

---

---

## Tetraciclinas: ¿Antibióticos de uso potencial en la COVID-19?

Jesús Mosquera-Sulbarán<sup>1</sup>, Adriana Pedraza<sup>2</sup>, Diana Callejas<sup>3</sup> y Yenddy Carrero<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

<sup>2</sup>Catedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

<sup>3</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Medicina, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

**Palabras clave:** COVID-19; SARS-CoV-2; tetraciclina; terapia antiviral.

**Resumen.** Las tetraciclinas se han utilizado para tratar muchas infecciones bacterianas. El uso de estos antibióticos para el tratamiento de enfermedades virales se remonta a las décadas de 1960 y 1970. Estudios posteriores han demostrado la eficacia de las tetraciclinas como fármaco antiviral en modelos experimentales y estudios in vitro. Las tetraciclinas pueden actuar sobre las infecciones virales por diversos mecanismos, en los que se incluyen: capacidad de inhibir las metaloproteinasas, efectos antiinflamatorios, inhibición de la vía NF-kB, efecto anti-apoptótico y antioxidante, inhibición de síntesis de proteínas, inhibición de proteínas estructurales, de proteasas y ARN virales, entre otras propiedades. De esta manera, las tetraciclinas representan un potencial fármaco contra la infección por el SARS-CoV-2. A pesar del potencial de las tetraciclinas como fármacos antivirales, se requieren más estudios clínicos. Es importante desarrollar tratamientos antivirales para el COVID-19, que puedan administrarse en una fase temprana de la infección, con el fin de evitar el daño orgánico causado por el virus y permitir que el paciente produzca una fuerte respuesta inmunitaria. Esta revisión se centra en los datos clínicos y experimentales que apoyan el uso de tetraciclina en el tratamiento de las infecciones virales y destaca un enfoque importante para frenar la progresión de la enfermedad durante la infección viral. El tratamiento con tetraciclina podría representar una estrategia para eliminar la infección o inhibir la progresión de la COVID-19.

## **Tetracyclines: antibiotics of potential use in Covid-19?**

*Invest Clin 2021; 62 (Supl. 2): 69-84*

**Key words:** COVID-19; SARS-CoV-2; tetracycline; antiviral therapy.

**Abstract.** Tetracyclines have been used to treat many bacterial infections. The use of these antibiotics for the treatment of viral diseases dates back to the 1960s and 1970s. Subsequent studies have demonstrated the efficacy of tetracyclines as an antiviral drug in experimental models and in vitro studies. Tetracyclines can act on viral infections by several mechanisms including the ability to inhibit metalloproteinases, anti-inflammatory effects, inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway, anti-apoptotic and antioxidant effects, inhibition of protein synthesis, and inhibition of viral structural proteins, proteases and RNA, among other properties. Thus, tetracyclines represent a potential drug against THE SARS-CoV-2 infection. Despite the potential of tetracyclines as antiviral drugs, further clinical studies are required. It is important to develop antiviral treatments for COVID-19 that can be administered at an early stage of infection, to prevent organ damage caused by the virus and to allow the patient to produce a strong immune response against the virus. This review focuses on the clinical and experimental data supporting the use of tetracycline in the treatment of viral infections and highlights an important approach to decrease disease progression during viral infection. Tetracycline treatment could represent a strategy to eliminate infection or inhibit progression of COVID-19.

*Recibido: 01-07-2021 Accepted: 09-07-2021*

### **INTRODUCCIÓN**

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), causante de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), surgió en Wuhan, China, en diciembre de 2019. El SARS-CoV-2 es un nuevo coronavirus zoonótico que pertenece a la misma familia viral que los virus que causan el SARS (síndrome respiratorio agudo severo) y el MERS (síndrome respiratorio de Oriente Medio). Esta infección viral se convirtió rápidamente en una pandemia. (1, 2). Actualmente hay una carrera contra el tiempo para identificar tratamientos terapéuticos para la COVID-19. Existe una gran necesidad de agentes prometedores para el tratamiento de la infección grave por CO-

VID-19, y los beneficios potenciales de estas terapias, bien sea simples o combinadas, parecen superar los riesgos asociados. Esto exige además estudios clínicos bien diseñados para explorar el uso potencial de varias drogas en la terapia de la COVID-19. Uno de los posibles candidatos para ser usado en el tratamiento de la COVID-19 es la tetraciclina. Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, que se sintetizan modificando la tetraciclina natural para formar varios compuestos nuevos. Entre estos compuestos, llamados tetraciclinas semisintéticas se encuentran la doxiciclina (DOX) y la minociiclina (MIN). La MIN (una tetraciclina de segunda generación), actúa en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas y se utiliza para tratar diversos tipos de infecciones

(vías respiratorias, piel, uretritis, gonorrea, ántrax, infecciones meningocócicas e infecciones por clamidia) (3, 4). El tamaño de la MIN (495 Da), y su naturaleza lipofílica, le permiten atravesar la barrera hematoencefálica más fácilmente que la DOX y otras tetraciclinas (5, 6); por lo tanto, se ha utilizado para tratar diversos trastornos neurológicos (7-10). La DOX también tiene una amplia gama de efectos antimicrobianos (11, 12) y antiinflamatorios (13, 14) y se utiliza para tratar una gran variedad de infecciones (ántrax, infecciones por clamidia, neumonía, enfermedad de Lyme cólera, sífilis y otras) (15). Estudios pioneros por Negrette y col. (16-24), reportaron efectos beneficiosos de la tetraciclina en varias afecciones virales, además de estudios *in vitro* y en ratones, que sugieren el efecto antiviral de la tetraciclina.

El objetivo de esta revisión, es informar sobre los diferentes efectos antivirales de las tetraciclinas y destacar su posible efecto beneficioso en el tratamiento de la COVID-19. Para ello, se realizó una revisión bibliográfica de los estudios publicados al respecto de la COVID-19, de la tetraciclina y de su efecto antiviral a través de la búsqueda en PubMed y Google Scholar utilizando el filtro de métodos de revisión sistemática y el conocimiento del tema por parte de los autores.

### **Fisiopatología de la infección por el virus SARS-CoV-2**

Estructuralmente el SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2), es un virus esférico, cubierto por una envoltura lipídica. Su genoma, formado por una cadena de ARN en sentido positivo, cubierto por una cápside proteica. Externamente, este virus presenta proteínas importantes para su patogénesis: la proteína S (del inglés “spikes”), que es importante para la unión a su receptor ACE2 (enzima convertidora de la Angiotensina II-2), la proteína M, que proporciona el soporte estructural, la proteína E necesaria para el ensamblaje del virus y una hemaglutinina esterasa (25, 26).

