



## **POBLACIONES LINFOCITARIAS. RELACIÓN CON LA DEFENSA ANTIVIRAL Y LA TERAPÉUTICA FRENTE A LA COVID 19**

**Autores:** Gabriela Millán Verdecia<sup>1</sup>, Bárbara de la Caridad Addine Ramírez<sup>2</sup>, Elizabeth Figueredo Mora<sup>3</sup>, Claudia Verdecia Rodríguez<sup>4</sup> Carlos, López Batista<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Estudiante de 2do año de Medicina. Alumno ayudante de Pediatría. Facultad de Ciencias Médicas de Bayamo, Granma. e-mail:gabymill@nauta.cu

<sup>2</sup>Especialista de primer grado en MGI y de primer y segundo grado en Inmunología, Departamento Ciencias Clínicas y Preclínicas, Facultad de Ciencias Médicas de Bayamo.

<sup>3</sup>Estudiante de 2do año de Medicina. Alumno ayudante de Cirugía. Facultad de Ciencias Médicas de Bayamo, Granma.

<sup>4</sup>Estudiante de 2do año de Medicina. Facultad de Ciencias Médicas de Bayamo, Granma.

<sup>5</sup>Estudiante de 2do año de Medicina. Alumno ayudante de Medicina Interna. Facultad de Ciencias Médicas de Bayamo, Granma.

### **Resumen**

**Introducción:** Los linfocitos son las células que reconocen los antígenos extraños de manera específica y responden contra ellos con diversidad funcional. Existen distintas subpoblaciones que difieren en el reconocimiento antigénico y en sus funciones.

**Objetivo:** Describir el papel que juegan los las poblaciones linfocitarias en el sistema inmune estableciendo su función en la defensa antiviral y en la terapéutica

protocolizada en Cuba frente a la COVID19. **Materiales y métodos:** Se realizó una revisión bibliográfica empleándose 31 artículos (93 % últimos 5 años), 19 en inglés y 12 en español .

**Resultados:** la literatura revisada reportó predominio de los ensayos clínicos y reportes cortos (68,56 %), y 3 protocolos de manejo de la COVID 19 incluyendo el de Cuba. La mayor parte de la bibliografía trató la inmunología básica y su relación con la evolución y tratamiento de la referida virosis.

**Conclusiones:** los linfocitos son heterogéneos con respecto a su fenotipo, funcionalidad y morfología, requieren acción coordinada y su clasificación implica diferencias en el diagnóstico y evolución de las enfermedades. Su funcionalidad y número están implicadas en la evolución de la COVID 19 y sirven de base a terapias ensayadas como hidroxiquina, Hebertrans, Biomodulina T, suero hiperinmune y el CIGB 2020.

**Palabras clave:** Poblaciones linfocitarias, COVID 19, hebertrans, Biomodulina T.

**Introducción**

La función de los linfocitos como mediadores en la inmunidad adaptativa se estableció mediante varias líneas de evidencias durante décadas de investigación. Uno de los primeros indicios vino de la observación de que los seres humanos con estados de inmunodeficiencia congénita y adquirida tenían un número reducido de linfocitos en la circulación periférica y en los tejidos linfáticos.<sup>1</sup>

Los primeros escritos donde se hace referencia y se estudia la célula linfocitaria aparecieron en 1901, Pappenheimer define el término de linfocito y hace referencia al conocimiento existente en esos momentos sobre dicha célula. Ya en la década de los



cuarenta se descubrió que el linfocito se diferenciaba morfológicamente de la célula plasmática, siendo señalado como posible productora de anticuerpos.<sup>1</sup>

Las repercusiones de los trabajos relacionados con los linfocitos en el siglo XX ayudaron a comprender mecanismos fisiológicos y patológicos, como prueba de ello se encuentran el papel desempeñado por los cultivos celulares linfoides y la producción de anticuerpos monoclonales. Quizás el tema de mayor actualidad e importancia la creación de linfocitos programados contra enfermedades cancerosas constituye hoy la base de la inmunoterapia personalizada.<sup>1</sup>

El desarrollo en el conocimiento de la célula linfoide estará siempre condicionado por los avances científicos y técnicos del momento. Los linfocitos constituyen el centro de la respuesta adaptativa antiviral. A finales de 2019 comenzó la pandemia de COVID 19 producida por el virus SARS-COV-2. Hoy las grandes esperanzas del mundo están sobre los hombros de la inmunología por un lado por el anhelo del logro de una vacuna y por otro la necesidad de terapéuticas que le permitan a la humanidad cierta disponibilidad de tiempo para llegar viva al momento de producción de la vacuna.<sup>2</sup>

El entendimiento de la relativa especificidad y la memoria de la inmunidad innata, entendida, esta última como un entrenamiento inmunológico con base epigenética de los linfocitos innatos, viene en nuestra ayuda. La manipulación del sistema inmune innato permite ir tratando al virus en lo que llega la vacuna para la estimulación inmune específica.<sup>3</sup>

Se discute acerca del papel de la tormenta de citoquinas y de la linfopenia en la evolución de los pacientes o del uso de plasma hiperinmune, Biomodulina T, Hebertrans, Hidroxicloroquina, BCG, entre otras terapias y casi todas se relacionan relación con el papel de los linfocitos T y B en la defensa antiviral.<sup>4</sup>

El conocimiento de estos temas se impone en la actualidad. A pesar de la amplia disponibilidad bibliográfica, se necesita facilitar la comprensión de temas de Inmunología que no siempre han estado al alcance de todos. Se considera pertinente la confección de un informe de fácil acceso y con bibliografía actualizada que permita el acercamiento al papel que juegan los linfocitos y las poblaciones linfocitarias en el sistema inmune y su aplicación en la comprensión de la evolución y el tratamiento de los pacientes con COVID 19. Aportaría además un arma interdisciplinaria que establece el papel de la asignatura Sangre y Sistema Inmune en la comprensión de la actual situación epidemiológica internacional y las bases inmunológicas de las terapéuticas empleadas y logradas en Cuba.

