

Importancia de la respuesta inmune celular adaptativa en la infección por SARS-CoV-2

Importance of the immune adaptative cell response in Sars-CoV-2 infection

JUAN BAUTISTA DE SANCTIS^{1,2}, ALEXIS GARCÍA², DOLORES MORENO³

Resumen

La infección por el virus SARS-CoV-2 afecta la respuesta inmune innata y adaptativa del hospedador. Si la respuesta inmune innata es exacerbada, se produce la tormenta de citocinas afectando la respuesta inmune adaptativa que redundaría en una disfunción del sistema inmune. El reconocimiento y eliminación viral más eficiente es por medio de los anticuerpos neutralizantes y la memoria celular adaptativa contra el virus. La memoria celular de linfocitos citotóxicos, de células NK y NKT es trascendental en la eliminación del virus y las células infectadas por éste. A la par, la memoria de células Th1 y B son críticas para la producción de anticuerpos. Sin embargo, la presencia de anticuerpos no define la respuesta celular de memoria efectiva contra el virus. Las vacunas usadas en la actualidad generan una buena respuesta CD4+ y B de memoria, pero no todas generan CD8+ de memoria. Al disminuir la respuesta de memoria CD8+ la posibilidad de manifestaciones clínicas incrementa. En pacientes con comorbilidades o deficiencias en la respuesta de interferón, su memoria CD8+ es menor y por ello son más propensos a desarrollar cuadros clínicos más complejos. Se concluye que el papel de la memoria inmunológica CD8+ es clave para la eliminación del virus SARS-CoV-2.

Palabras clave: SARS-CoV-2, linfocitos T, células NK, células NKT, citotoxicidad, citocinas.

Abstract

The SARS-CoV-2 infection affects the host's innate and adaptive immune response. If the innate immune response is exacerbated, the cytokine storm occurs, affecting the adaptive immune response and hence an impaired immune response. The most efficient viral recognition and elimination are through neutralizing antibodies and adaptive cellular memory against the virus. The cellular memory of cytotoxic lymphocytes, NK cells, and NKT cells is essential in eliminating the virus and the cells infected by it. At the same time, the memory of Th1 and B cells are critical for the production of antibodies. However, the presence of antibodies does not define an effective memory cell response against the virus. The vaccines currently used generate good CD4+ and B memory responses, but not all generate memory CD8+s. If the CD8+ memory response decreases, the possibility of clinical manifestations increases. In patients with comorbidities or deficiencies of the interferon response, their CD8+ memory is lower, and therefore they are not more likely to develop more complex clinical manifestations. It is concluded that the study of CD8+ immunological memory is critical to eliminate the SARS-CoV-2 virus.

Keywords: SARS-CoV-2, lymphocytes, NK cells, NKT cells, cytotoxicity, cytokines.

1. Instituto de Medicina Molecular y Traslacional. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Palacky. Correspondencia: juanbautista.desanctis@upol.cz. ORCID: [0000-0002-5480-4608](https://orcid.org/0000-0002-5480-4608).
2. Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. ORCID: [0000-0002-2354-0160](https://orcid.org/0000-0002-2354-0160)
3. Cátedra de Patología General y Fisiopatología. Escuela Luis Razetti. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. ORCID: [0000-0002-6481-1377](https://orcid.org/0000-0002-6481-1377)

Introducción

ESTRUCTURA BÁSICA DEL VIRUS

Los coronavirus (CoV) son virus de ARN+ monocatenarios con una envoltura caracterizada por estructuras en forma de espícula que asemejan una corona. La familia Coronaviridae está formada por cuatro subfamilias Alfacoronavirus (α CoV), Betacoronavirus (β CoV), Deltacoronavirus (δ CoV) y Gammacoronavirus (γ CoV). Se sabe que un total de 7 CoV infectan a los seres humanos, consisten en dos alfas CoV (HCoV-229E y HKU-NL63) y cinco betas CoV (HCoVOC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, SARS-CoV-2 y MERS-CoV).

Los CoV, HCoV-229E, HKU-NL63, HCoVOC43 y HCoV-HKU1, han estado circulando durante mucho tiempo en la población mundial. Se presume que, a través de los años, las mutaciones en el ARN viral han dado lugar a una disminución significativa de la tasa de infección y en consecuencia de los procesos fisiopatológicos asociados a la infección (Artika y col., 2020). Por ello, la infección por coronavirus se consideraba como una infección viral benigna. Esta definición cambió en 2002-2003 cuando en China hubo brote con una nueva cepa de coronavirus, asociada a animales salvajes. Se demostró que el virus es el factor desencadenante del síndrome respiratorio agudo severo y por ello se denominó SARS-CoV. El virus SARS-CoV-1 es altamente contagioso y su tasa de letalidad es del 9,6% (Gralinski y Baric, 2015). El rápido control epidemiológico evitó la propagación del virus. Posteriormente en países de Medio Oriente, en 2012, y Corea del Sur en 2015 se detectó otra cepa, MERS. Se reportó una letalidad cercana al 35% y pudo controlarse epidemiológicamente

(Gralinski y Baric, 2015; Artika y col., 2020). En el año 2019, se produjo la pandemia por SARS-CoV-2 proveniente de China debido al errático control epidemiológico a nivel mundial (Artika y col., 2020; Zhou y col., 2020). A pesar de que la tasa de letalidad de SARS-CoV-2 es inferior a los dos anteriores, 2-3 % en población total y alrededor de 30 % en población adulta mayor, la presencia de variantes virales con mayor tasa de infección ha generado importantes problemas epidemiológicos a nivel mundial (Zhou y col., 2020).

El genoma del coronavirus está formado por 2 sitios UTR, 5' y 3', la replicasa, la espiga (S), la envoltura E (Envolvente), la M (Membrana), la N (Nucleocápside) y la cola de poli (A) (Figura 1). Hay genes adicionales al final del genoma (Figura 1). La proteína S está altamente glicosilada y es necesaria para la infección (Mousavizadeh y Ghasemi, 2021). Aunque la proteína S es muy similar entre el SARS 1 y 2 (94% de secuencia de nucleótidos), hay un sitio sensible a proteasas en el SARS-CoV-2 que está ausente en el anterior (Mousavizadeh y Ghasemi, 2021). La proteína de membrana y las proteínas accesorias no son esenciales para la replicación; sin embargo, son vitales en el ensamblaje y patogenia viral. Hay otros genes no estructurales, las proteínas del marco abierto de lectura (ORF), ORF1ab, ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF10 y ORF8 que también se transcriben (Chen y col., 2020). La función de estas proteínas en la infección, la replicación viral y la respuesta del hospedador aún están en estudio.