Un paso importante en la infección por el SARS-CoV-2, es la unión de la proteína viral S a su receptor ACE2, un miembro del Sistema-Renina-Angiotensina (SRA) (27). Esta infección viral provoca una enfermedad con disfunciones multiorgánicas que afectan a los sistemas respiratorio, renal, cardiovascular, nervioso central y gastrointestinal (28, 29). La proteína viral S se une a la ACE2 tras la modificación proteolítica de ambas proteínas. Antes de que se produzca la unión de la proteína S a la ACE2, la proteína S es modificada proteolíticamente por varias proteasas, especialmente la TMPRSS2 (serina proteasa transmembrana 2), la L-catepsina y la B-catepsina, pero otras proteínas como la tripsina, el factor X, la elastasa y la furina pueden tener efecto en estas modificaciones (30-32). La unión de las proteínas modificadas S y ACE2 facilita la entrada del virus en la célula y disminuye la expresión de ACE2 en la superficie celular (33, 34). El virus unido a la ACE2 se introduce en la célula por endocitosis (35). Inicialmente, la ACE2 desempeña un papel protector contra los efectos nocivos de la Angiotensina II (Ang II) (inflamación, fibrosis, estrés oxidativo, vasoconstricción cáncer), transformando la Ang II en Ang 1-7, que al actuar sobre su receptor Mas, genera efectos contrarios a la Ang II (36). La internalización celular del complejo virus/ACE2 deja un aumento de la actividad de la Ang II y representa un estímulo para la expresión de la ADAM17 (desintegrina y metaloproteínasa 17) en la superficie celular. La ADAM17 tiene una acción proteolítica sobre ACE2, aumentando la disminución de esta molécula en la superficie celular (37). Esto permite mayor actividad de la Ang II, que al actuar sobre su receptor AT-1 y a través de la translocación nuclear del factor de transcripción NF-kB (38), induce la producción de la proteína C reactiva, citocinas proinflamatorias, estrés oxidativo, fibrosis, vasoconstricción y aumenta la actividad de ADAM17, entre otros efectos nocivos (29, 39). Además, la ADAM17 tiene una acción proteolítica sobre el precursor del

factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), en la membrana celular, transformándolo en la forma activa de la molécula, la cual, al ser liberada en el medio extracelular, interactúa con su receptor, induciendo la producción de más ADAM17 (40, 41). Como resultado de la mayor actividad de ADAM17 en ACE2 y la internalización del complejo virus/ACE2, se produce una drástica reducción de ACE2 en la superficie celular y un aumento de esta molécula en el espacio extracelular (37), con la consecuente disminución de la acción de Ang 1-7 y la acción exagerada de la Ang II (37, 42). Bajo este mecanismo el SARSCoV-2 puede inducir un proceso inflamatorio severo con los consiguientes daños orgánicos inducidos por la acción de la Ang II. Por lo tanto, la hiperactividad de la Ang II está implicada en la gravedad de la COVID-19. La disminución de la actividad del SRA mediante el bloqueo de los receptores de Ang II (AT1) y mediante el uso de inhibidores de la ACE1, mejoraría la evolución de la Covid-19 disminuyendo la producción de citoquinas proinflamatorias. La infección por el SARS-CoV-2 y la destrucción de las células desencadenan una respuesta inmunitaria local, reclutando macrófagos y monocitos que liberan citoquinas iniciando respuestas inmunitarias adaptativas de células T y B. En la mayoría de los casos, este proceso puede resolver la infección; sin embargo, en otros casos, resulta en una respuesta inmunitaria disfuncional, que puede causar grave patología pulmonar e incluso sistémica (28, 43) (Fig. 1).

### **Tetraciclinas**

#### *Efectos generales*

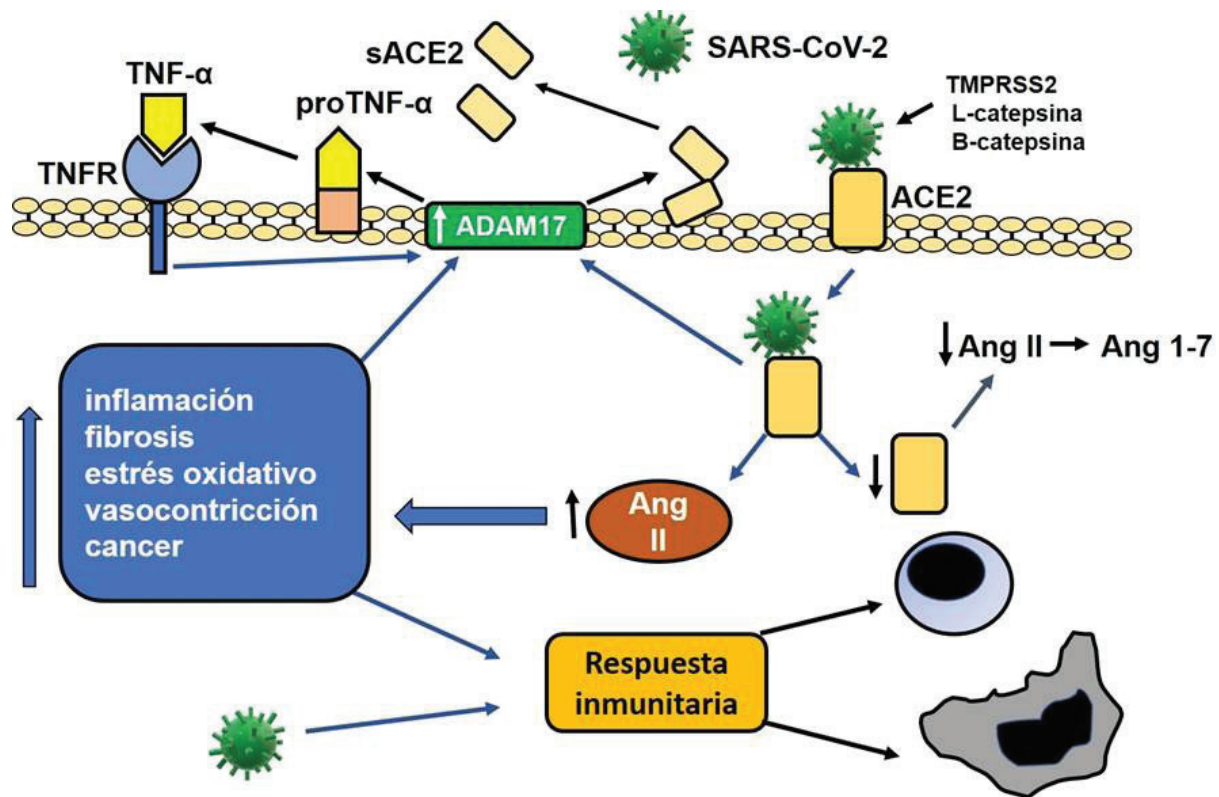
Las tetraciclinas son antibióticos que en su acción bacteriostática, actúan mediante su unión al ribosoma bacteriano en los sitios de alta y baja afinidad (30S y 50S), bloqueando la síntesis de proteínas (44, 45). Estos antibióticos son altamente lipofílicos y con buena penetrancia en el tejido pulmonar (46). La unión alostérica de las tetraciclinas al ribosoma, inhibe la unión del ARN

de transferencia aminoacil- tRNAs en el sitio aceptor, inhibiendo así la síntesis de proteínas (47).

Las tetraciclinas tienen otras propiedades además de su actividad antibacteriana.

Entre estas destacan: 1) Inhibición de metaloproteinasas: el efecto inhibitorio en las metaloproteinasas (MMP), enzimas dependientes de zinc y muy importantes en varios procesos fisiológicos y patológicos como la embriogénesis, la remodelación de tejidos, la inflamación y la acción metastásica de tumores (48-50), no se conoce. Se ha sugerido que tienen una acción directa sobre la metaloproteinasas, impidiendo su expresión (51). 2) Efecto antioxidante: las tetraciclinas también pueden actuar sobre las especies reactivas del oxígeno (ROS). El aumento de las ROS induce un estrés oxidativo durante condiciones patológicas que pueden conducir a la destrucción o disfunción de varios componentes celulares. Las especies reactivas de oxígeno están formadas por el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), el radical hidroxilo (OH<sup>-</sup>), el peróxido de hidrógeno no libre, peróxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el hipoclorito (HOCl) y el peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) (52). Las tetraciclinas como la doxiciclina (DOX) y la minociclina (MIN) (tetraciclinas de segunda generación), pueden unirse a estos radicales mediante su anillo fenólico y eliminarlos, dejando un radical fenólico estable y no reactivo (53). 3) Efecto anti-apoptótico: Las tetraciclinas DOX y MIN debido a su acción anti-apoptótica, tienen un papel protector en diversos trastornos neurológicos. Esta neuro protección está relacionada con la reducción de la expresión de la caspasa-1 y/o o la caspasa-3 (54-57). La MIN también actúa inhibiendo la liberación mitocondrial de citocromo C,

