

Tema 12-02. COVID-19. COVID-19. CORONAVIRUS SARS-CoV-2

El coronavirus causante del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) pertenece a la subfamilia *Orthocoronavirinae*, género *Coronavirus* y subgénero *Sarbecovirus* (beta-coronavirus). A este subgénero pertenecen también el SARS-CoV y el MERS-CoV (síndrome respiratorio de Oriente Medio), con los que comparte una secuencia genómica del 79% y 50% respectivamente. El genoma del SARS-CoV-2 está compuesto por una cadena monocatenaria de ARN de aproximadamente 30.000 nucleótidos organizados en una serie de marcos de lectura abierta (*open reading frame* u ORF), los cuales codifican 16 proteínas no estructurales y 4 proteínas estructurales. Tres de ellas se encuentran en la envoltura viral: Glicoproteína S (*Spike* o *espícula*), proteína clave para la entrada del virus en la célula a través de su unión con el receptor en la superficie celular ACE2, proteína E (*envelope* o *envuelta*), encargada de formar un canal iónico y proteína M (*membrana*), proteína mayoritaria, participe en el ensamblaje y formación de viriones. La cuarta proteína estructural (presente en el virión) es la proteína N (*nucleocápside*), que forma envoltura proteica que cubre al ARN.

La glicoproteína S (spyke) está formada por dos subunidades (S1 y S2). La subunidad S1 contiene la región denominada "dominio de unión al receptor" (*receptor binding domain* o RBD), que contiene los aminoácidos que interaccionan con su receptor celular ACE-2 https://en.wikipedia.org/wiki/Angiotensin-converting_enzyme_2 (motivo estructural de unión al receptor o RBM <https://www.nature.com/articles/s41579-020-00459-7>). La enzima convertidora de angiotensina 2 (*angiotensin converting enzyme 2* o ACE2) esté expresada en la superficie de las células del epitelio del tracto respiratorio entre otras, siendo la expresión del ACE2 el principal determinante del tropismo viral.

Células susceptibles a infectarse por SARS COV2 - ACE2+ / TMPRSS2+

MUCOSA NASAL → Góblast cells, ¿otras?
 Pulmón → Neumocitos tipo II
 Intestino → Enterocitos

Testículo
 Riñón
 Corazón

Cuantificación virus en exudado, heces, etc

x Lavado broncoalveolar	→	+++
x Espudo	→	++
x Exudado nasal	→	+++
x Fibrinosopio	→	++
x Exudado faríngeo	→	++
x Heces	→	+
x Orina	→	+
x Sangre	→	+(1%)

$10^2 - 10^9$ RNA/swab/µL
 $\bar{x} = 10^6 - 10^7$

Immunology of covid

Expresión ACE2

CEREBRO (varios)

PULMÓN - ACE2 fumadores

RIÑÓN - gravedad α IL-1, IL6, TNF/IL17
 generalidad expresión ACE2

VASOS SANGUÍNEOS - complicaciones se relacionan PD-diámetro, prolongación TP, prod. degradación fibrina

INTestino - Enterocito

TESTÍCULOS ACE2

HÍGADO - COLANGIOLITOS ACE2+

CORAZÓN - ↑ Expresión ACE2 en Tej. Cardíaca
 ↑ Tropoina diámetro riesgo de complicación cardíaca

Existe una cierta discrepancia entre la expresión de ACE-2 y la susceptibilidad de las células a ser infectadas por SARS-Cov2, por ello se están analizando vías alternativas que faciliten la infección de células que expresan baja densidad de moléculas ACE-2 en su membrana, como por ejemplo CD147, neuropilina-1,.... <https://elifesciences.org/articles/57309> <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666517420300079>. Existe una gran controversia en la capacidad del virus de infectar macrófagos alveolares, <https://elifesciences.org/articles/57309>