Los coronavirus, SARS-CoV, SARS-CoV-2 y MERS, infectan, principalmente, las células del tracto respiratorio (Zhou y col., 2020). Todos usan la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor primario. El SARS-CoV-2 tiene un período

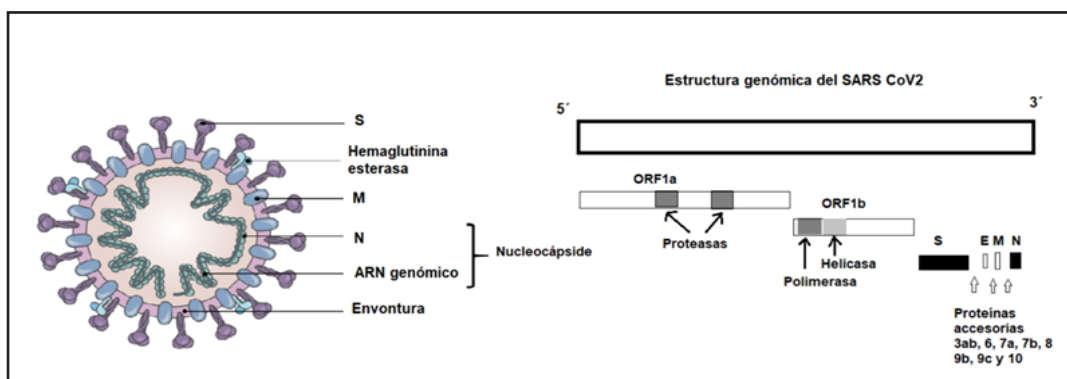


Figura 1. Esquema de la estructura del virus SARS-CoV-2. Los rectángulos en negro, que representan la proteína de la espiga (S) y la nucleocápside (N), son las proteínas más relevantes para generar una respuesta inmune antiviral efectiva. Los rectángulos grises representan otros aspectos importantes de la estructura viral. La proteína N es más conservada que la proteína S.

de incubación de 1 a 14 días, que varía de 3 a 7 días. Los síntomas más comúnmente descritos son fiebre leve y moderada, debilidad, tos seca, dolor de cabeza, congestión nasal, dolor de garganta, dolor muscular, síntomas gastrointestinales y falta de olfato y gusto. La población adulta mayor es más susceptible a desarrollar formas severas de la enfermedad a consecuencia del virus. Se registra una alta mortalidad en pacientes con comorbilidades tales como: obesidad, hipertensión, diabetes y pacientes inmunocomprometidos y en pacientes con inmunodeficiencia primaria.

INFECCIÓN VIRAL

En un análisis general, Mason (2020) describió tres fases de la infección viral por SARS-CoV-2. La primera fase es la fase asintomática ya que la infección se presenta, mayoritariamente, en la nariz y en la cavidad bucal. En la nariz, el sistema inmunológico involucra anticuerpos locales y células inmunes innatas que pueden provocar una respuesta inmunitaria adaptativa vía células T residentes en mucosas. La inducción de la respuesta inmune adaptativa depende de la expresión del antígeno, que es baja

en las primeras etapas de la infección viral.

En la cavidad orofaríngea predomina la respuesta inmune innata, complemento, neutrófilos y macrófagos, y anticuerpos, fundamentalmente IgA, péptidos bactericidas y enzimas que controlan principalmente infecciones bacterianas (Mason, 2020). Allí, el virus provoca una respuesta inmune mínima (Mason, 2020). En la fase sintomática moderada, el virus está presente principalmente en el epitelio pseudoestratificado de las vías respiratorias más grandes. En estas áreas hay una excelente respuesta inmune innata contra células y proteínas involucradas en daño celular y obstrucción de las vías respiratorias (Mason, 2020). Sin embargo, las células epiteliales dañadas pueden eliminarse y ser reemplazadas con células basales. En los procesos de gravedad, las células exocrinas bronquiales (denominadas células club), presente en los bronquiolos, se infectan comprometiendo por ello la producción de mucina y otros productos secretores (Mason, 2020). Además, el virus infecta y se replica en las células epiteliales de tipo II que expresan el receptor de la enzima convertidora de

angiotensina 2. La disminución de células club son responsable de la insuficiencia respiratoria. La reabsorción activa típica de líquido alveolar y electrolitos también se ve obstaculizada, lo que puede resultar en hipocalemia (Mason, 2020). Las células endoteliales dañadas conducen a la trasudación de proteínas plasmáticas de origen inflamatorio y a una formación irregular de membranas hialinas (Mason, 2020).

El SARS-CoV-2 utiliza el complejo receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), una proteína transmembrana glicosilada, para infectar e invadir la célula diana (Shang y col., 2020; Yan y col., 2020). La máxima expresión de ACE2 se observa en el epitelio respiratorio, pulmones, riñones, intestinos, testículos (células de Sertoli y Leydig), útero, vagina, endotelio y corazón (Shang y col., 2020; Yan y col., 2020). El sitio sensible a la proteasa de la proteína espiga se escinde mediante una serina proteasa 2 transmembrana específica (TMPRSS2). La unidad S 1 (S1) del virus se une al ACE2 como receptor diana (Shang y col., 2020; Yan y col., 2020; Morelli y col., 2021). Luego, utiliza la serina proteasa del hospedador TMPRSS2 para la escisión de la proteína S, lo que permite la unión de las membranas viral y celular y, en consecuencia, la entrada del virus en la célula (Shang y col., 2020; Yan y col., 2020; Walls y col., 2020; Morelli y col., 2021). La unión del virus y su internalización deja a las células sin una enzima ACE2 activa. La ACE2 soluble que carece de anclaje a la membrana se encuentra en niveles bajos en la sangre (Batlle y col., 2020). El impacto de una pequeña cantidad de ACE2 activo y su papel en la fisiología cardiovascular y la fisiopatología del SARS-CoV-2 es un tema fascinante que está en estudio.