Smac/DIABLO y AIF en cultivo celular y en un modelo murino de la enfermedad de Huntington (58). En este sentido, la capacidad antiapoptótica de MIN y DOX está basada en su capacidad de inhibir las caspasas e inducir la estabilización mitocondrial (51). 4) Efecto anti-inflamatorio: Otra propiedad de las tetraciclinas es su potencial capaci-



**Fig. 1.** Participación del sistema renina-angiotensina (SRA), en la patogénesis de la infección por SARS-CoV-2. La proteína viral S se une a la a la enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE2), tras la escisión proteolítica por la TMPRSS2 (proteasa transmembrana de serina 2) y la catepsina L y B. La unión de la proteína S escindida con la ACE2, facilita la entrada del virus en la célula y disminuye la expresión de ACE2 en la superficie celular. La internalización del complejo virus/ACE2 disminuye los niveles de ACE2 y aumenta la actividad de la angiotensina II (Ang II) y la expresión de ADAM17 (desintegrador y metaloproteína 17) en la superficie celular, que, al actuar sobre la ACE2, disminuye más la expresión de esta molécula en la superficie celular. La pérdida de la expresión de ACE2 disminuye la producción de Ang 1-7, una molécula con efectos contrarios a la Ang II, por ende, antiinflamatoria. El aumento de la actividad de la Ang II sobre el receptor AT1 induce la producción de citocinas proinflamatorias, estrés oxidativo (ROS), fibrosis, vasoconstricción, producción de proteína C reactiva (PCR) y aumento de la actividad de ADAM17. La ADAM17 también actúa sobre el pro-TNF-alfa en la membrana, produciendo una molécula activa que interactúa con su receptor e induce la producción adicional de más ADAM17. La actividad de ADAM17 sobre ACE2 y la internalización del complejo virus/ACE2, reducen la cantidad de ACE2 en la superficie celular y aumentan la cantidad de la forma soluble de esta molécula (sACE2) en el espacio extracelular. Tanto el virus como los efectos inducidos por el mismo, inducen la activación del sistema inmunitario tanto el adaptativo como el innato.

dad antiinflamatoria. Las tetraciclina pueden ser agentes anti-proteolíticos e inhibidores de las especies reactivas de oxígeno, por lo que es probable que ejerzan un efecto antiinflamatorio. Las tetraciclina se asocian también a la inhibición de las citocinas proinflamatorias, de las MMP, y tanto la MIN

como la DOX pueden inhibir enzimas como la fosfolipasa A2 pancreática y no pancreática, que participan en los procesos inflamatorios (59). Así mismo, las tetraciclina son capaces de inhibir la proteína C reactiva, un importante agente proinflamatorio en la Covid-19 (29). Las tetraciclina pueden inhibir

la migración de neutrófilos (60), así como la adhesión de leucocitos (61) y la proliferación de linfocitos (62), procesos muy importantes durante la inflamación. Muchos de los efectos antiinflamatorios de las tetraciclinas están relacionados con su capacidad para inhibir las funciones del factor de transcripción NF- $\kappa$ B. En este sentido, MIN y DOX inhiben la activación de I $\kappa$ B $\alpha$  (IKK), la fosforilación y degradación de I $\kappa$ B $\alpha$  y la translocación nuclear de p65 del NF- $\kappa$ B (63, 64). También otras vías, como la p38 y ERK1/2/MAPK, pueden ser moduladas por los efectos antiinflamatorios MIN y DOX (64) (Fig. 2).

#### *Efectos antivirales*

El estudio de las tetraciclinas como agentes antivirales, abre un interesante campo en la terapia antimicrobiológica. Los

primeros informes disponibles sobre la actividad antiviral de la tetraciclina, fueron reportados por Negrette y col. entre los años 1960 y 1970. Estos estudios estaban basados en la presunción de que el efecto bloqueador de la síntesis proteica por parte de la tetraciclina, pudiese también afectar la síntesis proteica viral. Estos estudios reportaron que las tetraciclinas proporcionan protección contra varios virus. En las experiencias clínicas presentadas, se demostró el papel beneficioso de la tetraciclina en las epidemias de encefalitis equina venezolana (EEV) y de mononucleosis infecciosa (Maracaibo, Venezuela), así como en otras afecciones virales (38-44). Las tetraciclinas también mostraron un alto efecto protector en ratones y embriones de pollo infectados por el virus de la EEV (65). Estos resultados se comunicaron

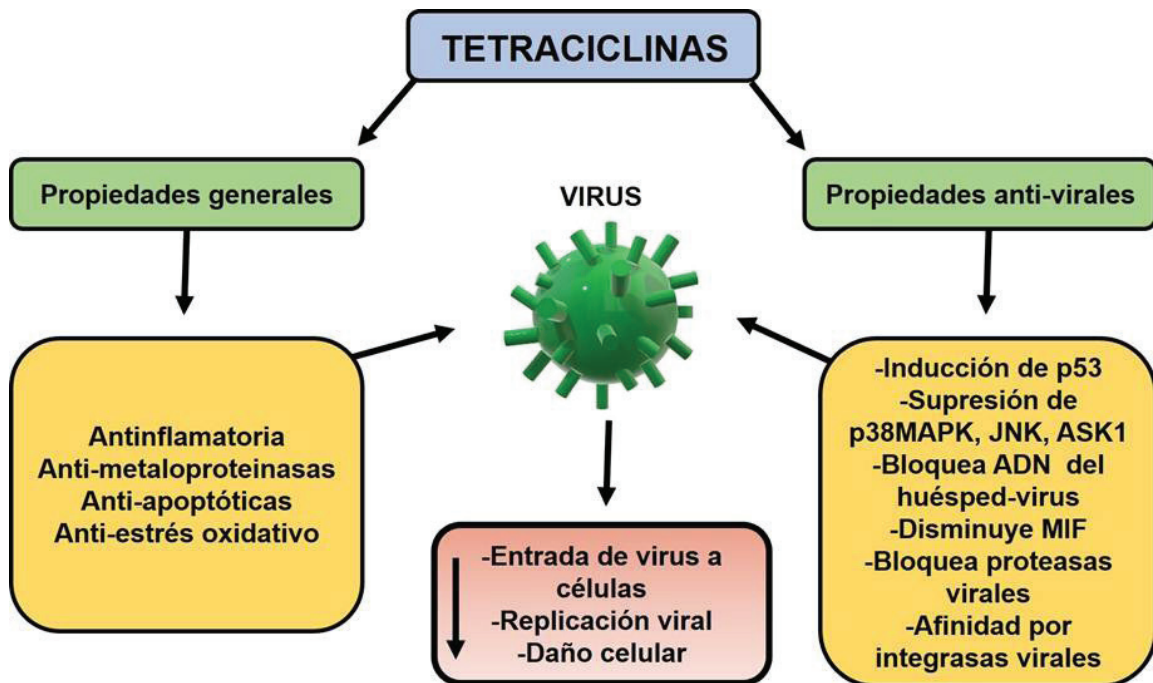


Fig. 2. Efecto de la tetraciclina en la patogénesis viral. Las tetraciclinas pueden afectar al ciclo de vida viral por mecanismos indirectos y directos. Los efectos indirectos se basan en las propiedades anti-apoptóticas, anti-metaloproteinasas (MMP), antioxidante y las propiedades antiinflamatorias de estos compuestos. Las propiedades directas actúan sobre diferentes etapas de la patogénesis viral. En general, las propiedades de la tetraciclina al actuar sobre la patogénesis viral conducen a la disminución de la entrada del virus en la célula huésped, disminuyendo su replicación y el daño celular. MIF: factor inhibidor de macrófagos.

en una época en la que se desconocía el uso de antibióticos para el tratamiento de las enfermedades virales.