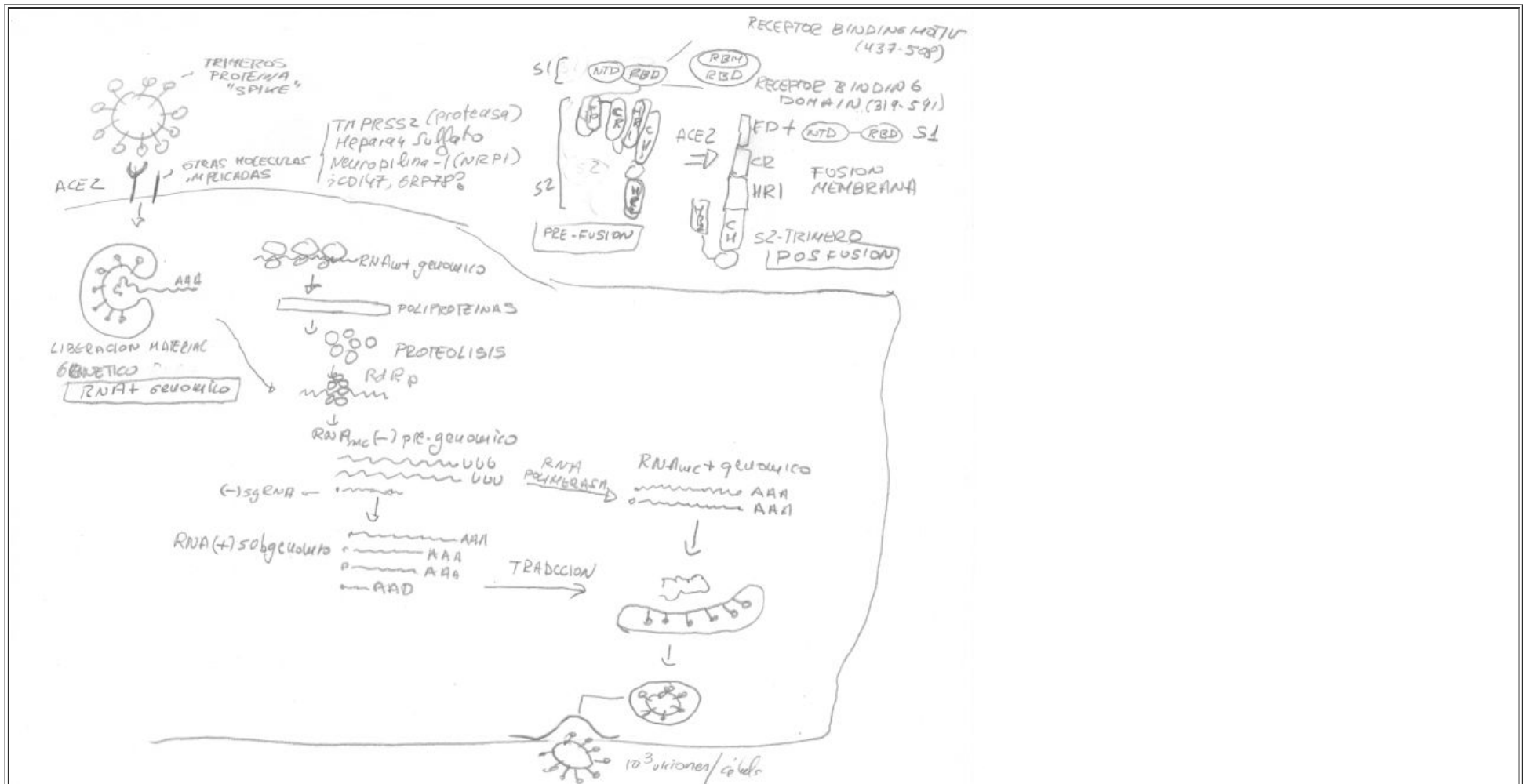
La pérdida de olfato parece estar relacionada con la infección por el virus de células no-neuronales del Epitelio olfatorio. Las células endoteliales vasculares y miocitos también expresan ACE-2, por lo que pueden tal vez infectarse por el virus. Aunque se encuentra RNA en heces, no parece que sea infeccioso. Como veremos en niños parece que es más fácil encontrar RNA viral en heces que en exudado nasofaríngeo. Replicación en sistema digestivo pero no parece que en heces el virus sea infectivo.

Como se aprecia NO suele haber viremia (en casos leves tampoco hay RNA en orina), por lo que es fácil poder detectar anticuerpos contra cualquiera de las proteínas virales contra las que se puedan generar al llegar no procesada a órganos linfoides secundarios. La obtención de RNA viral de nasofaringeo parece obtenerse en la mayoría de los pacientes en los primeros cinco días, disminuyendo a partir de ese momento en casos sin neumonía, aunque puede ser positivo hasta 2-3 meses del inicio de síntomas.