RESPUESTA INMUNE INNATA Y TORMENTA DE CITOCINAS

La respuesta antiviral se desencadena, de manera general, por la activación de la transcripción y secreción de interferón (IFN) de tipo I (Zhao y Zhao, 2020; Krainer y col., 2020; Ye y col., 2020). Sin embargo, en las células de la inmunidad innata dos receptores de reconocimiento de patógenos (PAMP) son capaces de detectar el ARN viral, el receptor de reconocimiento de retinoides RIG-1 y los receptores TOLL (TLR 3, 7 y 8). Una vez reconocido el patógeno, se produce la activación del inflammasoma. El inflammasoma es un sistema multi-protéico citoplasmático involucrado producción de citocinas proinflamatorias, IL-1 β , IL-18 (Zhao y Zhao, 2020; Krainer y col., 2020; Ye y col., 2020). Estas citocinas, a su vez, activan la producción de proteínas de fase aguda, mayoritariamente proteína C reactiva e IL-6. La IL-6 es responsable del incremento de neutrófilos en sangre periférica junto con GM-CSF. Por ello, la activación exacerbada del inflammasoma puede conllevar a muerte celular de las células de inmunidad innata. La muerte celular conlleva a la secreción de alarminas que son detectadas por los receptores de alarma denominados DAMP (Zhao y Zhao, 2020; Krainer y col., 2020; Ye y col., 2020). La activación células vía receptores DAMP amplifica la respuesta inflamatoria y bloquea los mecanismos de control fisiológico. En este proceso de exacerbación, las citocinas antiinflamatorias como IL-10 no son capaces de disminuir el proceso. La inflamación multisistémica afecta diversos órganos. Este proceso de respuesta exacerbada se denomina tormenta de citocinas (Zhao y Zhao, 2020; Krainer y col., 2020; Ye y col., 2020).

En pacientes con comorbilidades la tormenta de citocinas pudiera ser producto de una inflamación subclínica, denominada en inglés inflamaging (Lara y col., 2020; Meftahi y col., 2020). A la par, la tormenta de citocinas puede observarse en varias enfermedades inflamatorias y por ello se analizaron diversos tratamientos antiinflamatorios para la infección viral, muchos de ellos sin éxito. Uno de los puntos a destacar es que la disminución de la respuesta inflamatoria puede afectar la respuesta inmune adaptativa y con ello el control del proceso infeccioso.

Se han descrito dos elementos importantes en la infección por SARS-CoV-2 que son clínicamente relevantes, a saber, el incremento de neutrófilos con disminución de linfocitos circulantes y la hipocomplementemia (De Sanctis y col., 2021). La hipocomplementemia se debe a un proceso de estimulación directa a través de glicanos de las proteínas virales, de los anticuerpos producidos contra el virus, IgM e IgG, y por la activación de neutrófilos. La activación de los neutrófilos en el proceso infeccioso se produce por la detección de nucleótidos virales, restos celulares, por la replicación viral y por citocinas inflamatorias en el tejido blanco de la infección viral (De Sanctis y col., 2021). Ese proceso de hiperactivación redundante en la muerte de las células vía NETosis. La NETosis activa los receptores DAMP que a su vez puede inducir más muerte celular e incrementar la tormenta de citocinas (De Sanctis y col. 2021). El bloqueo de la vía del complemento reduce parcialmente el proceso inflamatorio mas no lo elimina. Es necesario la limpieza del detritus celular vía eferocitosis. Igualmente, es importante entender que los neutrófilos reclutados en la inflamación pulmonar pueden verse afectados por la presencia de virus o pueden ser activados por complejos

antígeno anticuerpo vía receptor Fc de la inmunoglobulina (De Sanctis y col., 2021). En este proceso juegan un papel fundamental los receptores CD32A/B y CD16. Como se detalló anteriormente, en el cuadro inflamatorio en el parénquima pulmonar se observa un número elevado de NETosis aunado a la pérdida de estructuras tisulares que conllevan a la reducción marcada de alvéolos pulmonares y por ende generando insuficiencia respiratoria. El proceso además afecta el transporte de electrolitos, sodio y potasio que repercuten en el intercambio hídrico tisular. La reparación tisular no ocurre y por tanto la capacidad de recuperación alveolar es baja.

La respuesta de anticuerpos con capacidad neutralizante es importante en la protección de la infección viral; sin embargo, este proceso no necesariamente involucra una memoria prolongada o una eficiente eliminación viral (De Sanctis y col., 2021). Para ello es necesario la incorporación de células CD8+, NK, NKT, células T de mucosas (MAIT), linfocitos de respuesta innata (ILC), y células T γ δ . El proceso de activación celular de linfocitos T citotóxicos es independiente de CD4+.

PRESENTACIÓN ANTIGÉNICA Y ESTIMULACIÓN LINFOCITARIA

La presentación antigénica en el proceso de infección viral se ha estudiado mayoritariamente en el término de secuencias peptídicas de proteínas virales y su contrapartida en las proteínas del sistema mayor de histocompatibilidad (Sánchez-Mazas, 2020; De Sanctis y col., 2021; Tavasolian y col., 2021). Los estudios indican que hay una predisposición genética al reconocimiento viral. El alelo HLA-B * 46: 01 está relacionado a la menor probabilidad de unir proteínas virales

mientras que los alelos HLA-B * 15: 03 y HLA A 02*01 están asociados con una alta probabilidad de unión a la proteína S. Los alelos HLA-B*07:03 (clase I), DRB1*03:01, y DRB1 *12:02 (clase II) se han asociado a susceptibilidad (Sánchez-Mazas, 2020; De Sanctis y col., 2021; Tavasolian y col., 2021). Estos resultados sugieren que varios haplotipos de HLA están asociados con la susceptibilidad de diferentes enfermedades (Sánchez-Mazas, 2020; De Sanctis y col., 2021; Tavasolian y col., 2021). Con base en la incidencia de infecciones y muerte por SARS-CoV-2 en África, Iesa y col. (2020) encontraron regiones inmunodominantes comunes de *Plasmodium falciparum*, lo que explica las tasas de infección más bajas. Aunque las células CD8+ podrían ser responsables de la respuesta inmune protectora postulada, los anticuerpos que reaccionan de forma cruzada contra epítomos similares de ambos patógenos deben analizarse cuidadosamente.

Leite y col. (2021) en un análisis realizado en 98 países lograron demostrar una asociación de polimorfismos de las citocinas IL-6, IL1-0 e IL-12B con infección y severidad y el alelo HLA B* 13: 01 como un alelo protector. Lo importante de este trabajo es destacar que es poco probable encontrar una asociación directa de HLA con la respuesta directa con SARS-CoV-2. En la población venezolana, esencialmente mestiza con características particulares, distintas a algunas poblaciones latinoamericanas (Del Pilar Fortes y col., 2012), el impacto de estudios es no es significativo.