**Objetivo** Describir el papel que juegan las poblaciones linfocitarias en el sistema inmune estableciendo su rol en la defensa antiviral y en la terapéutica protocolizada en Cuba frente a la COVID19.

### **Materiales y métodos:**

Se realizó una revisión bibliográfica, empleando el repositorio de la COVID 19 de la Sociedad Cubana de Inmunología y otros artículos, a los que se accedió por el motor de búsqueda de Hinari, disponible en Infomed. Se emplearon 31 artículos, 19 en inglés y 12 en español. El 93 % de los últimos 5 años. Fueron considerados los artículos publicados en revistas revisadas por pares. Se incluyeron estudios,



publicados hasta abril del 2020, que incluyeran el papel de los linfocitos T en la defensa antiviral, en la evolución y tratamiento de la COVID 19.

La fase de elegibilidad comenzó al considerar el criterio de los revisores del sitio oficial de la Sociedad Cubana de Inmunología y además fue ejecutada por tres revisores, quienes analizaron los 31 artículos elegidos por su pertinencia con el objeto de estudio. En esta fase se hizo una valoración exhaustiva de cada uno de los estudios usando como estrategia de ayuda los criterios de evaluación de la calidad científica.

## Desarrollo

Los linfocitos son células blancas que se consideran unidades móviles del sistema protector del organismo, es decir el sistema inmunitario.<sup>5</sup> Cada ser humano posee entre  $10^{10}$  y  $10^{12}$  linfocitos diferentes, el repertorio de reconocimiento de antígenos es muy amplio, lo que brinda la capacidad de responder prácticamente a cualquier patógeno o sustancia extraña que penetre en el organismo. Los tipos de linfocitos varían según su origen y función en: linfocito B, linfocito T y NK (del inglés natural killer). Vega, en el artículo de Inmunología para el médico general plantea que el 75% de los que circulan son T y el mayor número de ellos corresponde a los T de ayuda (Th, CD4); el 25% restante corresponde a los linfocitos B y NK.<sup>6</sup>

El linfocito B adquiere las inmunoglobulinas (Ig) M y D que expresa en su superficie como marcadores de madurez y que funcionan como integrantes del receptor para el antígeno (BCR). En forma similar, el linfocito T adquiere, en el timo, sus moléculas de superficie CD4 o CD8 y su receptor para el antígeno (TCR), los BCR y TCR constituyen complejos moleculares de membrana de los linfocitos B y T respectivamente.<sup>6</sup>

## Poblaciones linfocitarias

Los linfocitos vírgenes al ser activados sus antígenos específicos, proliferan, lo que da lugar a la expansión clonal. A la vez que ocurre esta proliferación, los linfocitos estimulados por el antígeno se diferencian en células efectoras, cuya función es eliminar el antígeno. Parte de la progenie de linfocitos T y B estimulados por el antígeno pueden diferenciarse en células memoria de vida larga, cuya función es mediar respuestas rápidas y potenciadas frente a exposiciones posteriores a los antígenos.

Las células B son un tipo particular de linfocitos que también actúa como célula presentadora de antígeno (CPA), reconocen antígenos en los órganos linfoides secundarios, proliferan y se diferencian en células B de memoria y células plasmáticas secretoras de anticuerpos (Ac), lo que constituye su función fundamental. Un solo linfocito B puede, en una semana, dar lugar a hasta 5,000 células secretoras de anticuerpos, que producen más de 1012 moléculas de anticuerpo al día. Esta expansión enorme es necesaria para mantenerse a la altura de la rápida división de los microbios.<sup>7</sup>

La activación en los linfocitos B vírgenes depende en gran medida de las características de los antígenos (Ag) exógenos. Así los antígenos timoindependientes y los timodependientes activan a diferentes subpoblaciones de linfocitos B, los B-1 y los B-2. Los linfocitos B-1 se originan en la etapa prenatal, pertenecen al sistema inmune innato, responden de manera timoindependiente y reconocen antígenos no proteicos



(polisacáridos, lipopolisacáridos). Existen diversas opiniones en cuanto a la respuesta producida por este tipo de Ag pero los autores consideran que, generalmente, esta se compone de Ac de escasa afinidad y un repertorio de células de memoria bajo.

Los linfocitos B-2, convencionales o células B foliculares se generan en la etapa postnatal, son los linfocitos predominantes (95%). Se coincide con el criterio de Newman en su estudio de las células B foliculares (células B FO), el cual plantea que estas células pertenecen al sistema inmune adaptativo y son capaces de reconocer antígenos tanto solubles como en la superficie de estructuras (virus, bacterias, parásitos) <sup>8</sup>, sin embargo requieren de la cooperación de los linfocitos T (timodependientes) para convertirse en células efectoras capaces de producir anticuerpos de isotipos cambiados y de alta afinidad por el antígeno.

La producción y detección de anticuerpos específicos producidos por parte de un linfocito B en un organismo frente a un microorganismo patógeno quiere decir que el organismo en cuestión se puso en contacto con los antígenos del patógeno, esto se explica gracias a la especificidad de la respuesta inmune y permite el diagnóstico indirecto de enfermedades infecciosas como se hace al emplear las tiras rápidas en el diagnóstico de la COVID 19.<sup>9</sup>

Este fenómeno de la producción anticorpal por el linfocito B, tiene también aplicaciones terapéuticas. Si un paciente sufre un proceso infeccioso, en su circulación quedarán anticuerpos específicos frente al germen que causó la infección y por lo tanto se puede obtener de este individuo plasma rico en anticuerpos específicos para el patógeno. Su uso en otros enfermos constituye una inmunización pasiva y se abordará en otro acápite de la presente investigación relacionado a la terapia con suero hiperinmune en la COVID 19.<sup>10, 11</sup>