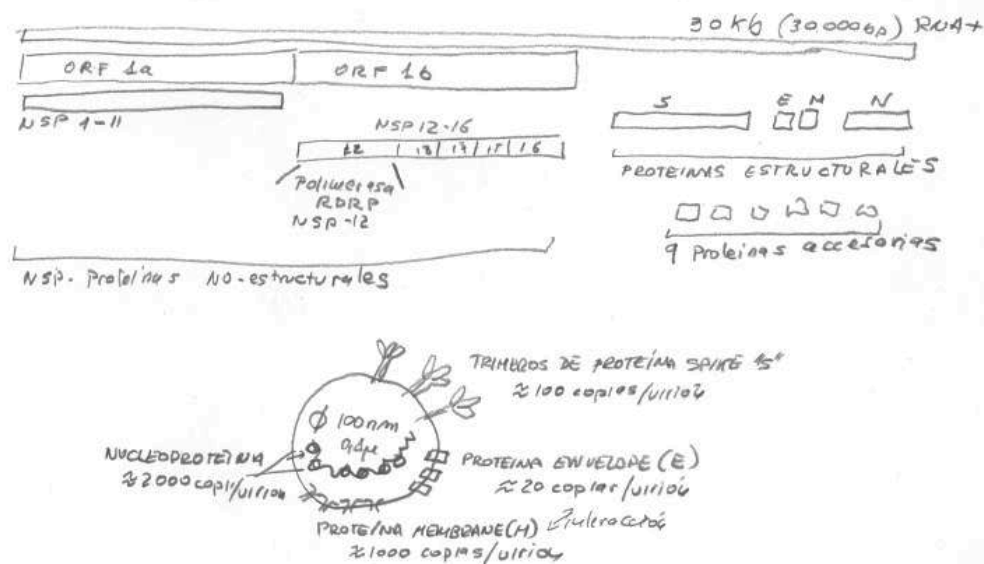
Como se desarrollará posteriormente, el dominio RBD constituye uno de los epítomos inmunodominantes en la respuesta inmune protectora humoral y celular. La subunidad S2 es la responsable de la fusión entre la envuelta viral y la membrana plasmática de la célula diana. En este proceso de fusión y entrada, es fundamental la escisión de la proteína S a lo largo de los sitios difásicos de

arginina por parte de proteasas del huésped (proteasa de cerina transmembrana 2 o TMPRSS2 y furina), tras lo cual tiene lugar la internalización viral por endocitosis con la ACE2 en el epitelio pulmonar. Es importante destacar, dado el aparente papel que poseen en la diferencia de producción de anticuerpos neutralizantes, que tanto la subunidad S1 como la S2, se encuentran rodeadas por una serie de cadenas de oligosacáridos que dificultan el reconocimiento de epítomos formados por aminoácidos de "spike", siendo 2 para la subunidad S1 y 9 para la subunidad S2, si bien el motivo estructural de unión al receptor (RBM) no está casi glicosilado. Aparentemente la expulsión del RNA viral a citoplasma requiere un endosoma ácido (la hidrocloroquina puede actuar a este nivel dificultando la expulsión del RNA al subir el pH de las vesículas). El RNA se replica y se transcriben las proteínas virales (La proteínas de envoltura en retículo endoplásmico), el virus se ensambla y se libera.

En la figura inferior se aprecia como para lograrse la internalización del virus se requiere a acción de una proteasa (TMPRSS2), que puede ser inhibida farmacológicamente. La proteasa TMPRSS2 actúa en membrana citoplásmica y Captensina B/L en endosomas.



El RNA del virus puede ser traducido en ribosomas de la célula infectada generándose entre otras la polimerasa viral RDRP (nsp-12). Ello facilita la producción RNA genómico que formará parte de los viriones generados durante la infección así como las proteínas estructurales y no estructurales virales.