RESPUESTA LINFOCITARIA

García (2020), en una revisión, describió la diferencia entre la inmunidad protectora y la desregulación inmunitaria en pacientes

infectados SARS-CoV-2. En pacientes graves, la expresión de marcadores de agotamiento o marcadores inhibidores es significativa, lo que sugiere que las células circulantes CD8+ no responden o son anérgicas (García, 2020). Por ello, la activación de células CD8+ específicas contra el virus puede ser esencial para disminuir la carga viral. Vibholm y col. (2021) demostraron que la persistencia del virus SARS-CoV-2 dependía de las respuestas de los linfocitos CD8+. En ausencia de la respuesta antiviral de los linfocitos CD8+, las células de la inmunidad innata de origen linfoide pueden compensar esta deficiencia (Sánchez-Mazas, 2020; Kikkert, 2020; Taefehshokr y col., 2020). Las células NK y NKT también contribuyen a este fenómeno (Maucourant y col., 2020; Björkström y Potenza, 2021).

En pacientes con infección grave, la producción de IFN γ por las células T CD4+ es menor que los controles (Li y col., 2020; Udomsinprasert y col., 2020), y el número de linfocitos B circulantes es deficiente. Wang y col. (2020) lograron demostrar que una disminución significativa de células T CD8+ y células B circulantes está asociado a una menor tasa de recuperación o peor pronóstico. Por otro lado, Liu y col. (2020) detectaron anticuerpos potentes y neutralizantes contra múltiples epítomos en pacientes convalecientes; sin embargo, dichos epítomos no concuerdan con el papel de CD8+ en la eliminación viral. Es evidente, como se demostró en nuestro laboratorio (Mayora y col., 2020), que la disminución de células T de memoria circulante está asociada a una menor respuesta antiviral y por ello a un mayor riesgo de enfermedad severa.

Haciendo un análisis del genoma y proteínas virales, Ferretti y col. (2020) lograron identificar antígenos específicos

reconocidos por los linfocitos CD8+ de memoria contra el virus. Se usaron los 6 alelos HLA clase I más prevalentes en la población. Llamativamente, de los 29 epítopes virales reconocidos, solo 3 se ubicaron en la proteína S. Los otros epítomos se ubicaron en el ORF1ab o en la proteína nucleocápside (Ferretti y col., 2020). Se ha demostrado además que esta respuesta es inferior en sujetos de la tercera edad (Gallerani y col., 2021). Por ello, en muchos estudios realizados al inicio de la pandemia con péptidos únicamente contra proteína S, la respuesta de memoria CD8+ fue considerada erróneamente baja. Como se demuestra en la figura 1 y se describió en el texto, la proteína N está conservada a diferencia de la S. El análisis actual del proceso de memoria CD8+ sugiere que, a pesar de que las vacunas usadas actualmente pueden generar una respuesta CD8+ contra proteína S, los nuevos constructos virales deberán contener proteína N además de algunos epítomos de ORF1 para generar una respuesta antiviral más específica por un mayor tiempo. Adam y col. (2021), analizando células de pacientes recuperados y fallecidos detectaron frecuencias aumentadas de células T de memoria polifuncionales, CD4+ CXCR5 + HLA-DR + y proporciones disminuidas de células T de memoria efectoras (TEM) que expresan Granzima-B y Perforina. La mayor abundancia de células efectoras T CD8 + PD-L1 + CXCR3 + polifuncionales, CXCR5 + HLA-DR + TSCM, así como células T productoras de citocinas antinucleocápside permitió diferenciar la respuesta celular entre pacientes recuperados y fallecidos. La escasez de células CD8+ específicas contra nucleocápside predice con precisión el desenlace de la enfermedad mortal (Adam y col., 2021).

Grifoni y col. (2021) han hecho un mapa de antígenos virales y epítomos de interés que compaginan la importancia de la presentación antigénica con la respuesta de memoria generando una matriz de interés para predecir respuestas en poblaciones y asociación con diferentes productos virales.

Varios estudios han analizado la posibilidad de una respuesta inmunitaria protectora antes de la infección por SARS-CoV-2 (Lee y col., 2020; Reche, 2020; Schulien y col., 2021). Se documentaron respuestas de células T de memoria contra otros coronavirus, que fueron capaces de inhibir la infección por el SARS-CoV-2 in vitro (Lee y col., 2020; Reche, 2020; Schulien y col., 2021). Esta respuesta protectora celular se presume que está presente en niños expuestos a otros coronavirus. Eventualmente, puede ocurrir la generación de células de memoria y anticuerpos protectores por inmunización contra otros virus (Lee y col., 2020; Reche, 2020; Schulien y col., 2021). El mecanismo de protección puede depender de epítomos similares presentados por células de la inmunidad innata. Se ha documentado que la vacuna BCG (Marín-Hernández y col., 2021) podría generar una respuesta antiviral indirecta por la activación de células linfoides innatas (T γ δ , NKT, ILC). Estas células innatas podrían compensar la respuesta CD8+ antiviral.

Cuando se generan anticuerpos neutralizantes contra la proteína S de SARS-CoV-2 éstos pueden inhibir la infección por SARS-CoV-1 y por los beta-coronavirus comunes (Cohen y col., 2021, a,b). Se ha demostrado la persistencia de las células B de memoria IgG + específicas de la espiga, lo que es un buen augurio para una respuesta rápida de anticuerpos tras la reexposición al virus o la vacunación (Cohen y col.,

2021, a,b). Además, se demostró que las células T CD4+ y CD8+ específicas contra el virus son polifuncionales y se mantienen después de 200 días, aunque en bajo dintel (Cohen y col., 2021, a,b). Es importante recordar que las respuestas virales de las células T CD4+ están dirigidas contra varias proteínas del SARS-CoV-2, mientras que las respuestas de las células T CD8+ se dirigen preferentemente a la nucleoproteína, lo que destaca la importancia potencial de incluir la nucleoproteína en futuras vacunas.

