se le solicitará al paciente que nos autorice recontactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. El nombre del paciente y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si el paciente lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

Referencias:

1. Almonte-Becerril M, Enríquez AB, Kouri JB, Furuzawa-Carballeda J. Polymerized-Type I collagen induces a high-quality cartilage repair in a rat model of osteoarthritis. *Int J Bone Rheumatol Res (IJBRR)* 2017;4(2):68-76
2. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. 2016;19:181-93.
3. Elhai M, Avouac J, Allanore Y. Circulating lung biomarkers in idiopathic lung fibrosis and interstitial lung diseases associated with connective tissue diseases: where do we stand? *Semin Arthritis Rheum* 2020 Jan 28;S0049-0172(20)30006-8
4. Feldmann MM, RN; Woody, JN; Holgate, ST; Winter, G; Rowland, M; Richards, D; Hussell, T. Trials of anti-tumour necrosis factor therapy for COVID-19 are urgently needed. *Lancet*. 2020.
5. Furuzawa-Carballeda J, Lima G, Llorente L, Nuñez-Alvarez C, Ruiz-Ordaz BH, Echevarria-Zuno S, Hernandez-Cuevas V. Polymerized-Type I Collagen down-regulates inflammation and improves clinical outcomes in patients with symptomatic knee osteoarthritis post-arthroscopic lavage. A randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *ScientificWorldJournal* 2012;2012, Article ID 342854, 11 pages.
6. Furuzawa-Carballeda J, Muñoz-Chable OA, Barrios-Payán J, Hernández-Pando R. Effect of Polymerized-Type I Collagen in knee osteoarthritis. I. In vitro Study. *Eur J Clin Invest* 2009;39(7):591-7.

7. Furuzawa-Carballeda J, Rodríguez-Calderón R, Díaz de León L, Alcocer-Varela J. Mediators of inflammation are down-regulated while apoptosis is up-regulated in rheumatoid arthritis synovial tissue by polymerized collagen. *Clin Exp Immunol*. 2002; 130:140-9.
8. Furuzawa-Carballeda J, Alcocer-Varela J, Díaz de León L. Collagen-PVP decreases collagen turnover in synovial tissue cultures from rheumatoid arthritis patients. *Ann N Y Acad Sci*. 1999 Jun 30;878:598-602.
9. Furuzawa-Carballeda J, Cabral AR, Zapata-Zuñiga M, Alcocer-Varela J. Subcutaneous administration of polymerized-type I collagen for the treatment of patients with rheumatoid arthritis. An open-label pilot trial. *J Rheumatol*. 2003 Feb;30(2):256-9.
10. Furuzawa-Carballeda J, Fenutria-Ausmequet R, Gil-Espinosa V, Lozano-Soto F, Teliz-Meneses MA, Romero-Trejo C, Alcocer-Varela J. Polymerized-type I collagen for the treatment of patients with rheumatoid arthritis. Effect of intramuscular administration in a double blind placebo-controlled clinical trial. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(5):514-20.
11. Furuzawa-Carballeda J, Kröttsch E, Barile-Fabris L, Alcalá M, Espinosa-Morales R. Subcutaneous administration of collagen-polyvinylpyrrolidone down regulates IL-1beta, TNF-alpha, TGF-beta1, ELAM-1 and VCAM-1 expression in scleroderma skin lesions. *Clin Exp Dermatol*. 2005;30(1):83-6.
12. Furuzawa-Carballeda J, Macip-Rodríguez P, Galindo-Feria AS, Cruz-Robles D, Soto-Abraham V, Escobar-Hernández S, Aguilar D, Alpizar-Rodríguez D, Férrez-Blando K, Llorente L. Polymerized-type I collagen induces upregulation of Foxp3-expressing CD4 regulatory T cells and downregulation of IL-17-producing CD4⁺ T cells (Th17) cells in collagen-induced arthritis. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:618608.
13. Furuzawa-Carballeda J, Ortiz-Ávalos M, Lima G, Jurado-Santa Cruz F, Llorente L. Subcutaneous administration of polymerized type I collagen downregulates interleukin (IL)-17A, IL-22 and transforming growth factor-β1 expression, and increases Foxp3-expressing cells in localized scleroderma. *Clin Exp Dermatol*. 2012;37(6):599-609.
14. Furuzawa-Carballeda J, Rojas E, Valverde M, Castillo I, Díaz de León L, Kröttsch E. Cellular and humoral responses to collagen-polyvinylpyrrolidone administered during short and long periods in humans. *Can J Physiol Pharmacol*. 2003;81(11):1029-35.
15. Gong J, Dong H, Xia SQ, Huang YZ, Wang D, Zhao Y, et al. Correlation Analysis Between Disease Severity and Inflammation related Parameters in Patients with COVID-19 Pneumonia. *medRxiv*. 2020.
16. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497–506.
17. Kodaz H. Successful Treatment Strategy of Turkey against Covid-19 Outbreak. *Eurasian Journal of Medicine and Oncology* 177–8
18. Kröttsch-Gómez FE, Furuzawa-Carballeda J, Reyes-Márquez R, Quiróz-Hernández E, Díaz de León L. Cytokine expression is downregulated by collagen-polyvinylpyrrolidone in hypertrophic scars. *J Invest Dermatol*. 1998;111(5):828-34.