En esta figura se muestra la estructura del RNA genómico de SARS-Cov-2, referenciando las proteínas estructurales y no estructurales del virus. También se esquematiza el aspecto del virión y se señala el número de moléculas de cada una de ellas expresada por virión, 100 copias de la proteína "S", 1000 copias de "N" nucleoproteína y de una segunda proteína de membrana denominada M y 20 copias de la proteína E. <https://elifesciences.org/articles/57309>

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN

Para el diagnóstico se utiliza la técnica de PCR cuantitativa o los test de antígenos.

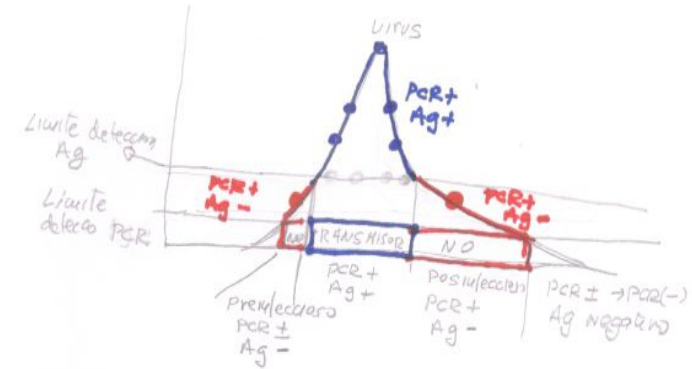
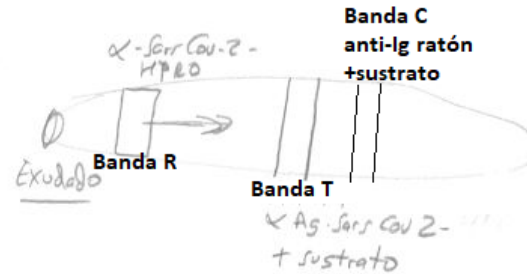
- **Determinación de RNA viral en una muestra.** En la PCR cuantitativa se diseñan dos pares de oligonucleótidos que amplifican RNA viral de 2-3 regiones diferentes. Se extrae el RNA de la muestra viral y posteriormente se realiza una transcripción reversa (para disponer de DNA viral) y se amplifican las 2-3 regiones. Se considera el test compositivo cuando se amplifican AL MENOS DOS regiones del RNA viral, Se considera negativo si no se amplifica ninguna e indeterminado cuando se amplifica solo una de ellas. En este último caso se debe repetir la prueba. Al ser cuantitativo es importante determinar los ciclos necesarios para que se detecte la amplificación, a menos ciclos, mayor concentración del RNA viral en la muestra. Se estima que si la PCR es positiva con menos de 25 ciclos, el paciente es transmisor, si bien es tan solo una orientación. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>
- **Determinación de proteínas virales en una muestra.** En los ELISA o inmunocromatografía lateral se fija a plástico a una tira de nitrocelulosa anticuerpos específicos frente a un antígeno de SARS-Cov2 (suele ser N, S o el dominio RBD). Se facilita la interacción de la muestra nasofaríngea extraída del paciente con este anticuerpo fijado y se revela la existencia o no de proteínas virales en la muestra con un nuevo anticuerpo que reconoce la misma proteína viral que el anticuerpo fijado (un epítipo diferente) unido a un enzima (o a oro coloidal). La positividad o negatividad se hace determinando color o quimioluminiscencia

Ag - N, S, RBD, S2, Dom A

DETECCION ANTIGENO :