ESTUDIOS DE LA RESPUESTA INMUNE CELULAR Y REPERCUSIONES EN LA CLÍNICA

Uno de los criterios que está siendo implementado para analizar la respuesta inmune y el riesgo de severidad en caso de infección es la respuesta *in vitro* ante péptidos virales o virus inactivado. Como se ha expuesto anteriormente, la respuesta inmune contra el virus no solo depende de la proteína S viral sino de la proteína N y algunas de las proteínas ORF como ORF1.

Los estudios celulares *in vitro* son más específicos que la detección de anticuerpos neutralizantes. En un número importante de pacientes post COVID-19 o post vacunación, independientemente de la vacuna usada, los anticuerpos pueden disminuir luego de los tres meses de la exposición (Cohen y col., 2021, a,b; Goletti y col., 2021). La presencia o no de anticuerpos no se relaciona con memoria inmunológica. La memoria inmunológica más importante para analizar es la memoria celular. La suma de la detección de anticuerpos y respuesta de memoria celular debe ser utilizada como base para la conducta terapéutica en todos los pacientes con riesgo.

En la figura 2, se describen los resultados de un modelo matemático realizado en

nuestro laboratorio basado en la suma de trabajos publicados y de nuestra experiencia. Se puede observar claramente, que la respuesta inmune celular adaptativa en individuos vacunados y en aquellos post-infección viral leve o moderada, no severa, varía con el tiempo. De hecho, en los respondedores estudiados en el laboratorio, se ha logrado identificar dos claras poblaciones. Una de ellas que tiene una respuesta CD8+ antiviral como elemento preponderante y otro grupo cuyos niveles de CD8+ antivirales no son muy altos, pero se compensan con un incremento de la respuesta antiviral de células NK y NKT. Ésta respuestas se mantienen a lo largo del tiempo. Actualmente, estamos estudiando la posibilidad de que se genere una memoria de células NK y células NKT contra el virus. Esta posibilidad ha sido parcialmente planteada por diversos autores (Goletti y col., 2021; Zuo y Zhao, 2021; Orumaa y Dunne, 2021). La respuesta CD8+ por vacunas ha sido publicada recientemente (Oberhardt y col., 2021; Sadarangani y col., 2021).

En la figura 2 se describe la respuesta de memoria de linfocitos T, B y la participación de células NK y NKT en el proceso de eliminación viral. En la parte superior se puede observar la respuesta inmune protectora y eficiente contra el virus inducido por la infección viral *per se* o vacunación mientras que la inferior se visualiza la respuesta en individuos post respondedores. En el modelo no se usó la respuesta celular documentada de pacientes con COVID-19 severo y pacientes fallecidos. El punto que destacar en la figura 2 es la diferencia en la cinética de la respuesta. La baja respuesta celular de memoria luego de la fase inicial predice la respuesta ante la infección. En la parte inferior, se representan mayoritariamente personas de la tercera edad, los pacientes

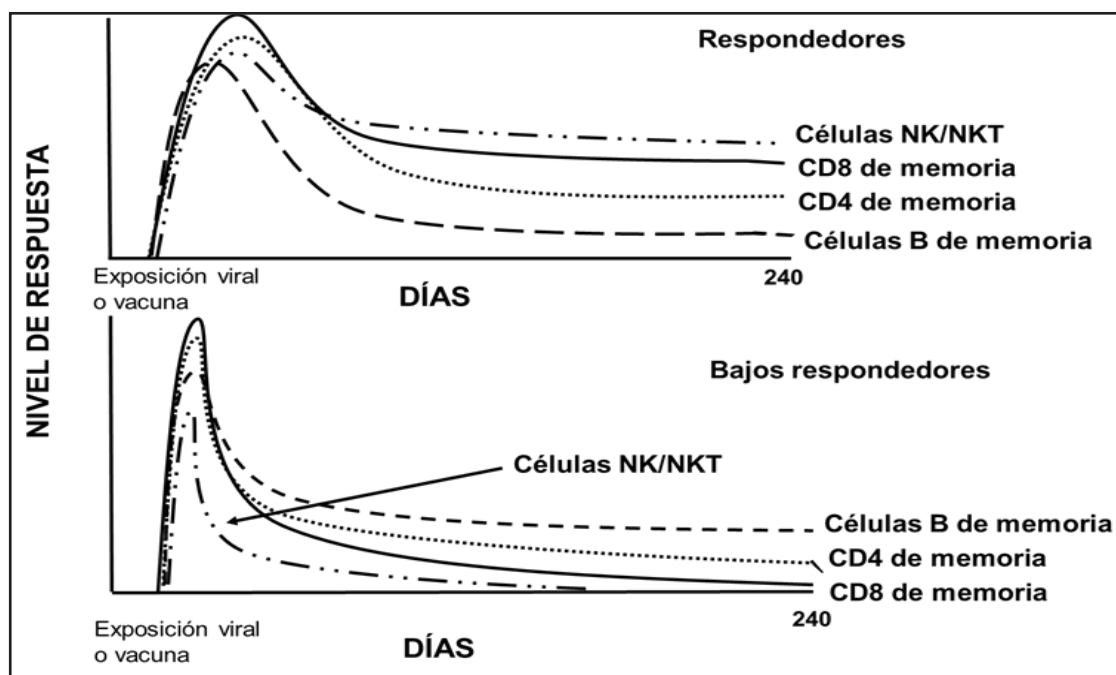


Figura 2. Modelo diferencial de respuesta inmune en respondedores y bajos respondedores. La figura muestra el modelo matemático de los análisis de diferentes resultados de estudios hechos *in vitro* usando proteínas virales o virus inactivado. El modelo ayuda a predecir la respuesta celular contra el virus en el tiempo. El análisis plantea una diferencia de cinética de la respuesta de memoria y de células NK/NKT.

inmunocomprometidos y los pacientes inmunodeficientes. En esos grupos, hay dos elementos a resaltar uno la disminución de anticuerpos antivirales específicos, no ilustrada en la gráfica, aunado con una disminución en la respuesta *in vitro* antiviral de linfocitos T CD4+ y T CD8+. A diferencia de lo expuesto anteriormente, la respuesta de NK y NKT contra el virus se pierde con el tiempo y no es capaz de compensar la baja respuesta de los linfocitos CD8+. Se desconoce con exactitud la importancia de las células NK y NKT en el fenómeno, pero se plantea el paradigma de una baja síntesis y secreción de IFN tipo I y de posibles inmunodeficiencias de proteína de respuesta antiviral vía linfocitos CD8+. En pacientes de la tercera edad y trasplantados o inmunocomprometidos se ha planteado como hipótesis exposición a citomegalovirus (Poloni y col., 2021; Niitsu

y col., 2021). Es importante destacar que pacientes con infección por citomegalovirus tiene baja expresión y respuesta celular ante antígenos comunes y la ausencia de esta respuesta puede facilitar la infección por SARS-CoV-2 (Poloni y col., 2021; Niitsu y col., 2021). Los pacientes que cursan con enfermedad viral severa normalmente están coinfectados con otros patógenos.