En las últimas décadas, la MIN, la DOX y otros compuestos de tetraciclina, han sido ampliamente estudiados por su actividad antiviral (65). Estas tetraciclinas tienen efectos antivirales en retrovirus. Lemaitre y col. (66), reportaron que la MIN y la DOX tenían un efecto protector contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), al prevenir los efectos citopáticos del virus en las células T linfoblásticas humanas. Otros estudios demostraron en cultivos celulares, que la inhibición de la microglía por parte de la MIN redujo la producción del VIH por parte de dichas células. En un modelo de inmunodeficiencia simia (VIS), la MIN redujo la gravedad de la encefalitis, la carga viral cerebral y la expresión de marcadores inflamatorios del cerebro. Además, inhibió la replicación del VIS *in vitro* (67). Estos efectos protectores fueron mediados por la supresión de los niveles de p38MAPK y JNK en el cerebro, que inhiben la señal de apoptosis regulada por quinasa ASK1 (68). Además, la MIN tiene afinidad por la integrasa del VIH-1, inhibiendo la integración del ADN viral en el genoma del huésped (69).

La MIN también es eficaz contra las infecciones por flavivirus. Este antibiótico inhibió la replicación del virus de la encefalitis del Nilo Occidental (VNO), en células neuronales humanas cultivadas, impidiendo la apoptosis inducida por el virus (70). En otros estudios, se demostró que la MIN induce la expresión de genes asociados con la activación antiinflamatoria (M2) en la microglía, mientras que inhibe la expresión de genes asociados a la activación proinflamatoria (M1) en ratones infectados por el VNO, reduciendo la citotoxicidad en respuesta al VNO (71). En la infección experimental con el virus de la encefalitis japonesa (VEJ) en ratones, MIN redujo la apoptosis neuronal, la activación microglial, la activación de las caspasas, la producción de mediadores proinflamatorios, y la replicación viral (72).

El factor de inhibición de macrófagos (MIF) facilita la replicación del virus del dengue mediante la inducción de la autofagia. El tratamiento con la MIN disminuyó la carga viral, la secreción de MIF y la autofagia, y aumentó la supervivencia en ratones infectados por el virus del dengue (73).

La MIN también confiere protección contra la infección por alfavirus en modelos animales, al inhibir la activación microglial, disminuyendo la producción de interleucina-1-beta en el sistema nervioso central (74). En ratones infectados por el virus de la EEV, la MIN disminuyó la replicación viral, la producción de óxido nítrico y la peroxidación de lípidos en el cerebro y en cultivos de neuroblastoma infectado por el virus (75).

También se ha reportado que la MIN previene la infección por el virus respiratorio sincitial y reduce el efecto citopático inducido por este virus (76). La MIN es un agente antiviral en ratones infectados por el enterovirus 71, al reducir la expresión de citocinas y la replicación viral. Además, la MIN redujo el efecto citopático en cultivos de células THP-1 infectadas por el enterovirus 71 (77). El virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, es un miembro de una familia de virus de la fiebre hemorrágica, y su nucleoproteína es una proteína clave en la replicación del virus. La MIN y la DOX pueden inhibir esta proteína, ralentizando la replicación viral (78).

La DOX también ha mostrado actividad antiviral. Se ha demostrado la importancia de la proteína p53 en la respuesta antiviral del huésped contra varios virus, incluido el virus de la estomatitis vesicular (VEV) (79) y el virus de la gripe (80). La DOX tiene la capacidad de inducir la producción de p53 lo que amplía su efecto antiviral. En este sentido, la inhibición de la expresión de p53 por el VEV en cultivos de células H1299 es bloqueada por DOX inhibiendo el efecto citopático causado por el virus (81, 82). Este antibiótico también redujo el efecto citopático y la replicación viral en células Marc-145 infectadas por el virus del síndrome respiratorio porcino (83). La DOX también redujo

la gravedad de la lesión pulmonar aguda en ratones infectados con el virus de la gripe H3N2 (84).

También se ha informado del efecto antiviral de la DOX contra los flavivirus. La DOX impide la entrada y la replicación del virus del chikungunya, en cultivos de células Vero (85). También inhibe la serina del virus del dengue (DENV NS2B-NS3pro), impidiendo la entrada y replicación de cuatro serotipos del dengue (DENV2, DENV4, DENV1 y DENV3) en cultivos de células Vero (86, 87). Además de este mecanismo, la DOX a través de sus anillos tetracíclicos puede alterar la conformación de la proteína del virus del dengue y bloquear la entrada de este virus en las células (88).

De lo dicho anteriormente, los virus no son partículas vivas, necesitan células huésped para replicarse. El efecto antiviral de las tetraciclinas es indirecto e implica varios mecanismos que los virus utilizan para entrar y replicar en las células. El bloqueo de la síntesis de proteínas en la célula, por las tetraciclinas, podría inhibir la formación de viriones. Sin embargo, los estudios *in vitro* no son predictivos de la efectividad a nivel clínico de este antibiótico, pero son necesarios para orientar los análisis posteriores y la posible aplicación de estos hallazgos en la terapia de humanos.

### COVID-19 y tetraciclinas

El SARS-CoV-2 es un nuevo coronavirus zoonótico, que pertenece a la misma familia viral que los virus que causan el SARS (síndrome respiratorio agudo severo) y el MERS (síndrome respiratorio de Oriente Medio) (1, 2). Actualmente hay una carrera contra el tiempo para identificar tratamientos terapéuticos para la COVID-19. Las tetraciclinas (por ejemplo, la tetraciclina y las tetraciclinas halogenadas doxiciclina y minociclina), son antibióticos altamente lipofílicos que se sabe que quelan compuestos de zinc en las metaloproteinasas de la matriz (MMP). Varias funciones de los coronavirus están asociadas con el complejo de las MMPs del

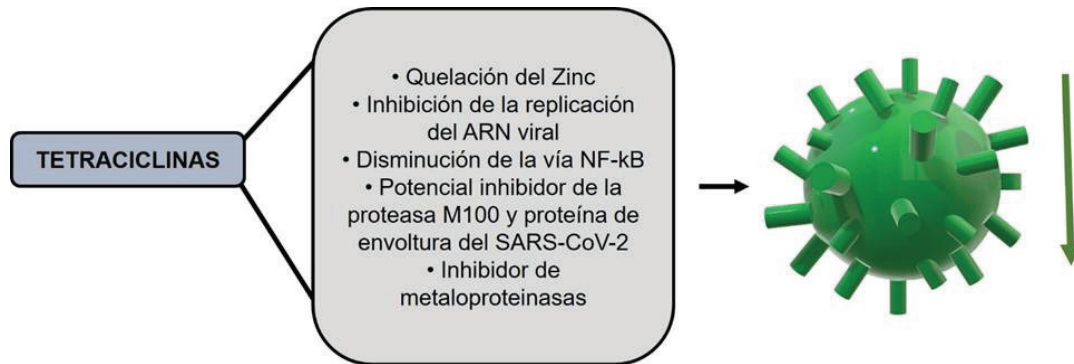
huésped, incluyendo la replicación (89, 90), sugiriendo un papel útil en evitar la replicación viral. Por lo tanto, las propiedades de quelación del zinc por parte de las tetraciclinas, también podrían ayudar a inhibir las infecciones por SARS-CoV-2 en humanos, limitando su capacidad de replicación dentro del huésped.