La activación de los linfocitos T vírgenes requiere el reconocimiento del antígeno presentado por las células dendríticas, una vez activados los T efectoras pueden responder a antígenos presentados por células diferentes (macrófagos y linfocitos B). Las principales poblaciones en las que se puede diferenciar el linfocito T son el TCD4+ o cooperador y el TCD8+ pero a su vez los TCD4+ pueden polarizar según las necesidades del organismo a otras subpoblaciones (ej :Th1 , Th2, Th3, Th 17, Th23, Treg y Th foliculares).<sup>9</sup>

En la investigación realizada por Cecilia Bonifaz sobre los linfocitos T colaboradores o helper concluye que estos tienen como función principal la secreción de citoquinas, por medio de las cuales estimula la producción de anticuerpos por las células B y las actividades microbicidas de los macrófagos, que constituyen los dos mecanismos principales para la eliminación de microorganismos extracelulares o que viven en vesículas fagocíticas.<sup>12</sup>. Los investigadores coinciden con este criterio y añaden que los linfocitos T helper tienen un papel fundamental en la inmunidad celular.

Los linfocitos TCD4+ constan de subgrupos de linfocitos efectoras que producen distintos grupos de citocinas, desencadenan reacciones muy diferentes y participan en la defensa del anfitrión contra diferentes microbios así como diferentes tipos de enfermedades inmunitarias. La diferenciación de cada subgrupo (Th1, Th2, Th17, Treg y TFH) la inducen los tipos de microbios que el subgrupo es más capaz de combatir. Algunos investigadores refieren que las células Treg no se incluyen dentro de las



poblaciones de linfocitos TCD4+ ,no obstante, los autores de esta revisión coinciden con el criterio de valorar a esta población dentro de los TCD4+.

La polarización del linfocito TCD4+ está influida por el tipo de patógeno y los patrones moleculares asociados a patógenos o daño que estos expresen, del tipo de receptor innato que lo reconoce, del tipo de célula dendrítica (CD) que lo presenta, del ambiente de citoquinas y señales coestimuladoras entre otras que se abordarán en el acápite de cooperación celular, pero en última instancia estas citoquinas actúan induciendo factores transcripcionales que llevan a la diferenciación del TCD4+ virgen a los distintos subset.

La comprensión del efecto de algunos medicamentos en la COVID 19 depende de conocer al menos estos factores transcripcionales y el balance que se establece entre los distintos tipo de linfocitos T colaboradores, por eso aunque parece detallista lo compartiremos en este acápite.

Normalmente existe un balance entre poblaciones Th1/Th2, Th1/ Th 17 y otras pero estas dos competen a esta revisión. Entiéndase que en la relación binomial entre estos patrones la relación es inversa. Los factores transcripcionales para cada población son: para Th1 -T-Bet , para Th2- GATA 3, para Th17-ROR $\gamma$ , para Treg-FoxP y para Thfol-Bcl 6.<sup>13</sup>

Los linfocitos TCD8+ contribuyen a la eliminación de varios microbios intracelulares (Ej:virus), son capaces de eliminar células tumorales y desempeñan funciones cruciales en el rechazo agudo de aloinjertos.<sup>9</sup>

Las poblaciones linfocitarias no se mantienen constantes ni en número ni en función a lo largo de la vida. Durante el envejecimiento ocurren importantes cambios en el sistema inmunitario. Estos cambios se denominan inmunosenescencia. Se observa la involución del timo, una disminución de la salida de linfocitos T a los órganos linfoides secundarios y del potencial replicativo, lo que implica una reducción de la capacidad para renovar las células madres. Existe un desequilibrio en el sistema inmune que se manifiesta por respuestas mayormente proinflamatorias de la inmunidad innata y alteración grave de la rama adaptativa.<sup>14</sup>

Dentro de los cambios críticos característicos de la inmunosenescencia se encuentran los relacionados con las células T. Se ha observado una disminución en el número de células vírgenes, el incremento en el número de células de memoria, que resulta en un aumento de la producción de citocinas y la acumulación de células efectoras disfuncionales activadas con un repertorio limitado.<sup>15</sup>

La respuesta inmune humoral disminuye durante el envejecimiento al ser comparada con las que se genera en individuos jóvenes, tanto cuantitativa como cualitativamente. Como consecuencia, los ancianos manifiestan respuesta disminuida ante la vacunación y pobre protección contra agentes infecciosos con los cuales no han tenido exposición anterior.<sup>16, 17</sup>



## **Papel de los linfocitos en la defensa antiviral**

Los virus pueden infectar y sobrevivir en una amplia variedad de células y no pueden destruirse si las células infectadas carecen de mecanismos microbicidas intrínsecos o si los virus están en el citosol donde son inaccesibles para estos mecanismos. En estas situaciones, la única forma de erradicar la infección establecida es matar a las células infectadas, sacar al virus de su hogar e incapacitarle para sobrevivir y replicarse. Esta función está mediada por los linfocitos T citotóxicos (CD8+) y los linfocitos NK, con la cooperación de otras células entre las que se destacan el linfocito Th1.<sup>18</sup>

Se coincide con el criterio de Erika Wissinger en su artículo Células TCD8+ donde expone que estos poseen tres mecanismos para eliminar células infectadas o malignas, que además son similares a la forma de matar del linfocito NK.<sup>19</sup>

El primer mecanismo es a través de la secreción de citocinas, como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , con efectos antitumorales y antimicrobianos.<sup>19</sup>

El papel del Interferón Ganma está claramente dilucidado, este estimula la proliferación y cambio a fenotipo maduro de las células dendríticas como presentadoras de antígenos. Estimula la proliferación, diferenciación hacia patrón Th1 y la activación y proliferación del T CD8+, además de la activación eficiente de los macrófagos provoca un aumento de la expresión de las moléculas del MHC que ayuda a la presentación antigénica y producción por el linfocito B de anticuerpos del isotipo IgG. Esta inmunoglobulina es neutralizante en sangre frente a virus y otras infecciones, activa al complemento, promueve inflamación y favorece los procesos de fagocitosis de la inmunidad innata.