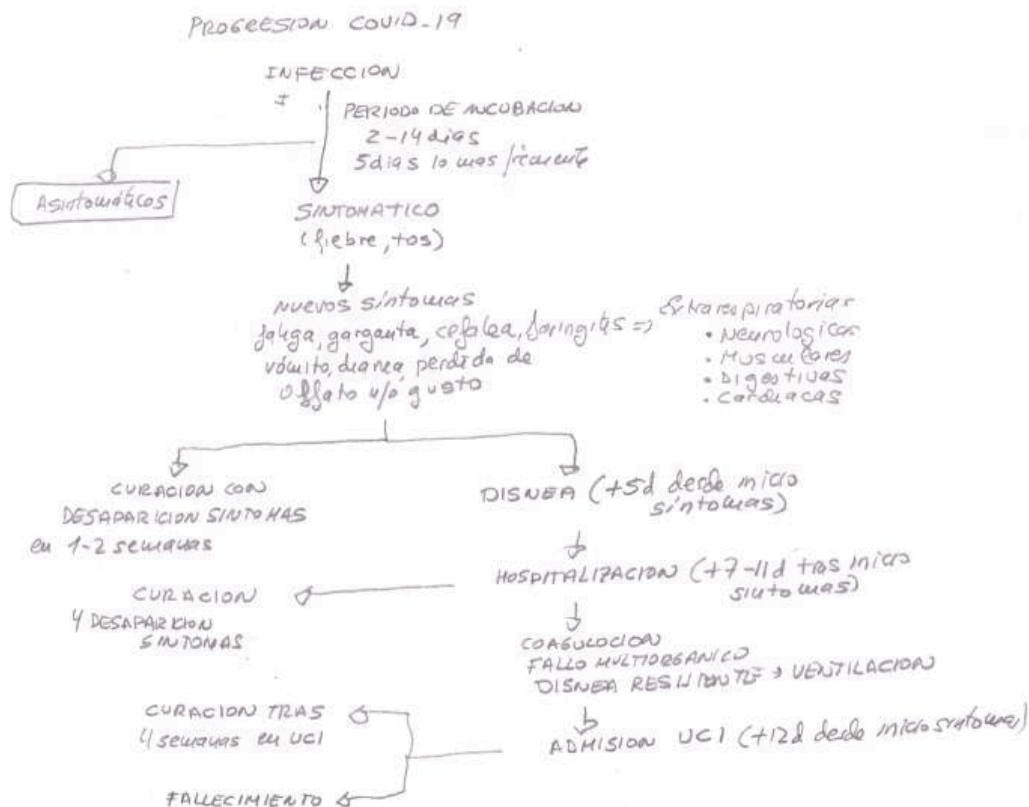
	FIJADO	Muestra	CAPA RESOLUCION BANDA R	Sustrato
ELISA	PLASTICO Ac α Sars-Cov2	Exudado	Ac α Ag-SARS-Cov2 S, NP	Se añaden 9 pocillos al final
Sandwich	S, NP		S, NP	
TIRA	Ac-Anti Sars-Cov2 BANDA T	Exudado	Ac α Ag-Sars-Cov2 S, NP	Fijado en banda T

Capa resolución	Sustrato α -Ag-COV2 - HPA
Capa problema	Exudado
Capa de captura	α Ag-Sars-Cov2



La PCR permite detectar concentraciones virales menores que las pruebas en donde se detecta la presencia de proteínas virales. Aparentemente hay una correspondencia entre la positividad en las pruebas de detección de antígeno con el periodo de transmisión del virus, que requiere una elevada carga viral, suficiente para ser detectada por la inmunocromatografía lateral.

CURSO DE LA ENFERMEDAD.



El espectro clínico de la infección por SARS-CoV-19 es muy amplio, comprende desde la infección asintomática hasta la enfermedad crítica y, finalmente, muerte. Como ya se ha señalado, en los pacientes sintomáticos, el periodo de incubación de la COVID-19 es generalmente rápido, con 5-6 días de mediana, presentando síntomas el 97,5% de los pacientes el día 11,5. Se suele clasificar el curso de la enfermedad en tres estadios. Algunos eliminan el virus en el estadio 1, otros en el estadio 2 y otros llegan al estadio 3, en donde pueden morir (25-50% o sobrevivir y eliminar el virus (50-75%).