Las tetraciclinas también pueden ser capaces de inhibir la replicación del ARN de los virus de ARN monocatenario de sentido positivo (87), como el SARS-CoV-2, y pueden decrecer la vía NF- $\kappa$ B, disminuyendo los niveles de citocinas inflamatorias como el TNF- $\alpha$ , la IL-1 $\beta$  y la IL-6 inducidas por el SARS-CoV-2. Además, las tetraciclinas (DOX and MIN), destacan como potenciales inhibidores de la principal proteasa del SARS-CoV-2 (M<sup>pro</sup>) (91, 92). La DOX es un potente inhibidor de la proteína de envoltura del SARS-CoV-2 (93) Se ha reportado que el SARS-CoV-2 induce la apoptosis en las células infectadas (94); las propiedades anti-apoptóticas de las tetraciclinas, podrían disminuir este efecto evitando la muerte celular durante la infección y la diseminación viral (Fig. 3). Como se ha descrito anteriormente, los efectos antiinflamatorios, inhibidor de las metaloproteinasas, antioxidante y anti-apoptótico, de una manera general, son capaces de disminuir o bloquear la patogénesis del SARS-CoV-2, creando un ambiente que influiría en el deterioro de la capacidad del virus para replicarse y producir daño orgánico, por la alteración inflamatoria que induce. En este contexto, varios investigadores han sugerido el uso de tetraciclinas como potenciales agentes terapéuticos para el tratamiento de COVID-19 (65).

### Ensayos clínicos de tetraciclinas y COVID 19

En una serie de casos estudiados por Ahmad y col. (95), la DOX y la hidroxiquina (HCQ), condujeron a mejorar el resultado clínico en pacientes de alto riesgo con COVID-19, que sufrían una infección moderada a grave, reduciendo la





**Fig. 3.** Efectos potenciales de las tetraciclinas en el SARS-CoV-2. Varias propiedades de las tetraciclinas pueden disminuir potencialmente la capacidad del SARS-CoV-2 para entrar y reproducirse en la célula.

hospitalización en un 44%. Dado que la MIN tiene una actividad más eficaz (que otras tetraciclinas como la DOX), contra las citocinas proinflamatorias y otras vías propuestas como responsables de las complicaciones como el SDRA, la lesión miocárdica y el daño multiorgánico (96), su combinación con HCQ podría ser muy útil para abordar los problemas mencionados. Alam y col. (97), reportaron resultados clínicos en 89 pacientes de alto riesgo que recibieron DOX (100 mg durante 7 días), más la atención estándar dentro de las 12 horas de de la aparición de los síntomas. Su estudio observacional demostró recuperación sintomática temprana, reducción de la hospitalización, así como de la mortalidad en estos individuos. Bonzano y col. (98), informaron de una mejora repentina de los síntomas de la COVID-19, incluida la anosmia, en 6 pacientes tratados con DOX (200 mg/día, al menos durante 8 días). Cakir (99) reportó en pacientes con moderada a severa COVID-19, tratados con lopinavir más DOX, más ceftriaxona durante 5 días, una reducción de la tasa de mortalidad del 12,4% (20/161). Cag y col. (100), administraron DOX además de hidroxiquina durante 3 días a los casos leves de COVID-19 y DOX más lopinavir a los casos moderados a graves durante 5 días, a un total de 475 pacientes confirmados, e informaron de una reducción de

tasa de mortalidad global de casi el 4,2% (20/475). Yates y col. trataron a cuatro pacientes de alto riesgo con COVID-19 con enfermedad pulmonar con DOX y comunicaron una rápida mejoría clínica (101). En un ensayo aleatorio controlado, Chowdhury y col. (102), compararon la eficacia de una combinación de ivermectina y DOX con hidroxiquina y azitromicina en pacientes con infección por COVID-19 de leve a moderada. Los pacientes que recibieron ivermectina- DOX obtuvieron un resultado negativo en la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el SARS-CoV-2. Además, estos pacientes tuvieron una recuperación sintomática en una media de 5,93 días comparada con 8,30 días en los pacientes que recibieron hidroxiquina y azitromicina.

Aunque la diferencia en tiempo para ser negativo en la PCR no fue significativa, la combinación de ivermectina y doxiciclina tuvo un mejor efecto que la combinación hidroxiquina-azitromicina. La DOX parece tener algunas ventajas potenciales sobre la azitromicina en términos de seguridad en personas de edad avanzada y en aquellas de riesgo cardíaco (103), por lo que se está considerando como un fármaco potencial contra el COVID-19, para ser utilizado en la terapia combinada y obtener mayores beneficios (104). Como ejemplo de tetraciclinas y macrólidos en el tratamiento de la CO-

VID-19, se ha reportado que una combinación de DOX e ivermectina, redujo el tiempo de recuperación y el porcentaje de pacientes que progresaron a un estadio más avanzado de la enfermedad; además, este tratamiento redujo la tasa de mortalidad en los pacientes con COVID-19 grave del 22,72% al 0%, en comparación con la atención estándar con azitromicina. Puede utilizarse una combinación de tetraciclinas y macrólidos, como la DOX y la azitromicina, porque existen algunas diferencias en el mecanismo de acción de las tetraciclinas y los macrólidos. En conjunto, los resultados anteriores indican que una combinación de tetraciclinas y macrólidos puede ser un régimen terapéutico potencial para el COVID-19 y abrir la puerta a una estrategia internacional para luchar contra esta infección viral emergente (105). Byrne y col. (106), plantearon la hipótesis del papel potencial de la MIN y la DOX, en un estudio de cohorte retrospectivo, al evaluar el estado ventilatorio de los pacientes con diagnóstico de síndrome de dificultad respiratoria aguda, (SDRA), que recibieron tetraciclinas.

El uso de la MIN o de la DOX, dio lugar a una reducción significativa de la probabilidad de ventilación mecánica, la duración de la ventilación por este medio y la permanencia en la UCI, entre los pacientes con SDRA. El SDRA también es una complicación bien conocida de la infección por SARS-CoV-2, por lo tanto, las tetraciclinas tienen el potencial de combatir esta patología. Gironi y col., reportaron en un estudio observacional prospectivo, en el que participaron 38 pacientes adultos con sospecha/confirmación de COVID-19, que recibían tetraciclinas para las dermatosis concurrentes durante la cuarentena domiciliaria, que el tratamiento con tetraciclinas condujo a la resolución efectiva de los síntomas en todos los pacientes en un plazo de 10 días. Curiosamente, la ageusia y la anosmia respondieron rápidamente y desaparecieron en la primera semana del tratamiento (107).

La ocurrencia de infecciones bacterianas secundarias, en los pacientes con COVID-19, es preocupante y puede provocar una morbilidad y mortalidad significativas (1). Por lo tanto, las tetraciclinas pueden ser útiles en el tratamiento de dichas infecciones. Zhou y col. (108), informaron que la tasa de aparición de infecciones bacterianas secundarias en los pacientes con COVID-19 fue del 15%, pero fue muy alta entre los pacientes que no sobrevivieron (alrededor del 50%). Las tetraciclinas, debido a su acción antimicrobiana de amplio espectro, pueden ser una opción terapéutica en el tratamiento de estas infecciones. Sin embargo, estos estudios representan datos preliminares de varios autores, por lo que se requerirían análisis más exhaustivos, para verificar la utilidad de la tetraciclina en el tratamiento de la COVID-19.