Estudios demuestran que la estimulación de macrófagos y células dendríticas, sobre todo las CD plasmocitoides, contribuye a la producción de los interferones alfa y beta, mediadores innatos de la respuesta antiviral, muy difundidos actualmente como la base de las terapias con interferón alfa 2 beta recombinante. A este particular no nos referiremos en detalle pues en esta investigación se abordan fundamentalmente los mediadores celulares del linaje linfocitario. El papel del interferón ganma coincide en gran medida con las funciones del linfocito TH1 pues la citoquina nombrada es su principal mediador soluble. Se resalta, por la importancia de comprender el papel del linfocito Th1 en la respuesta antiviral.<sup>9</sup>

El segundo mecanismo del linfocito TCD8+ es la producción y liberación de gránulos citotóxicos, estos gránulos, que también aparecen en las células NK, contienen tres familias de proteínas, perforinas, serglicinas y granzimas. Las perforinas forman un poro en la membrana de la célula diana, similar al complejo de ataque a la membrana del complemento. Este poro permite que las granzimas entren en las células infectadas o malignas y allí constituir serín-proteasas que procesan las proteínas en el interior celular, son capaces de bloquear la producción de proteínas virales y, finalmente, provocar la apoptosis de la célula diana.<sup>19</sup>

El mecanismo de citotoxicidad mediado por el linfocito NK es esencialmente el mismo que el de los CTL CD 8+, pero en el curso de la infección vírica, los linfocitos NK se expanden y activan por la IL-12 y la IL-15, y matan a las células infectadas antes de que los CTL específicos frente al antígeno puedan activarse del todo. Los linfocitos NK también pueden ser importantes más tarde en el curso de la infección vírica, ya que



matan a las células infectadas que han escapado al ataque inmunitario mediado por los CTL al reducir la expresión de moléculas de la clase I del MHC.

Los CTL también usan un tercer mecanismo independiente de los gránulos para matar que está mediado por interacciones de moléculas de membrana situadas en el CTL y en las células diana. Tras la activación, los CTL expresan una proteína de membrana llamada ligando de Fas (FasL) que se une al receptor mortal Fas, que se expresa en muchos tipos celulares. Esta unión provoca que la molécula Fas de la superficie trimerice, iniciando así una cascada de señalización. Las moléculas implicadas en esta cascada promueven la activación de caspasas, lo que trae consigo la apoptosis de la célula.<sup>19</sup>

Esta respuesta linfocítica antiviral no comienza in situ en la inmunidad adaptativa si no que ocurre luego de que se desencadenan complejos mecanismos por el reconocimiento del microorganismo.<sup>9</sup> Se considera oportuno dejar claro, del modo más sencillo posible el eje integrado de respuesta inmune antiviral.

Los RRP que reconocen patrones moleculares asociados con patógenos (PAMP virales) se distribuyen en los diferentes compartimentos celulares: el citosol( gran mayoría de las células), los endosomas y membrana plasmática (ambos en las células del sistema inmunitario). Estos son: ARN sc, ARN ss U rich, ADN sc, ARN CpG, ARN dc, proteínas virales como la proteína F del sincitial respiratorio. Estos son ejemplos de sustancias comunes a varios virus reconocidas por los receptores de la inmunidad innata y que desencadenan el resto de la respuesta.

Los receptores innatos involucrados en el reconocimiento de sustancias virales son TLR4, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, TLR13, la mayoría ubicados intracelularmente por lo que su distribución diferencial contribuye a que reconozcan sustancias derivadas de microorganismos intracelulares como los virus. También otros como NOD (NLR), D-NLR, PLR y RIG-I (RLR) cuya expresión según Ai-Ping Yang y su equipo tiene papel diagnóstico y pronóstico en la infección por SARS-CoV-2.<sup>20</sup>

La unión ligando receptor desencadena una respuesta que se describen a continuación. ARN dc al unirse a TLR 3 es un potente activador de la síntesis de los interferones y de las células dendríticas plasmocitoides; ARN CpG Y ADN sc al unirse a TLR 7, 8, 9, producen respuesta de interferones.

La activación de estos TLR en las células dendríticas se asocian con la producción de IFN tipo 1 (IFN- $\alpha$  y  $\beta$ ) que desencadenan la producción de inmunoglobulinas específicas para el antígeno. Los IFN tipo 1 son, por ende, esenciales en la conexión entre la inmunidad innata y la adquirida y la regulación alterada puede asociarse con trastornos inmunológicos. En el hombre, las células dendríticas plasmocitoides en infecciones virales y frente a ADN CpG, producen preferentemente IFN-  $\alpha$ .

El reconocimiento de PAMPS y DAMPS asociados a virus por estos receptores innatos lleva a la secreción de interferones y de la citoquina IL 12. Los interferones realizan todas sus funciones y finalmente activan al linfocito TCD8+. La IL 12 es la citoquina polarizante para los linfocitos Th1. Se logra, entonces la proliferación y activación de mediadores celulares adaptativos: el linfocito T CD8+ y el Th CD4+ patrón Th1.



Los autores de esta revisión plantean que este eje manifiesta conceptos revolucionarios en la inmunología como la integración de la respuesta inmune innata y adaptativa, el redireccionamiento de la segunda por la primera, la especificidad relativa de la innata y bien robusta de la adquirida pues se aprecia como en respuesta a virus se genera una respuesta antiviral.

### **Linfocito T. Papel pronóstico en la evolución de la Covid 19**

A finales de 2019, se reportó en la República Popular China, un grupo de casos de neumonía de causa no identificada en ese momento, que posteriormente se reconocería como Síndrome Respiratorio Agudo Severo del Coronavirus 2 (SARS-CoV2). Esta entidad conocida de forma más común como enfermedad de coronavirus 2019 (COVID-19), suele presentarse con un cuadro clínico de fiebre, dificultad respiratoria y tos, hallazgos semiológicos relevantes para orientar el diagnóstico, los que, aparecen entre los días 2 a 14 después de la exposición al virus.<sup>21</sup>

Debido a la falta de medicamentos antivirales y vacunas específicos, el estado inmunitario propio se convierte en uno de los factores más importantes que afectan la progresión y el pronóstico de esta enfermedad. Datos de laboratorio clínico de pacientes han revelado que la mayoría de los casos de COVID-19 mostraron recuentos de linfocitos circulantes bajos significativos, especialmente pacientes graves ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).