- **Pacientes Asintomáticos** con o sin detección de virus. Estos pacientes pueden transmitir la enfermedad aunque nunca tengan síntomas, siempre que tenga una carga viral suficiente, probablemente si en la PCR hay señal antes de los 25-30 ciclos. En China no se demostró transmisión en cribado masivo tras un caso tras la eliminación del virus en el país. Los pacientes positivos tenían una baja carga viral (más de 35 ciclos) y no se excluyó que fueran restos de RNA viral que permanece se pueden detectar en algunos sujetos convalecientes hasta 80 días después del inicio de síntomas. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7679396/>
- **Estadio-I.** Periodo sintomático sin riesgo vital en donde se aísla el virus de orofaringe, esputo, etc. Los síntomas más frecuentes son tos, fiebre, dolores musculares, pérdida de olfato y gusto, cansancio,.... No suele detectarse anticuerpos antivirales. La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR por sus siglas en inglés) en secreciones nasofaríngeas es positiva en la mayor parte de los casos. En Murcia suponen el aproximadamente el 70% de los casos diagnosticados, aunque hay diferencias por rangos de edad. Entre los 2 y los 14 años, los casos sintomáticos son tan sólo el 40% de los infectados
- **Estadio-II.** Afectación pulmonar con hipoxia o sin hipoxia. Aparece a partir de la segunda semana. Etapa caracterizada por intensa replicación viral así como por inflamación localizada en el pulmón. Los pacientes desarrollan neumonía viral, con fiebre, tos y, algunos, hipoxia (PaO₂ / FiO₂ < 300 mm Hg). En las pruebas de imagen se observan infiltrados pulmonares uni o bilaterales. Los análisis de sangre revelan un linfopenia más marcada que en la anterior fase y, un aumento de las transaminasas. Puede haber discreta elevación de los marcadores de inflamación sistémica. La RT-PCR puede ser positiva en muestras obtenidas en el tracto respiratorio inferior, y se puede demostrar la existencia de IgM y/o IgG anti-viral
- **Estadio-III.** Hiperinflamación sistémica. Aparece a partir del día 10-15 del inicio de los síntomas. Los marcadores de inflamación sistémica están elevados. En aquellos pacientes con enfermedad más grave, las citocinas inflamatorias y los biomarcadores como IL-2, IL-6, IL-7, factor estimulante de colonias de granulocitos (CSF-G), proteína inflamatoria de macrófagos 1- α (MIF-1), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), proteína C reactiva, ferritina y dímero-D están significativamente elevados. Algunos pacientes desarrollan una lesión endotelial difusa con fenómenos microtrombóticos y de neoangiogénesis.
 - <https://www.nature.com/articles/s41418-020-0530-3>

- <http://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/medicine/sph/ide/gida-fellowships/Imperial-College-COVID19-symptom-progression-11-03-2020.pdf>
- [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(20\)30243-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30243-7/fulltext)
- <https://www.njcm.org/doi/10.1056/NEJMoa2002032>
- COVID-Persistente. Tras la infección un porcentaje variable de pacientes continúan con síntomas, apesar de no poder ponerse de relieve la presencia de RNA viral. Es un síndrome que se caracteriza por la persistencia de síntomas de COVID-19 semanas o meses después de la infección inicial, o por la aparición de los síntomas tras un tiempo sin ellos. Su aparición no está relacionada con la gravedad de la infección inicial, por lo que puede afectar tanto a pacientes leves como a graves hospitalizados. Afecta a personas de cualquier edad, aunque parece más frecuente en edad media y en mujeres. Produce un elevado impacto en la calidad de vida, ámbito laboral y social.

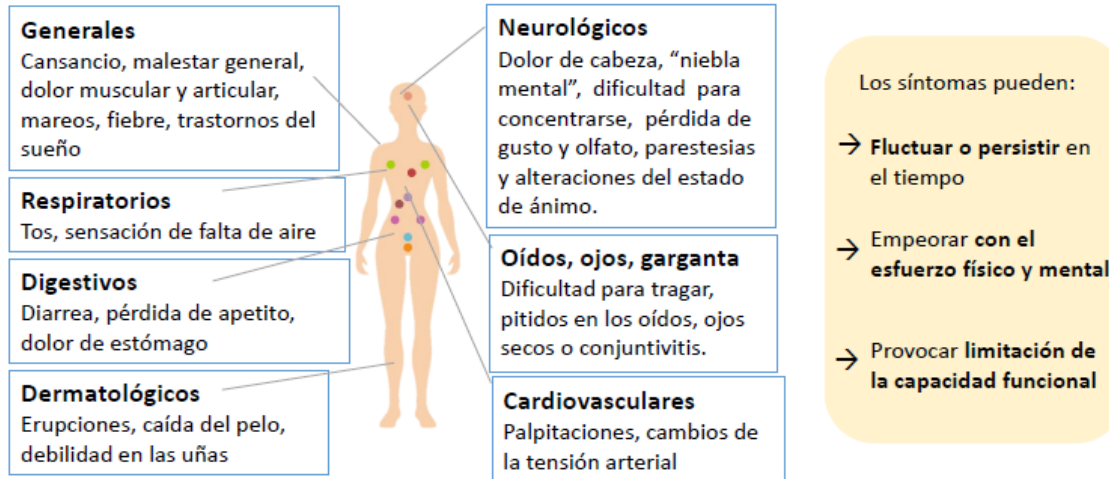


Aproximadamente **1 de cada 5** personas tiene algún síntoma tras **5 semanas** de la infección