19. Leng Z, Zhu R, Hou W et al. Transplantation of ACE2- mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID 19 Pneumonie. *Agin and Disease* 2020;11(2):216-18.
20. Li B, Feng F, Yang G, Liu A, Yang N, Jiang Q, et al. Immunoglobulin G/M and Cytokines Detections in Continuous Sera from Patients with Novel Coronaviruses (2019-nCoV) Infection. *Infection* Available at SSRN. 2020.
21. Liang W, Liang H, He J. Development and validation of clinical risk score to predict the occurrence of critical illness in hospitalized patients with COVID-16.
22. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: Consider Cytokine Storm Syndromes and Immunosuppression. *Lancet* 2020;395(10229):1033-34.
23. Moreno-Alvarez P, Sánchez-Guerrero E, Martínez-Cordero E, Hernández-Pando R, Campos-María G, Cetina-Lucely, Bazán-Perkins B. Aerolized Polymerized Type I Collagen Reduces Airway Inflammation and Remodelling in a Guinea Pig Model of Allergic Asthma. *Lung*. 2010;188:97-105
24. Olmos-Zúñiga JR, Hernández-Jiménez C, Díaz-Martínez E, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola MO, Villalba-Caloca J, Baltazares-Lipp M, Santillán-Doherty P, Santibáñez-Salgado JA. Wound healing modulators in a tracheoplasty canine model. *J Invest Surg*. 2007;20(6):333-8.
25. Olmos-Zuñiga JR, Silva-Martínez M, Jasso-Victoria R, Baltazares-Lipp M, Hernández-Jiménez C, Biendía-Roldan I, Jasso-Arenas J, Martínez-Salas A, Calyeca-Gómez J, Guzmán-Cedillo AE, Gaxiola-Gaxiola M, Romero-Romero L. Effects of pirfenidone and collagen-polyvinylpyrrolidone on macroscopic and microscopic changes, TGF- β 1 expression, and collagen deposition in an experimental model of tracheal wound healing. *Biomed Res Int*. 2017;2017:6471071:1-10.
26. Saeidi A, Zandi K, Cheek YY, Saeidi H, Wong WF, Lee CYQ, et al. T-cell exhaustion in chronic infections: reversing the state of exhaustion and reinvigorating optimal protective immune responses. 2018;9:2569.
27. Stebbing J, Phelan A, Griffin I, Tucker C, Oechsle O, Smith D, et al. COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. 2020.
28. Sun L, Louie MC, Vannella KM, Wilke CA, LeVine AM, Moore BB, et al. New concepts of IL-10-induced lung fibrosis: fibrocyte recruitment and M2 activation in a CCL2/CCR2 axis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 2011;300:L341–L53.
29. Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). *Medrxiv*. 2020.
30. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA* 2020;323(18):1843-1844.
31. Yang Y, Shen C, Li J, Yuan J, Yang M, Wang F, et al. Exuberant elevation of IP-10, MCP-3 and IL-1ra during SARS-CoV-2 infection is associated with disease severity and fatal outcome. *medRxiv*. 2020.

32. Yang Y, Shen Ch, Li J, et al. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. *J Allergy Clin Immunol* 2020; S0091-6749(20)30576-5.
33. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the “Cytokine Storm” in COVID-19. *J Infect* 2020;80:607-613.
34. Zhang C, Wu Z, Li J-W, Zhao H, Wang G-Q. The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020:105954.
35. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting Enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 Receptor: Molecular Mechanisms and Potential Therapeutic Target. *Intensive Care Med* 2020; 46(4):586-90.
36. Zheng H-Y, Zhang M, Yang C-X, Zhang N, Wang X-C, Yang X-P, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. 2020:1–3.
37. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, Sun R, et al. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. *National Science Review*. 2020.
38. Zumla A, Hui DS, Azhar EI, Memish ZA, Maeurer MJTL. Reducing mortality from 2019-nCoV: host-directed therapies should be an option. *Lancet* 2020;395:e35–e6.