La respuesta inmune celular en pacientes pediátricos ha sido objeto de pocos estudios en los cuales se ha observado una variabilidad en la respuesta (Cotugno y col., 2021). Cohen y col. (2021, a,b), encontraron que los niños infectados con el SARS-CoV-2 tenían respuestas de linfocitos T CD4+ y CD8+ significativamente más bajas a las proteínas estructurales y ORF1ab en comparación con los adultos infectados. Esto puede

reflejar una compartimentalización diferente de las células T para el procesamiento de antígenos durante la exposición o un menor reclutamiento de poblaciones de memoria. En comparación con los adultos, los niños tenían niveles significativamente más bajos de anticuerpos contra los coronavirus β , lo que indica una inmunidad inicial diferente. Las respuestas foliculares auxiliares T totales aumentaron en los niños durante la infección aguda, lo que indica una rápida coordinación de las respuestas de las células T y B. Sin embargo, las respuestas totales de los monocitos se redujeron en los niños, lo que puede ser un reflejo de los diferentes niveles de inflamación entre niños y adultos. Por lo tanto, la reducción de la inmunidad previa al coronavirus β y la activación y el reclutamiento reducidos de respuestas de novo en los niños pueden conducir a una patogenia más leve de la COVID-19 (Cohen y col., 2021, a,b).

En el caso de mujeres embarazadas la respuesta inmune celular de células NK y de células T de memoria CD8+ son críticas en la generación de la eliminación viral (Chen y col., 2021). El ambiente tolerogénico del embarazo protege a la embarazada de la tormenta de citocinas (Garmendia y De Sanctis, 2021); sin embargo, a nivel placentario se pudieran desencadenar eventos que conlleven a la activación de una respuesta local que sea deletérea para el feto.

Es importante de determinar poblaciones celulares de memoria en los pacientes con alto riesgo, los ensayos celulares son sencillos de realizar en un laboratorio especializado. La interpretación de los resultados puede ser crucial a la hora de una decisión terapéutica, cambio de esquema de vacunación e inclusive predecir la severidad de un paciente con infección activa. Además,

el análisis puede ser beneficioso para los pacientes con el síndrome post COVID-19 en la cual la activación de linfocitos T se mantiene a pesar de la ausencia de pruebas nucleotídicas positivas contra el virus (Steiner y col., 2021).

Conclusiones

La respuesta inmune efectiva contra SARS-CoV-2 requiere una respuesta adaptativa eficiente de memoria. La producción de anticuerpos no es directamente proporcional a una memoria inmunológica. La respuesta CD8+ es más específica y eficiente contra el virus. A la par, las células NK y NKT pueden contribuir en el proceso de eliminación viral. En personas de la tercera edad o inmunodeficientes primarias o secundarias, la respuesta celular puede estar comprometida. Por ello, los estudios de memoria celular in vitro son claves para definir el riesgo de respuesta ante la infección viral y pueden ser esenciales en la decisión de esquemas terapéuticos y de vacunación. Las coinfecciones con citomegalovirus, influenza y otros virus debe ser estudiada con detalle en personas de la tercera edad, inmunocomprometidos y con comorbilidades. A pesar de que el fin de la pandemia pudiera estar cerca, es necesario diseñar estrategias más eficientes que nos permitan definir un mejor manejo terapéutico del paciente y nos ayuden generar estrategias de estudio para posibles infecciones contra otros agentes patógenos en el futuro.

Financiamiento

El estudio es financiado por 1) el Proyecto multicéntrico del Ministerio de Innovación de República Checa número FW03010472 titulado Estudio de la eficacia de vacunas experimentales frente a SARS-

COVID-2 en modelos animales (JBDS), 2) por el Programa de Fondos Estructurales y Operativos de Inversión Investigación de la Comunidad Europea titulada: Enfoque molecular, celular y clínico del envejecimiento saludable, subvención ENOCH; Número de registro: CZ.02.1.01 / 0.0 / 0.0 / 16_019 / 0000868 (JBDS), 3) Proyecto Financiado por el FONACIT actas números 20, 21 y 23 de 2020, otorgado al Instituto de Inmunología de la Universidad Central de Venezuela (AG).