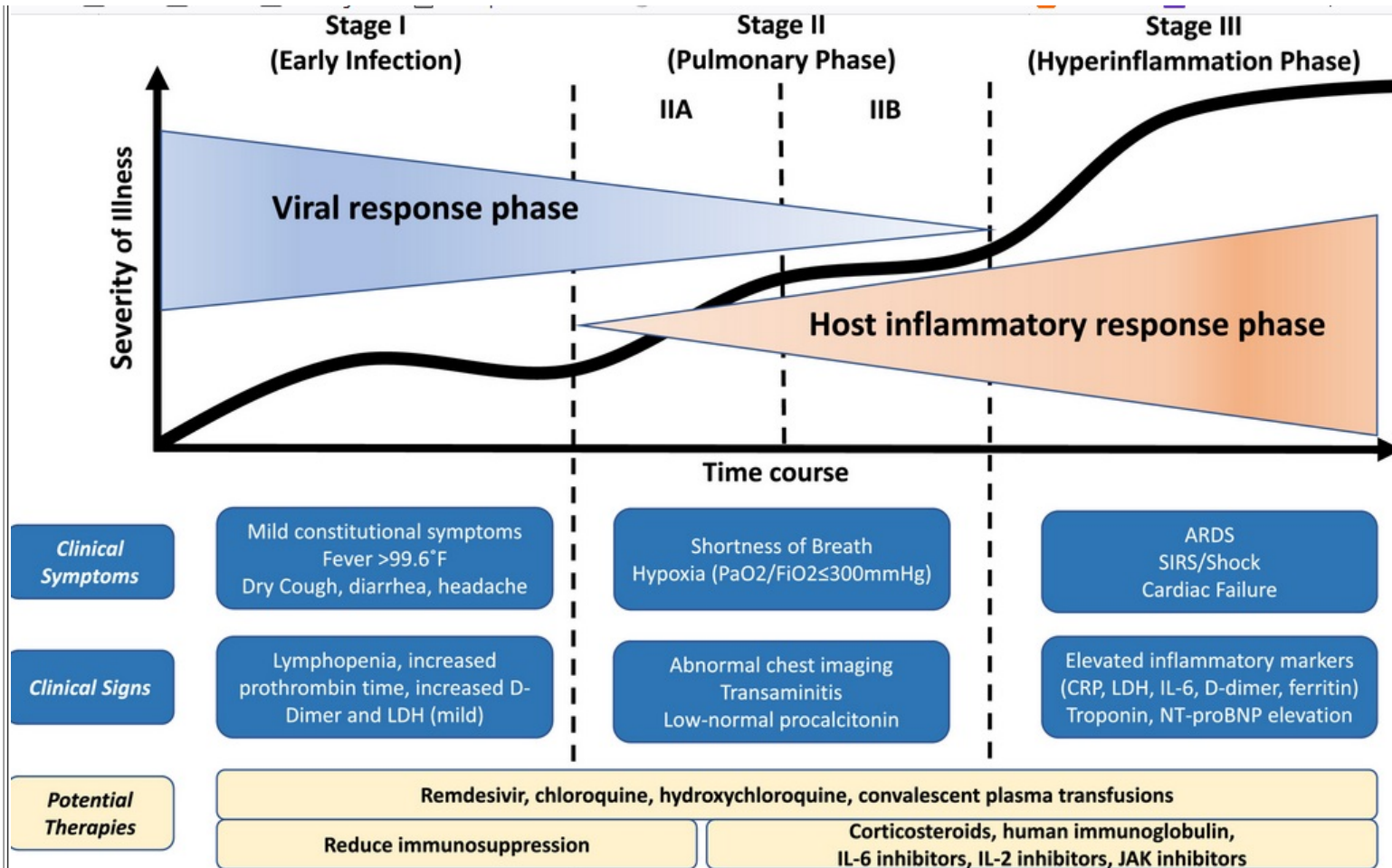


Aproximadamente **1 de cada 10** personas tiene algún síntoma tras **12 semanas** de la infección

Se ha descrito **un gran número** de síntomas asociados a la COVID persistente



- De manera inesperada la vacunación mejora la sintomatología en alguno de estos pacientes. Como posibles explicaciones a este hecho se ha hipotetizado que estos pacientes tienen una replicación viral sostenida pero difícil de poner de manifiesto (enfermedad oculta) o que se debe a una respuesta autoinmune.