Según diversos estudios publicados en The Lancet, el 85 por ciento de pacientes con Covid-19 grave tienen linfopenia. Además, la baja presencia de linfocitos es un signo de mal pronóstico en aquellos pacientes que la padecen.<sup>22</sup>

Recientemente fue publicado el artículo The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia, entre los objetivos de este estudio se encuentran: caracterizar el estado inmunitario entre los pacientes graves y no graves con neumonía por COVID-19 y detectar cambios dinámicos de los de linfocitos T en dichos pacientes.

Los resultados iniciales mostraron que el nivel de linfocitos T fue significativamente menor en pacientes con neumonía por COVID-19 en el grupo grave. Se realizó una investigación más a fondo tomando un grupo de pacientes graves pero divididos en dos subconjuntos: mejorado y muerto.

Los resultados de los cambios dinámicos de los de linfocitos confirmaron aún más la correlación entre los niveles de linfocitos T con la gravedad de la neumonía por COVID-19. En el subgrupo de mejora de pacientes graves, el valor de los linfocitos T comenzó a aumentar después de un tratamiento hasta que finalmente regresó al nivel normal. En contraste, el nivel de linfocitos T en el subgrupo muerto de pacientes graves continuó disminuyendo hasta la muerte.<sup>23</sup>

Se considera entonces que el nivel de linfocitos T puede ser usado como un indicador para predecir la severidad y el pronóstico de pacientes con neumonía por Covid 19.

Otro estudio plantea que la linfopenia podría ser útil como biomarcador. Tal y como enuncia el estudio, "el reconocimiento temprano de este fenotipo inmunológico sería útil para ayudar a identificar rápidamente a los pacientes severos".



Se plantean cuatro mecanismos por los que el SARS-Cov-2 produce linfopenia. El primero se refiere a la infección directa de los linfocitos que expresan el receptor para el coronavirus ACE2 y su muerte. Otro mecanismo planteado es la destrucción directa de los órganos linfoides como el timo y el bazo, produciéndose disminución o disfunción linfocitaria. Por otra parte las citoquinas proinflamatorias TNF $\alpha$  y la IL-6 provocan apoptosis linfocitaria. Por último se invocan la inhibición linfocitaria por moléculas que se derivan de los trastornos metabólicos, por ejemplo en la acidosis láctica.<sup>24</sup>

En opinión de los autores, es cierto que debe transcurrir el tiempo para acumular evidencias anatopatológicas de las necropsias para confirmar el segundo mecanismo planteado por Lin Tan y su equipo. También se considera que la inducción de apoptosis por el TNF alfa ocurriría en el caso de secreciones muy elevadas como sucede al ocurrir tormenta de citoquinas, pero no en las fases iniciales de la enfermedad.

### **Bases inmunológicas de las terapéuticas empleadas en Cuba.**

En este acápite se pretende, tomando como base explicaciones de inmunología básica previas, esbozar el fundamento del uso de algunos de los medicamentos que forman parte en Cuba y el mundo del tratamiento o prevención de la COVID 19.

La inmunidad innata, la primera línea de defensa contra las infecciones, juega un papel fundamental en el curso de la Covid-19. Sin embargo, hay pacientes en los que el virus escapa a este mecanismo. Cuando ocurre así, el SARS-CoV-2 produce muchas partículas virales y desencadena una enfermedad pulmonar. En las personas que tienen enfermedades crónicas se genera una reacción hiperinflamatoria que conduce a la muerte. Y, el paciente no fallece por la infección, sino por una reacción autoinmune. La estrategia cubana pretende aminorar la tasa de pacientes graves y críticos, así como el número de fallecidos.

El país organiza sus tratamientos por protocolo. Algunos medicamentos se emplean con uso profiláctico, capaces de estimular el sistema inmune en grupos de riesgo y vulnerables que no han padecido la Covid-19. Dentro de estos medicamentos las autoridades cubana incluyen: la administración nasal del Interferón Alfa 2-b, el Factor de Transferencia, la Biomodulina T, el CIGB 2020, la Vacuna VME. Los dos últimos se encuentran en ensayos clínicos. Se está trabajando en una vacuna para inducir inmunidad protectora específica, un proyecto que está en fase inicial.

Se ha planteado una estrategia cubana por pasos. El primer paso pretende estimular la inmunidad en poblaciones de alto riesgo para que la Covid-19 transcurra con un curso leve en este grupo, para lo cual se emplea el Interferón Alfa 2-b Recombinante con actividad antiviral directa e inmunopotenciadora. El segundo paso consiste en reducir la carga viral en las fases iniciales de la infección para evitar la reacción hiperinflamatoria y un tercer paso para disminuir la reacción hiperinflamatoria en los pacientes que la desarrollen.