Referencias bibliográficas

- Adam L, Rosenbaum P, Quentric P, Parizot C, Bonduelle O, Guillou N, Corneau A, Dorgham K, Miyara M, Luyt CE, Guihot A, Gorochoy G, Combadière C, Combadière B. 2021. Nucleocapsid-specific and PD-L1+CXCR3+ CD8+ polyfunctional T-cell abundances are associated with survival of critical SARS-CoV2-infected patients. *JCI Insight* 20:151571.
- Artika IM, Dewantari AK, Wiyatno A. 2020. Molecular biology of coronaviruses: current knowledge. *Heliyon* 6(8): e04743.
- Battle D, Wysocki J, Satchell K. 2020. Soluble angiotensin-converting enzyme 2: a potential approach for coronavirus infection therapy? *Clin Sci (Lond)* 134(5):543–545.
- Björkström NK, Ponzetta A. 2021. Natural killer cells and unconventional T cells in COVID-19. *Curr Opin Virol* 49:176–182.
- Chen G, Liao Q, Ai J, Yang B, Bai H, Chen J, Liu F, Cao Y, Liu H, Li K. 2021. Immune Response to COVID-19 During Pregnancy. *Front Immunol* 12:675476.
- Chen Y, Liu Q, Guo D. 2020. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 92(4):418–423.
- Cohen CA, Li APY, Hachim A, Hui DSC, Kwan MYW, Tsang OTY, Chiu SS, Chan WH, Yau YS, Kaviani N, Ma FNL, Lau EHY, Cheng SMS, Poon LLM, Peiris M, Valkenburg SA. 2021a. SARS-CoV-2 specific T cell responses are lower in children and increase with age and time after infection. *Nat Commun* 12(1):4678.
- Cohen KW, Linderman SL, Moodie Z, Czartoski J, Lai L, Mantus G, Norwood C, Nyhoff LE, Edara VV, Floyd K, De Rosa SC, Ahmed H, Whaley R, Patel SN, Prigmore B, Lemos MP, Davis CW, Furth S, O'Keefe JB, Gharpure MP, Gunisetty S, Stephens K, Antia R, Zarnitsyna VI, Stephens DS, Edupuganti S, Roupheal N, Anderson EJ, Mehta AK, Wrammert J, Suthar MS, Ahmed R, McElrath MJ. 2021b. Longitudinal analysis shows durable and broad immune memory after SARS-CoV-2 infection with persisting antibody responses and memory B and T cells. *Cell Rep Med* 2(7):100354.
- Cotugno N, Ruggiero A, Pascucci GR, Bonfante F, Petrara MR, Pighi C, Cifaldi L, Zangari P, Bernardi S, Cursi L, Santilli V, Manno EC, Amodio D, Linardos G, Piccioni L, Barbieri MA, Perrotta D, Campana A, Donà D, Giaquinto C; CACTUS Study Team, Concato C, Brodin P, Rossi P, De Rossi A, Palma P. 2021. Virological and immunological features of SARS-CoV-2 infected children with distinct symptomatology. *Pediatr Allergy Immunol* 10.1111/pai.13585.
- Del Pilar Fortes M, Gill G, Paredes ME, Gamez LE, Palacios M, Blanca I, Tassinari P. 2012. Allele and haplotype frequencies at human leukocyte antigen class I and II genes in Venezuela's population. *Ann Biol Clin (Paris)* 70(2):175–81.
- De Sanctis JB, García AH, Moreno D, Hajduch M. 2021. Coronavirus infection: An immunologists' perspective. *Scand J Immunol* 93(6): e13043.
- Ferretti AP, Kula T, Wang Y, Nguyen DMV, Weinheimer A, Dunlap GS, Xu Q, Nabils N, Perullo CR, Cristofaro AW, Whitton HJ, Virbasius A, Olivier KJ Jr, Buckner LR, Alistar AT, Whitman ED, Bertino SA, Chattopadhyay S, MacBeath G. 2020. Unbiased screens show CD8+ T cells of COVID-19 patients recognize shared epitopes in SARS-CoV-2 that largely reside outside the spike protein. *Immunity* 53(5):1095–1107.e3.
- Gallerani E, Proietto D, Dallan B, Campagnaro M, Pacifico S, Albanese V, Marzola E, Marconi P, Caputo A, Appay V, Gavioli R, Nicoli F. 2021. Impaired priming of SARS-CoV-2-specific naive CD8+ T cells in older subjects. *Front Immunol* 12:693054.
- García LF. 2020. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol* 11:1441.
- Garmendia JV, De Sanctis JB. 2021. A Brief Analysis of Tissue-Resident NK Cells in Pregnancy and Endometrial Diseases: The Importance of

- Pharmacologic Modulation. *Immuno* 1:174–193.
- Goletti D, Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, Sette A, Nikolayevskyy V. 2021. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. *Clin Microbiol Infect* S1198-743X (21)00378–5.
- Gralinski LE, Baric RS. 2015. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J Pathol* 235:185–195.
- Grifoni A, Sidney J, Vita R, Peters B, Crotty S, Weiskopf D, Sette A. 2021. SARS-CoV-2 human T cell epitopes: Adaptive immune response against COVID-19. *Cell Host Microbe* 29(7):1076–1092.
- Iesa MAM, Osman MEM, Hassan MA, Dirar AI, Abuzeid N, Mancuso JJ, Pandey R, Mohammed AA, Borad MJ, Babiker HM, Konozy EH. 2020. SARS-CoV-2 and Plasmodium falciparum common immunodominant regions may explain low COVID-19 incidence in the malaria-endemic belt. *New Microbes New Infect* 38:100817.
- Kikkert M. 2020. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses. *J Innate Immun* 12(1):4–20.
- Krainer J, Siebenhandl S, Weinhäusel A. 2020. Systemic autoinflammatory diseases. *J Autoimmun* 109:102421.
- Lara PC, Macías-Verde D, Burgos-Burgos J. 2020. Age-induced NLRP3 inflammasome over-activation increases lethality of SARS-CoV-2 pneumonia in elderly patients. *Aging Dis* 11(4):756–762.
- Lee CH, Pinho MP, Buckley PR, Woodhouse IB, Ogg G, Simmons A, Napolitani G, Koohy H. 2020. Potential CD8+ T cell cross-reactivity against SARS-CoV-2 conferred by other coronavirus strains. *Front Immunol* 11:579480.
- Leite MM, Gonzalez-Galarza FF, Silva BCCD, Middleton D, Santos EJMD. 2021. Predictive immunogenetic markers in COVID-19. *Hum Immunol* S0198-8859(21)00015–X.
- Li M, Guo W, Dong Y, Wang X, Dai D, Liu X, Wu Y, Li M, Zhang W, Zhou H, Zhang Z, Lin L, Kang Z, Yu T, Tian C, Qin R, Gui Y, Jiang F, Fan H, Heissmeyer V, Sarapultsev A, Wang L, Luo S, Hu D. 2020. Elevated exhaustion levels of NK and CD8+ T cells as indicators for progression and prognosis of COVID-19 disease. *Front Immunol* 11:580237.
- Liu L, Wang P, Nair MS, Yu J, Rapp M, Wang Q, Luo Y, Chan JF, Sahi V, Figueroa A, Guo XV, Cerutti G, Bimela J, Gorman J, Zhou T, Chen Z, Yuen KY, Kwong PD, Sodroski JG, Yin MT, Sheng Z, Huang Y, Shapiro L, Ho DD. 2020. Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. *Nature* 584(7821):450–456.
- Marín-Hernández D, Nixon DF, Hupert N. 2021. Anticipated reduction in COVID-19 mortality due to population-wide BCG vaccination: evidence from Germany. *Hum Vaccin Immunother* 5:1–3.
- Mason RJ. 2020. Thoughts on the alveolar phase of COVID-19. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 319(1): L115–L120.
- Maucourant C, Filipovic I, Ponzetta A, Aleman S, Cornillet M, Hertwig L, Strunz B, Lentini A, Reinius B, Brownlie D, Cuapio A, Ask EH, Hull RM, Haroun-Izquierdo A, Schaffer M, Klingström J, Folkesson E, Buggert M, Sandberg JK, Eriksson LI, Rooyackers O, Ljunggren HG, Malmberg KJ, Michaëlsson J, Marquardt N, Hammer Q, Strålin K, Björkström NK. Karolinska COVID-19 Study Group. 2020. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Sci Immunol* 5(50): eabd6832.
- Mayora S, Zabaleta-Lanz M, Martínez W, Toro F, De Sanctis JB, García A. 2020. Lymphocyte subpopulations in Venezuelan patients infected with SARS-CoV-2. *Gac Méd Car* 128(Supl 1): S74–S78.
- Meftahi GH, Jangravi Z, Sahraei H, Bahari Z. 2020. The possible pathophysiology mechanism of cytokine storm in elderly adults with COVID-19 infection: the contribution of “inflamm-aging”. *Inflamm Res* 69(9):825–839.
- Morelli F, Meirelles LEF, de Souza MVF, Mari NL, Mesquita CSS, Dartibale CB, Damke GM, Damke E, da Silva VRS, Souza RP, Consolaro ME. 2021. COVID-19 infection in the human reproductive tract of men and nonpregnant women. *Am J Trop Med Hyg* 104(3):814–825.
- Mousavizadeh L, Ghasemi S. 2021. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect* 54(2):159–163.
- Niitsu T, Shiroyama T, Hirata H, Noda Y, Adachi Y, Enomoto T, Hara R, Amiya S, Uchiyama A, Takeda Y, Kumanogoh A. 2021. Cytomegalovirus infection in critically ill patients with COVID-19. *J Infect* 9: S0163-4453(21)00330–3.
- Oberhardt V, Luxenburger H, Kemming J, Schulien I, Ciminski K, Giese S, Csernalabics B, Lang-Meli J, Janowska I, Staniek J, Wild K, Basho K, Marinescu MS, Fuchs J, Topfstedt F, Janda A, Sogukpinar O, Hilger H, Stete K, Emmerich F,