## CONCLUSIONES

La infección por el SARS-CoV-2 agente patógeno de la COVID-19, es una enfermedad que debe ser tratada tempranamente, para evitar la evolución severa de la enfermedad y obtener una mejor respuesta inmunológica contra el virus. Las tetraciclinas, debido a sus propiedades antivirales, son potenciales fármacos para inhibir o bloquear la patología causada por SARS-CoV-2. Si bien existen datos preliminares que indican el posible papel de la tetraciclina en el tratamiento de la COVID-19, se requieren estudios más exhaustivos, con el objeto de determinar el valor de la efectividad de la tetraciclina en el tratamiento de la infección por el SARS-CoV-2.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Dr. Américo Negrette (+), pionero en el uso de antibióticos como tratamiento anti-viral, quien inspiró esta revisión.

## REFERENCIAS

1. **Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei J, Wu X, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395: 497-506.
2. **Rodríguez-Morales AJ, MacGregor K, Kanagarajah S, Patel D, Schlagenhauf P.** Going globaltravel and the 2019 novel coronavirus. *Travel Med Infect Dis* 2020;33:1-5.
3. **Goulden V.** Guidelines for the management of acne vulgaris in adolescents. *Paediatr Drugs* 2003; 5:301-313.
4. **Smilack JD.** The tetracyclines. *Mayo Clin Proc* 1999; 74:727-729.
5. **Macdonald H, Kelly RG, Allen ES, Noble JF, Kanegis LA.** Pharmacokinetic studies on minocycline in man. *Clin Pharmacol Ther* 1973; 14:852-861.
6. **Carney S, Butcher RA, Dawborn JK, Pattison G.** Minocycline excretion and distribution in relation to renal function in man. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1974;1:299-308.
7. **Gordon PH, Moore DH, Miller RG, Florence JM, Verheijde JL, Doorish C.** Efficacy of minocycline in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a phase III randomised trial. *Lancet Neurol* 2007; 6:1045-1053.
8. **Lampl Y, Boaz M, Gilad R, Lorberboym M, Dabby R, Rapoport A.** Minocycline treatment in acute stroke: an open-label, evaluator-blinded study. *Neurology* 2007; 69:1404-1410.
9. **Thomas M, Le WD.** Minocycline: neuroprotective mechanisms in Parkinson's disease. *Curr Pharm Des* 2004; 10:679-686.
10. **Zabad RK, Metz LM, Todoruk TR, Zhang Y, Mitchell JR, Yeung M.** The clinical response to minocycline in multiple sclerosis is accompanied by beneficial immune changes: a pilot study. *Mult Scler* 2007;13:517-526.
11. **Michalopoulos A.** A clinical and laboratory study of doxycycline ('Vibramycin'): a broad-spectrum antibiotic. *Curr Med Res Opin* 1973; 1:445-455.
12. **Pulverer G.** Doxycycline-a broad spectrum antibiotic of the tetracycline series. *Med Klin* 1969; 64:1033-1037.
13. **Krakauer T, Buckley M.** Doxycycline is anti-inflammatory and inhibits staphylococcal exotoxin-induced cytokines and chemokines. *Antimicrob Agents Chem* 2003; 47:3630-3633.
14. **Cazalis J, Bodet C, Gagnon G.** Doxycycline reduces lipopolysaccharide induced inflammatory mediator secretion in macrophage and ex vivo human whole blood models. *J Periodontol* 2008;79:1762-1768.
15. **Joshi NJ, Miller D.** Doxycycline revisited. *Arch Intern Med* 1997;157:1421-1428.
16. **Négrette A.** Encefalitis epidémica. *Invest Clin* 1960; 1:13-34.
17. **Négrette A, Mosquera J.** Epidemia de encefalitis de 1959 en Maracaibo (San Francisco), Estado Zulia, Venezuela. Manifestaciones clínicas y terapéutica antibiótica. *Invest Clin* 1974; 15:11-44.
18. **Négrette A, Maso-Domínguez J, Rollings CL.** Mononucleosis Infecciosa epidémica. *Invest Clin* 1964; 5:49-53.
19. **Négrette A.** Encefalitis equina venezolana. Leucocitos vacuolados. *Invest Clin* 1968; 26:97-107.
20. **Négrette A.** Parálisis facial y tetraciclina. *Invest Clin* 1968b; 26:5-6.
21. **Négrette A.** Tetraciclina y virus pequeños. Editorial. *Invest Clin* 1980; 21:235-238.
22. **Négrette A.** Tetraciclina y Sida. *Invest Clin* 1990; 31:117-119.
23. **Négrette A, Hernandez H.** Therapeutic effect of tetracycline in the experimental venezuelan encephalitis. *Invest Clin* 1974; 15:45-51.
24. **Négrette A, Soto Escalona A, Ryder S.** Acción de la tetraciclina sobre la encefalitis venezolana experimental. Comunicacion preliminar. *Invest Clin* 1970; 36:7-11.
25. **Masters PS.** The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2006;66:193-292.
26. **de Groot RJ.** Structure, function and evolution of the hemagglutinin-esterase proteins of corona and toroviruses. *Glycoconj J* 2006;23:59-72.
27. **Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong JC, Turner AJ.** Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2. *Circ Res* 2020;126: 1456-1474.

28. Jothimani D, Venugopal R, Abedin MF, Kalliamoorthy I, Rela M. COVID-19 and the liver. *J Hepatol* 2020;73:1231-1240.
29. Mosquera-Sulbarán J, Adriana Pedrañez, Yenddy Carrero, Diana Callejas. C-reactive protein as an effector molecule in the COVID-19 pathogenesis. *Rev Med Virol* 2021; 1-8, e2221.
30. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 2020;367:1444-1448.
31. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihar H, Geng Q, Auerbach A, Li F. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* 2020;581:221-224.
32. Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res* 2015; 202:120-134.
33. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaran M, Sullivan JL, Luzuriaga K, Greenough TC, Choe H, Farzan M. Angiotensin-converting enzyme2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 2003; 426:450-454.
34. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell* 2020;181:281-292.
35. Wang H, Yang P, Liu K, Guo F, Zhang Y, Zhang G, Jiang C. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae independent endocytic pathway. *Cell Res* 2008; 18:290-301.
36. Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DMR, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinheiro SVB, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Soares Lemos V, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walther T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8258-8263.
37. Patel VB, Clarke N, Wang Z, Fan D, Parajuli N, Basu R, Putko B, Kassiri Z, Turner AJ, Oudit GY. Angiotensin II induced proteolytic cleavage of myocardial ACE2 is mediated by TACE/ADAM-17: a positive feedback mechanism in the RAS. *J Mol Cell Cardiol* 2014;66:167-176.
38. Kim JM, Heo HS, Ha YM, Hyeok Ye BH, Lee EK, Choi YJ, Yu BP, Chung HY. Mechanism of Ang II involvement in activation of NF- $\kappa$ B through phosphorylation of p65 during aging. *Age (Dordr)* 2012; 34:11-25.
39. Scott AJ, O'Dea KP, O'Callaghan D, Lynn Williams L, Justina O Dokpesi JO, Louise Tatton L, Jonathan M Handy JM, Philip J Hogg PJ, Masao Takata M. Reactive oxygen species and p38 mitogen-activated protein kinase mediate tumor necrosis factor  $\alpha$ -converting enzyme (TACE/ADAM-17) activation in primary human monocytes. *J Biol Chem* 2011;286:35466-35476.
40. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon J J, Slack J L, Wolfson M F, Castner B J, Stocking K L, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart M, Davis R, Fitzner J N, Johnson R S, Paxton R J, March C J, Cerretti D P. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* 1997;385:729-733.
41. Moss ML, Jin SL, Milla ME, Burkhart W, Carter H L, Chen W J, Clay W C, Didsbury J R, Hassler D, Hoffman C R, Kost T A, Lambert M H, Leesnitzer M A, McCauley P, McGeehan G, Mitchell J, Moyer M, Pahel G, Rocque W, Overton L K, Schoenen F, Seaton T, Su J L, Becherer J D. Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor alpha. *Nature* 1997; 385:733-736.
42. Xu J, Sriramula S, Xia H, Moreno-Walton L, Culicchia F, Domenig O, Poglitsch M, Lazartigues E. Clinical relevance and role of neuronal AT1 receptors in ADAM17-mediated ACE2 shedding in neurogenic hypertension. *Circ Res* 2017;121:43-55.
43. Pedrañez A, Mosquera-Sulbarán J, Muñoz N. SARS-CoV-2 infection represents a high risk for the elderly: analysis of pathogenesis. *Arch Virol* 2021;166:1565-1574.
44. Hash JH, Wishnick M, Miller PA. On the mode of action of the tetracycline antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem* 1964; 239:2070-2078.
45. Tritton TR. Ribosome-tetracycline interactions. *Biochemistry* 1977;16:4133-4138.
46. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial

- resistance. *Microbiol Mol Biol Rev Am Soc Microbiol* 2001;65:232–260.
47. **Semenkov YP, Makarov EM, Makhno VI, Kirillov SV.** Kinetic aspects of tetracycline action on the acceptor (A) site of *Escherichia coli* ribosomes. *FEBS Lett* 1982; 144:125–129.
  48. **Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, Aikawa M, Sukhova GH, Lopez-Anaya A, McClure KF, Mitchell PG, Libby P, Lee RT.** Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation* 1999; 99:3063–3070.
  49. **Peterson JT.** Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug discovery. *Heart Fail Rev* 2004; 9:63–79.
  50. **Nağase H, Woessner JF.** Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:21491–21494.
  51. **Griffin MO, Fricovsky E, Ceballos G, Villarreal F.** Tetracyclines: a pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. Review of the literature. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010; 299:C539–C548.
  52. **Park JL, Lucchesi BR.** Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1905–1912.
  53. **Kraus RL, Pasieczny R, Lariosa-Willingham K, Turner MS, Jiang A, Trauger JW.** Antioxidant properties of minocycline: neuroprotection in an oxidative stress assay and direct radicalscavenging activity. *J Neurochem* 2005; 94:819–827.
  54. **Yrjänheikki J, Keinänen R, Pellikka M, Hökfelt T, Koistinaho J.** Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:15769–15774.
  55. **Sanchez Mejia RO, Ona VO, Li M, Friedlander RM.** Minocycline reduces traumatic brain injury-mediated caspase-1 activation, tissue damage, and neurological dysfunction. *Neurosurgery* 2001; 48:1393–1399.
  56. **Du Y, Ma Z, Lin S, Dodel RC, Gao F, Bales KR, Triarhou LC, Chernet E, Perry KW, Nelson DL, Luecke S, Phebus LA, Bymaster FP, Paul SM.** Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the M.PTP model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:14669–14674.
  57. **Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S.** Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2001; 6:797–801.
  58. **Wang X, Zhu S, Drozda M, Zhang W, Stavrovskaya IG, Cattaneo E, Ferrante RJ, Kristal BS, Friedlander RM.** Minocycline inhibits caspase-independent and -dependent mitochondrial cell death pathways in models of Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:10483–10487.
  59. **Pruzanski W, Greenwald RA, Street IO, LaLeberte F, Stefanski E, Vadas P.** Inhibition of enzymatic activity of phospholipase A2 by minocycline and doxycycline. *Biochem Pharmacol* 1992; 44:1165–1170.
  60. **Esterly NB, Koransky JS, Furey NL, Trevisan M.** Neutrophil chemotaxis in patients with acne receiving oral tetracycline therapy. *Arch Dermatol* 1984; 120:1308–1313.
  61. **Gable WL, Tsukuda N.** The influence of divalent cations and doxycycline on iodoacetamide-inhibitable leukocyte adherence. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1991; 74:131–140.
  62. **Thong YH, Ferrante A.** Inhibition of mitogen-induced human lymphocyte proliferative responses by tetracycline analogues. *Clin Exp Immunol* 1979; 35:443–446.
  63. **Ataie-Kachoie P, Badar S, Morris DL, Pourgholami MH.** Signal transduction minocycline targets the NF- $\kappa$ B nexus through suppression of TGF- $\beta$ 1-TAK1-I $\kappa$ B signaling in ovarian cancer. *Mol Cancer Res* 2013; 11:1279–1291.
  64. **Sun J, Shigemi H, Tanaka Y, Yamauchi T, Ueda T, Iwasaki H.** Tetracyclines down-regulate the production of LPS induced cytokines and chemokines in THP-1 cells via ERK, p38, and nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathways. *Biochem Biophys Rep* 2015; 4:397–404.
  65. **Mosquera-Sulbaran J, Hernandez-Fonseca H.** Tetracycline and viruses: a possible treatment for COVID-19? *Arch Virol* 2021;166:1–7.
  66. **Lemaitre M, Guetard D, Henin Y, Montagnier L, Zerial A.** Protective activity of tetracycline analogs against the cytopathic

- effect of the human immunodeficiency viruses in CEM cells. *Res Virol* 1990; 141:5–16.
67. Zink MC, Uhrlaub J, DeWitt J, Voelker T, Bullock B, Mankowski J. Neuroprotective and anti-human immunodeficiency virus activity of minocycline. *JAMA* 2005; 293:2003–2011.
  68. Follstaedt SC, Barber SA, Zink MC. Mechanisms of minocycline-induced suppression of simian immunodeficiency virus encephalitis: inhibition of apoptosis signal-regulating kinase 1. *J Neurovirol* 2008;14:376–388.
  69. Jenwitheesuk E, Samudrala R. Identification of potential HIV-1 targets of minocycline. *Bioinformatics* 2007; 23:2797–2799.
  70. Michaelis M, Kleinschmidt MC, Doerr HW, Cinat J. Minocycline inhibits West Nile virus replication and apoptosis in human neuronal cells. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:981–986.
  71. Quick ED, Seitz S, Clarke P, Tyler KL. Minocycline has anti-inflammatory effects and reduces cytotoxicity in an *Ex Vivo* spinal cord slice culture model of west Nile virus infection. *J Virol* 2017; 91:e00569-e1517.
  72. Mishra MK, Basu A. Minocycline neuroprotects, reduces microglial activation, inhibits caspase 3 induction, and viral replication following Japanese encephalitis. *J Neurochem* 2008;105:1582–1595.
  73. Lai YC, Chuang YC, Chang CP, Lin YS, Perng GC, Wu HC, Hsieh SL, Yeh TM. Minocycline suppresses dengue virus replication by down-regulation of macrophage migration inhibitory factor-induced autophagy. *Antiviral Res* 2018; 155:28–38.
  74. Irani DN, Prow NA. Neuroprotective interventions targeting detrimental host immune responses protect mice from fatal alphavirus encephalitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66:533–544.
  75. Valero N, Mosquera J, Alcocer S, Bonilla E, Salazar J, Álvarez-Mon M. Melatonin, minocycline and ascorbic acid reduce oxidative stress and viral titers and increase survival rate in experimental Venezuelan equine encephalitis. *Brain Res* 2015; 1622:368–376.
  76. Bawage SS, Tiwari PM, Pillai S, Dennis VA, Singh SR. Antibiotic minocycline prevents respiratory syncytial virus infection. *Viruses* 2019;11:1–10.
  77. Liao YT, Wang SM, Chen SH. Anti-inflammatory and antiviral effects of minocycline in enterovirus 71 infections. *Biomed Pharmacother* 2019; 118:109271.
  78. Sharifi A, Amanlou A, Moosavi-Movahedi F, Golestanian S, Amanlou M. Tetracyclines as a potential antiviral therapy against Crimean Congo hemorrhagic fever virus: docking and molecular dynamic studies. *Comput Biol Chem* 2017;70:1–6.
  79. Takaoka A, Hayakawa S, Yanai H. Integration of interferon alpha/beta signalling to p53 responses in tumour suppression and antiviral defence. *Nature* 2003; 424:516–523.
  80. Turpin E, Luke K, Jone J. Influenza virus infection increases p53 activity: role of p53 in cell death and viral replication. *J Virol* 2005; 79:8802–8811.
  81. Fujioka S, Schmidt C, Sclabas GM, Li Z, Pelicano H, Peng B, Yao A, Niu J, Zhang W, Evans DB, Abbruzzese JL, Huang P, Chiao PJ. Stabilization of p53 is a novel mechanism for proapoptotic function of NF- $\kappa$ B. *J Biol Chem* 2004; 279:27549–27559.
  82. Wu ZC, Wang X, Wei JC, Li BB, Shao DH, Li YM, Liu K, Shi YY, Zhou B, Qiu YF, Ma ZY. Antiviral activity of doxycycline against vesicular stomatitis virus in vitro. *FEMS Microbiol Lett* 2015; 362:fmv195.
  83. Li Y, Wu Z, Liu K, Qi P, Xu J, Wei J, Li B, Shao D, Shi Y, Qiu Y, Ma Z. Doxycycline enhances adsorption and inhibits early-stage replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in vitro. *FEMS Microbiol Lett* 2017; 364:1–6.
  84. Ng HH, Narasaraju T, Phoon MC, Sim MK, Seet JE, Chow VT. Doxycycline treatment attenuates acute lung injury in mice infected with virulent influenza H3N2 virus: involvement of matrix metalloproteinases. *Exp Mol Pathol* 2012; 92:287–295.
  85. Rothan HA, Bahrani H, Mohamed Z, Teoh TC, Shankar EM, Rahman NA, Yusof R. A combination of doxycycline and ribavirin alleviated chikungunya infection. *PLoS ONE* 2015;10:e0126360.
  86. Rothan HA, Buckle MJ, Ammar YA, Mohammadjavad P, Shatrah O, Noorsaadah AR, Rohana Y. Study the antiviral activity of some derivatives of tetracycline and non-steroid anti-inflammatory drugs towards