En esta última etapa de la estrategia se incluye un anticuerpo monoclonal, el Nimotuzumab o CIMAher (nombre comercial), del Centro de Inmunología Molecular (CIM), que inhibe la rama efectora de la inmunidad, y el péptido CIGB 2020, que estimula las células reguladoras de la respuesta inmune. CIGB 258, en ensayo clínico en pacientes en gravedad y estado crítico en el Instituto de Medicina Tropical Pedro



Kourí (IPK) y en el Hospital Luis Díaz Soto. Este controla la respuesta de hiperinflamación que conduce a la muerte; consigue regular esa respuesta descontrolada del sistema inmune sin inmunodeprimir a la persona.<sup>25</sup>

Al ser una enfermedad nueva no se tiene inmunidad poblacional. La inmunidad específica solo se genera si el ser humano se pone en contacto directo con el microorganismo o con una vacuna. La obtención de vacunas específicas demora por las características propias de los procesos de obtención y validación vacunal. La inmunidad innata o natural actúa más rápido y ya tiene descrita la posibilidad de una memoria entrenada por mecanismos epigenéticos. Este entrenamiento inmunológico del sistema inmune innato da una respuesta a menor plazo que la obtención de vacunas específicas.<sup>3</sup>

Uno de los medicamentos empleados en los protocolos es la **cloroquina** (CQ), hallazgos recientes han señalado su efecto modulador en modelos de inflamación crónica e infecciones virales. El efecto antiviral de CQ y su derivado hidroxiclороquina se ha empleado también en otras partes del mundo durante el brote del virus SARS-CoV-2.<sup>26</sup> El efecto beneficioso del uso de este medicamento se fundamenta en primer lugar por su efecto antiviral directo según Rodolfo Thome y además tiene efectos inmunomoduladores que se explican por diferentes hallazgos.

La cloroquina reduce la diferenciación de Th17 y las citoquinas que este produce, estimula la expresión de T-bet en las células T, también se le atribuye una disminución de la tormenta de citoquinas. Al disminuir los Th17 disminuyen citoquinas asociadas con la inflamación de los tejidos (IL-17A, IL-17F e IL-22), por lo que la inflamación se reduce considerablemente. El cambio en el equilibrio entre las células Th17 / Th1 hacia la producción de IFN- $\gamma$  puede reflejar otra vía por la cual CQ aumenta las respuestas antivirales.<sup>27</sup>

Si recordamos que el balance Th1/Th17 es inverso y el hecho de que Tbet es el factor transcripcional que conduce a la diferenciación del Th a patrón Th1, que ya se explicó en esta revisión se justifica la interpretación que este investigador le muestra. Si disminuye Th17 entonces aumenta Th1 y si aumenta Tbet, entonces aumenta Th1. El patrón Th1 es precisamente el principal linfocito TCD4+ implicado en la respuesta antiviral.

La CQ también produce supresión de la producción o liberación del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) e interleucina 6, moléculas responsables de las complicaciones inflamatorias más importantes de varias enfermedades virales y están involucradas en la tormenta de citoquinas que conduce al empeoramiento y shock de los pacientes con COVID 19.

Durante el envejecimiento el organismo experimenta el proceso de inmunosenescencia que fue descrito en la presente investigación y que explica el peor pronóstico de los ancianos contagiados con COVID 19.

Como defensa a estos acontecimientos, Cuba emplea **Biomodulina T** (BT), el cual se aplica de modo preventivo a personas vulnerables para combatir el virus SARS-CoV-2. El medicamento, producido en el Centro Nacional de Biopreparados (BioCen), tiene resultados comprobados en el aumento de las defensas de los organismos y las



evidencias científicas apuntan a que provee linfocitos T para combatir la inmunosenescencia y con ello a la enfermedad.

La BT es un producto cubano de composición polipeptídica, es una fracción obtenida del timo bovino. Inhibe la liberación de ácido araquidónico por los macrófagos activados y de este modo, no se liberan las citocinas inflamatorias, lo que tiene efectos similares a los esteroides, sin los efectos indeseables de estos últimos. También se ha determinado que induce la diferenciación de linfocitos T y carece de toxicidad, no produce alteraciones en los órganos y tejidos, ni interferencia negativa en las funciones de los sistemas fundamentales.<sup>28</sup>

Con el uso de la BT se logra una recuperación de la masa tímica, así como un aumento posterior de la liberación de hormonas tímicas por las células epiteliales del timo, posiblemente por un fenómeno de retroalimentación positiva por el uso de estas hormonas. Tiene acción citorrestauradora e inmunomoduladora, al estimular la mitosis linfoblastoide; con ello tiende a normalizar la diferenciación de los linfocitos T.

Al ser la BT una fracción obtenida de timo, constituye una estrategia restauradora del ambiente tímico normal que pudiera desacelerar la acumulación de células T exhaustas y evitar la disminución del número de células T vírgenes que ocurre con el envejecimiento. Se ha comprobado un aumento en ancianos de las células dendríticas y de los linfocitos T.

**Hebertrans:** El factor de transferencia (FT) es un hemoderivado que se emplea en el tratamiento de pacientes con inmunodeficiencia celular. En Cuba se comercializa con el nombre de Hebertrans. Se produce en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Cuba. Es un extracto dializable de leucocitos.

Estimula la proliferación de los linfocitos T y las células NK. Aumenta la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo por la NK. Algunos autores plantean que estimula la producción de interferones.<sup>29</sup> Todos estos efectos aumentan la respuesta antiviral del sistema inmune y justifican su uso en el tratamiento de la Covid 19. Sin embargo se encuentran documentados efectos proinflamatorios importantes, por lo que el investigador considera que su uso debe evitarse en las etapas graves de la enfermedad pues en estos estadios hay hiperestimulación inmune y el HEBERTRANS pudiera empeorar esta situación. Esto se tiene en cuenta en el protocolo cubano.

**Cigb 2020:** Considerado una vacuna para estimular la inmunidad innata. Se emplea por vía sublingual y nasal. En el ensayo clínico en el Hospital Luis Díaz Soto, de La Habana, se ha logrado demostrar que el preparado estimula las moléculas de la superficie de las células del sistema inmune (TLR, NLR) y las de transmisión de señales internas del sistema inmune (IRFT 3, IRFT 7), que están relacionadas con el fortalecimiento de la inmunidad innata.<sup>25</sup>

Se ha comprobado en los exámenes de sangre y de raspado de amígdalas y sublingual que esta vacuna actúa estimulando moléculas de la superficie celular que marcan el sistema inmune innato relacionado con los virus fundamentalmente, como por ejemplo el TLR3, del cual ya fue explicada la función por los autores de esta revisión. Se ha evidenciado a nivel de sangre que se están estimulando linfocitos y otras



células encargadas de la presentación antigénica. Limita el progreso de la afección hasta estadios de mayor complejidad y gravedad, en especial en los adultos mayores.