- Bengsch B, Waller CF, Rieg S, Sagar, Boettler T, Zoldan K, Kochs G, Schwemmle M, Rizzi M, Thimme R, Neumann-Haefelin C, Hofmann M. 2021. Rapid and stable mobilization of CD8+ T cells by SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *Nature* 597(7875):268–273.
- Orumaa K, Dunne MR. 2021. The role of unconventional T cells in COVID-19. *Ir J Med Sci* 29:1–10.
- Poloni C, Szyf M, Cheishvili D, Tsoukas CM. 2021. ¿Are the healthy vulnerable? Cytomegalovirus seropositivity in healthy adults is associated with accelerated epigenetic age and immune-dysregulation. *J Infect Dis* 13: jiab365.
- Reche PA. 2020. Potential cross-reactive immunity to SARS-CoV-2 from common human pathogens and vaccines. *Front Immunol* 11:586984.
- Sadarangani M, Marchant A, Kollmann TR. 2021. Immunological mechanisms of vaccine-induced protection against COVID-19 in humans. *Nat Rev Immunol* 21(8):475–484.
- Sánchez-Mazas A. 2020- HLA studies in the context of coronavirus outbreaks. *Swiss Med Wkly* 150: w20248.
- Schulien I, Kemming J, Oberhardt V, Wild K, Seidel LM, Killmer S, Sagar, Daul F, Salvat Lago M, Decker A, Luxenburger H, Binder B, Bettinger D, Sogukpinar O, Rieg S, Panning M, Huzly D, Schwemmle M, Kochs G, Waller CF, Nieters A, Duerschmied D, Emmerich F, Mei HE, Schulz AR, Llewellyn-Lacey S, Price DA, Boettler T, Bengsch B, Thimme R, Hofmann M, Neumann-Haefelin C. 2021. Characterisation of pre-existing and induced SARS-CoV-2-specific CD8+ T cells. *Nat Med* 27(1):78–85.
- Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, Geng Q, Auerbach A, Li F. 2020. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* 581(7807):221–224.
- Steiner S, Schwarz T, Corman VM, Sotzny F, Bauer S, Drosten C, Volk HD, Scheibenbogen C, Hanitsch LG. 2021. Reactive T cells in convalescent COVID-19 patients with negative SARS-CoV-2 antibody serology. *Front Immunol* 12:687449.
- Taefehshokr N, Taefehshokr S, Hemmat N, Heit B. 2020. COVID-19: Perspectives on innate immune evasion. *Front Immunol* 11:580641.
- Tavasolian F, Rashidi M, Hatam GR, Jeddi M, Hosseini AZ, Mosawi SH, Abdollahi E, Inman RD. 2021. HLA, Immune response, and susceptibility to COVID-19. *Front Immunol* 11:601886.
- Udomsinprasert W, Jittikoon J, Sangroongruangsi S, Chaikledkaew U. 2020. Circulating levels of Interleukin-6 and Interleukin-10, but not Tumor Necrosis Factor-alpha, as potential biomarkers of severity and mortality for COVID-19: Systematic review with meta-analysis. *J Clin Immunol* 31:1–12.
- Vibholm LK, Nielsen SS, Pahus MH, Frattari GS, Olesen R, Andersen R, Monrad I, Andersen AH, Thomsen MM, Konrad CV, AndersenSD, Højten JF, Gunst JD, Østergaard L, Sjøgaard OS, Schleimann MH, Tolstrup M. 2021. SARS-CoV-2 persistence is associated with antigen-specific CD8+ T-cell responses. *EBioMedicine* 64:103230.
- Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. 2020. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike glycoprotein. *Cell* 181(2):281–292.
- Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, Song S, Ma Z, Mo P, Zhang Y. 2020. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis* 221(11):1762–1769.
- Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. 2020. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 367(6485):1444–1448.
- Ye Q, Wang B, Mao J. 2020. The pathogenesis and treatment of the Cytokine Storm in COVID-19. *J Infect* 80(6):607–613.
- Zhao C, Zhao W. 2020. NLRP3 Inflammasome-A Key Player in Antiviral Responses. *Front Immunol* 11:211.
- Zhou M, Zhang X, Qu J. 2020. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A clinical update. *Front Med* 14(2):126–135.
- Zuo W, Zhao X. 2021. Natural killer cells play an important role in virus infection control: Antiviral mechanism, subset expansion and clinical application. *Clin Immunol* 227:108727.

Recibido: 01/08/2021
Aceptado: 03/08/2021