- dengue virus. *Trop Biomed* 2013; 30:681–690.
87. **Rothan HA, Mohamed Z, Paydar M, Rahman NA, Yusof R.** Inhibitory effect of doxycycline against dengue virus replication in vitro. *Arch Virol* 2014; 159:711–718.
  88. **Yang JM, Chen YF, Tu YY, Yen KR, Yang YL.** Combinatorial computational approaches to identify tetracycline derivatives as flavivirus inhibitors. *PLoS ONE* 2007; 2:e428.
  89. **Speer BS, Shoemaker NB, Salyers AA.** Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5(4):387–399.
  90. **Zakeri B, Wright GD.** Chemical biology of tetracycline antibiotics. *Biochem Cell Biol* 2008; 86:124–136.
  91. **Bharadwaja S, Leea KE, Dwivedib VD, Kanga SG.** Computational insights into tetracyclines as inhibitors against SARS-CoV-2 Mpro via combinatorial molecular simulation calculations. *Life Sci* 2020; 257:118080.
  92. **Wang J.** Fast identification of possible drug treatment of coronavirus disease-19 (COVID-19) through computational drug repurposing study. *J Chem Inf Model* 2020; 60:3277-3286.
  93. **Bhowmik D, Nandi R, Jagadeesan R, Kumar N, Prakash A, Kumar D.** Identification of potential inhibitors against SARS-CoV-2 by targeting proteins responsible for envelope formation and virion assembly using docking based virtual screening, and pharmacokinetics approaches. *Infect Genet Evol* 2020;84:104451.
  94. **Ren Y, Shu T, Wu D, Mu J, Wang C, Huang M, Han Y, Zhang XY, Zhou W, Qiu Y, Zhou X.** The ORF3a protein of SARSCoV-2 induces apoptosis in cells. *Cell Mol Immunol* 2020; 18:1–3.
  95. **Ahmad I, Alam M, Saadi R, Mahmud S, Saadi E.** Doxycycline and Hydroxychloroquine as treatment for high-risk COVID-19 patients: experience from case series of 54 patients in long-term care facilities. *medRxiv* 2020; 05:18.20066902.
  96. **Roy SK, Kendrick D, Sadowitz BD, Gatto L, Snyder K, Satalin JM, Golub LM, Nieman G.** Jack of all trades: pleiotropy and the application of chemically modified tetracycline-3 in sepsis and the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Pharmacol Res* 2011;64:580–589.
  97. **Alam MM, Mahmud S, Rahman MM, Simpson JA, Aggarwal S, Ahmed Z.** Clinical outcomes of early treatment with doxycycline for 89 high-risk COVID-19 patients in long-term care facilities in New York. *Cureus* 2020;12:e9658.
  98. **Bonzano C, Borroni D, Lancia A, Bonzano E.** Doxycycline: from ocular rosacea to COVID-19 anosmia. New insight into the coronavirus outbreak. *Front Med (Lausanne)*. 2020; 7:200.
  99. **Cakir B.** A novel approach to managing COVID-19 patients; results of lopinavir plus doxycycline cohort. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021; 40:663-664.
  100. **Cağ Y, Icten S, Isik-Goren B, Baysal NB, Bektas B, Selvi E, Ergen P, Aydin O, Ucisik AC, Yilmaz-Karadağ F, Caskurlu H, Akarsu-Ayazoglu T, Kocoglu H, Uzman S, Nural-Pamukcu M, Arslan F, Bas G, Kalcioğlu MT, Vahaboglu H.** A novel approach to managing COVID-19 patients; results of lopinavir plus doxycycline cohort. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol* 2021; 40:407-411.
  101. **Yates PA, Newman SA, Oshry LJ, Glassman RH, Leone AM, Reichel E.** Doxycycline treatment of high-risk COVID-19-positive patients with comorbid pulmonary disease. *Ther Adv Respir Dis* 2020;14:1753466620951053.
  102. **Chowdhury ATMM, Shahbaz M, Karim MR, Islam J, Guo D, He S.** A Randomized trial of ivermectin-doxycycline and hydroxychloroquine-azithromycin therapy on COVID19 patients. *Research Square* 2020.
  103. **Malek AE, Granwehr BP.** Doxycycline as an alternative to azithromycin in elderly patients. *Int J Antimicrob Agents* 2021;57:106168.
  104. **Malek AE, Granwehr BP, Kontoyiannis DP.** Doxycycline as a potential partner of COVID-19 therapies. *IDCases* 2020;21:e00864.
  105. **Ohe M, Furuya K, Goudarzi H.** Tetracycline plus macrolide: A potential therapeutic regimen for COVID-19? *BioScience Trends*. 2020; 14:467-468.
  106. **Byrne JD, Shakur R, Collins JE, Becker S, Young CC, Boyce H, Traverso G.** Pro-

- phylaxis with tetracyclines in ARDS: potential therapy for COVID-19-induced ARDS?. medRxiv 2020.
- 107. Gironi LC, Damiani G, Zavattaro E, Pacifico A, Santus P, Pigatto PDM, Cremona O, Savoia P.** Tetracyclines in COVID-19 patients quarantined at home: literature evidence supporting real-world data from a multicenter observational study targeting inflammatory and infectious dermatoses. *Dermatol Ther* 2020;22: e14694.
- 108. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B.** Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020; 395:1054–1062.