**Plasma hiperinmune:** Se extrae a través de la plasmaféresis automatizada, mediante la donación de pacientes inmunocompetentes, que han superado la COVID 19 en un periodo no menor de 21 días y han desarrollado anticuerpos frente a el SARS-COV-2. Se utiliza en la transferencia de inmunidad artificial pasiva que protege por 21 días, pero no deja memoria y puede emplearse con dos grandes fines: prevenir la infección en individuos con alto riesgo de exposición al virus o en el tratamiento para reducir síntomas y mortalidad por la enfermedad.<sup>30</sup>

### **Interferon alfa 2b (INF)**

Las acciones del INF protegen frente a las infecciones virales y favorecen la inmunidad celular frente a los microorganismos intracelulares. Para lograrlo se plantean tres grupos de mecanismos que se resumen a continuación.

El INF: a) estimula a las células para que sintetizen varias enzimas, como la 2''-5'' oligoadinilato sintetasa, que interfieren con la transcripción del ARN viral y con la replicación viral. El interferón alfa impide también la maduración viral, afecta la expresión de genes y el ensamblaje viral y degrada ARN viral. Es útil para proteger a las células que todavía no han sido infectadas. Cuando una célula ha respondido al INF y es resistente a la infección viral, se dice que está en estado antiviral.<sup>31</sup>

b) aumenta la expresión de moléculas de clase I del MHC, la mayoría de los CTL CD8+ reconocen el antígeno viral unido a esta molécula por lo que se logra un aumento de la eficacia de la destrucción de las células infectadas por virus, mediada por CTL.<sup>31</sup>

c) estimula el desarrollo de células Th1 en el ser humano que es el linfocito Th antiviral por excelencia. Este efecto se debe principalmente a la capacidad del IFN tipo I de inducir en las células T la expresión de receptores funcionales para la citoquina inductora de células Th1 más importante, la IL12. El INF tipo I también podría aumentar la actividad citolítica de las células NK que es la célula innata especializada en la respuesta antiviral.<sup>9</sup>

La mayor parte de las terapias empleadas en Cuba o el mundo necesitan que el tiempo pase para verificar en estudios con estadísticas más confiables, su efectividad. En opinión de los autores de la presente revisión otras opciones terapéuticas pudieran valorarse. El uso de sulfato de zinc, estimulante de la inmunidad celular y del desarrollo del timo con buenos resultados en niños pudiera ser una oportunidad, teniendo en cuenta que si se usa por el tiempo indicado es inocuo y pudiera ayudar en los casos en los que además de la afectación pulmonar hay síntomas digestivos.

También se considera la inhibición de las fracciones del complemento como C5 a, C2a y C4 a, que desencadenan inflamación o sobre otras proteínas que desencadenan las cascadas del complemento. Por último se concuerda con la valoración de terapias con células madres, sobre todo en los pacientes donde se pueda demostrar daño en timo, bazo, médula ósea o cadenas ganglionares. El uso combinado de esteroides, antivirales y antibióticos pudiera ser factible, evaluando cuidadosamente la fase de la enfermedad.



## Conclusiones

Los linfocitos son heterogéneos con respecto a su fenotipo, funcionalidad y morfología. Las poblaciones linfocitarias con mayor actividad antiviral son las células NK, los linfocitos TCD8+ y los Th1, actuando ellos por sí mismos o a través de la producción de citoquinas. Los linfocitos B contribuyen en la defensa antiviral con la síntesis de anticuerpos neutralizantes, que además de su función natural también se pueden emplear en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades infecciosas. El virus SARS-CoV-2 produce linfopenia por efecto directo sobre el linfocito, por acción dañina sobre sus progenitores y afectando a órganos linfoides. La disminución de linfocitos o linfopenia y la tormenta de citoquinas se asocian con el mal pronóstico de la COVID 19. El efecto beneficioso de los medicamentos empleados en el protocolo de tratamiento para la COVID 19 en Cuba tiene un fundamento inmunológico. La cloroquina potencia el patrón Th1 y disminuye la inflamación mediada por el Th17; el hebertrans estimula la rama celular inmune y favorece el predominio de patrón Th1. La biomodulina T es un potenciador inmune con éxitos también en la tercera edad para contrarrestar los efectos de la inmunosenescencia. Los conceptos actualizados de memoria y especificidad relativa del sistema inmune innato se aplican en Cuba en productos como el GIGB 2020.

## Referencias Bibliográficas

1. Megía R. ¿Cómo funcionan los linfocitos? Inmunidad y diversidad genética [Internet]. [Publicado en abril 11, 2018 citado 23 nov 2019]. Disponible en: <https://genotipia.com/linfocitos/>
2. Gaceta Médica [Internet]. España: La linfopenia podría servir como biomarcador en pacientes de Covid-19, [updated 2020 marzo 26; citado 2020 abril 27]. Disponible en: <https://gacetamedica.com/investigacion/la-linfopenia-podria-servir-como-biomarcador-en-pacientes-de-covid-19/>
3. Mihai G. Netea ,Leo A.B. Joosten , Eicke Latz , Kingston H.G. Mills , Gioacchino Natoli , Hendrik G. Stunnenberg , Luke A.J. O'Neill , and Ramnik J. Xavier. Trained immunity: a program of innate immune memory in health and disease. Science. 2016 April 22; 352(6284): aaf1098. doi:10.1126/science.aaf1098.
4. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. Lancet 2020;395:1033-4.
5. Eberl M, Hayday A. Células T Gamma Delta ( $\gamma\delta$ ) [Internet]. [actualizada 23 May 2018; citado 25 nov 2019]. Disponible en: T\_y\_B\_Clasificacion\_Receptores\_Generacion\_de\_diversidad\_mecanismos\_moleculares\_Capacidades\_funcionales.
6. Vega B. Linfocitos. Inmunología para el Médico General. Medigraphic [Internet] 2009 [23 nov 2019], Vol. 52 No. 6 Noviembre-Diciembre, Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un096i.pdf>.
7. Silvia J Chambers I, Pollard S, Smith A. Nanong promotes transfer of pluripotency after cell fusion. Nature 2016 Jun 22;441(7096):997-1001
8. Roghanian.A, Newman,R Células B [Internet]. Immunology <https://www.immunology.org/es/public-information/bitesized>.



9. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8va ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2015.
10. Amanat F, Nguyen T, Chromikova V, Strohmeier S, Stadlbauer D, Kaijun Jiang AJ, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. 2020. medRxiv. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037713> 2. To KKW, Tsang OTY, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum.
11. Antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1 3. Callaway E. Coronavirus vaccines: five key questions as trials begin. *Nature*. 2020;579. DOI: 10.1038/d41586-020-00798-8.
12. Bonifaz L, Llorente L, editors. Linfocitos T cooperadores adaptativos [Internet]. México: National Instituto Mexicano del Seguro Social; 2017 [citado 2020 abril 24]. Disponible en: <https://www.asieslamedicina.org.mx/linfocitos-t-cooperadores-adaptativos-y-linfocitos-innatos-en-enfermedades-inflamatorias-cronicas/>.
13. Owen J.A, Punt J., Stranford S.A. Mount . KUBY Immunology 7ma edición. Universidad Autónoma de Puebla. México, 2013.
14. Fulop T, Dupuis G, Baehl S, Le Page A, Bourgade K, Frost E, et al. From inflamm-aging to immune-paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation. *Biogerontol*. 2016;17(1):147-57. DOI: 10.1007/s10522-015-9615-7.
15. Fulop T, Dupuis G, Witkowski JM, Larbi A. The Role of Immunosenescence in the Development of Age-Related Diseases. *Rev Invest Clin*. 2016;68(2):84-91.
16. Crooke SN, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. Immunosenescence and human vaccine immune responses . *Immun Ageing*. 2019;16:25.
17. Germán, P. Vega, I. Inmunología en el Humano Sano 2017. ECIMED. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2017
18. Cibic [Internet]. España: Estudio de subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica por Citometría de Flujo, [updated 2017 mayo 31; citado 2020 abril 27]. Disponible en: <https://www.cibic.com.ar/laboratorios-bioquimicos/studio-de-subpoblaciones-linfocitarias-en-sangre-periferica-por-citometria-de-flujo/>
19. Wissinger E. Células TCD8+. [Internet]. Reino Unido: Imperial College London; 2018 [citado 2020 abril 23]. *Immunology* Disponible en: <https://es.scribd.com/document/369792241/CD8-T-cells>.
20. A-P. Yang, J. Liu, W. Tao, H-m. Li, The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients, *International Immunopharmacology* (2020), Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106504>.
21. Yufang Shi, Ying Wang, Changshun Shao, Jianan Huang, Jianhe Gan, Xiaoping Huang, Enrico Bucci, Mauro Piacentini, Giuseppe Ippolito, Gerry Melino. Cytokine storm and lung damage. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses *Cell Death & Differentiation* <https://doi.org/10.1038/s41418-020-0530>.
22. Xinling Wang, Wei Xu, Gaowei Hu, Shuai Xia, Zhiping Sun, Zezhong Liu, Youhua Xie, Rong Zhang, Shibo Jiang, and Lu Lu OPEN SARS-CoV-2 infects T lymphocytes through its spike protein-mediated membrane fusion. *Cellular & Molecular Immunology*; <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0424-9>.



23. He R, Lu Z, Zhang L, Fan T, Xiong R, Shen X, Feng H, Meng H, Lin W, Jiang W, Geng Q, The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia, Journal of Clinical Virology (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104361>.
24. Li Tan, Qi Wang, Duanyang Zhang, Jinya Ding Qianchuan Huang<sup>2</sup>, Yi-Quan Tang, Qionshu Wang, Hongming Miao. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. Signal Transduction and Targeted Therapy (2020) 5:33 ; <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0148-4>
25. Cuba periodistas [Internet]. Cuba: Muestra biotecnología cubana potenciales estrategias contra la Covid-19, [updated 2020 abril 12; citado 2020 abril 27]. Disponible en: <https://www.cubaperiodistas.cu/index.php/2020/04/muestra-biotecnologia-cubana-potenciales-estrategias-contra-la-covid-19/>.
26. Navas T. Cloroquina y Covid-19: [Internet]. 2020 abril [cited 2020 abril 24]; 36(2). Disponible en: <http://www.svmi.web.ve/wh/documentos/covid19/Cloroquina-y-Covid-19.pdf>.
27. Thome R. Chloroquine reduces Th17 cell differentiation by stimulating T-bet expression in T cells: [Internet]. 2020 enero [cited 2020 abril 24]. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7170033/>
28. García Orihuela M, Capdevila V, Suárez Martínez R, Rodríguez Rivera L, Castro González I. Efecto de la Biomodulina T sobre las infecciones respiratorias altas y la polifarmacia del anciano. Rev Haban Cienc Méd. 2014;13(3):425-36.
29. María C, Ibis D, editors. Formulario Nacional de Medicamentos [Internet]. Cuba: Ministerio de Salud Pública; 2018 [citado 2020 abril 26]. Disponible en: <https://instituciones.sld.cu/hospmiguelenriquez/files/2018/01/Formulario-nacional-de-medicamentos.pdf>.
30. Shen C, et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. 494 JAMA (2020). 495 3 2 . A m a n a t , F . , et al. An.
31. Erwan Sallarda, François-Xavier Lescure<sup>b,c</sup>, Yazdan Yazdanpanah<sup>b,c</sup>, France Mentreb, Nathan Peiffer-Smadjab<sup>c</sup> Short Communication Type 1 interferons as a potential treatment against COVID-19. Antiviral Research 178 (2020).