. Clasificación de los estados de enfermedad COVID-19 (de Siddiqi et al. [Hasan K. Siddiqi, MD, MSCR Mandeep R. Mehra, MD, MSc](https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1746199)
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1746199> modificado por Jose Manuel Revuelta)

La respuesta inmune a la infección consta de dos fases.

- Fase de repuesta anti-Viral. Durante la incubación y en las formas no graves, se desarrolla una respuesta de inmunidad innata immune capaz de eliminar el virus e impedir a progresión a fases avanzadas (graves). Parece que la producción de IFN-I juega un papel importante
- **Respuesta inflamatoria desregulada (tormenta de citocinas)**. Si la respuesta inmunoprotectora no logra eliminar el virus, este se replica en gran escala destruyendo muchas células de los órganos con muchos receptores ACE-2. A partir de este momento los macrófagos pulmonares juegan un papel prominente, bien respondiendo a los DAMPs liberados o por la propia infección de estos macrófagos. La inflamación subsiguiente provoca alteraciones respiratorias que pueden termiar con la vida del paciente. Esa inflamación se traduce en el aumento de la concentración de proteínas de fase aguda como Proteína C-reactiva (CRP), interleucinas como IL-6, enzimas como LDH, fragmentos de fibrina como dímeros-d o ferritina, todo ello signo de un proceso inflamatorio generalizado. En la gráfica se muestra como esta fase de la enfermedad se debe tratar con fármacs anti-inflamatorios, tales como cortocosteroides, anti-IL6, anti-IL1, etc.

antes del inicio de síntomas. Los casos diagnosticados deben hacer aislamiento también de 10 días

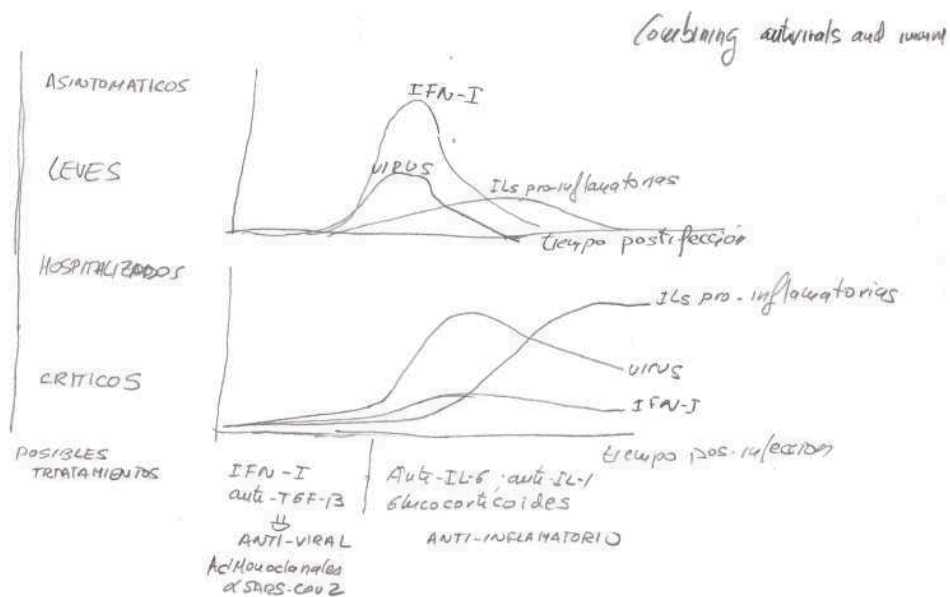
Curación y fin de aislamiento.

- 1.- Al comienzo de la pandemia se consideró que eran necesarias dos PCR negativas a partir del día 8 de inicio de síntomas
- 2.- Actualmente se considera curado un paciente a partir del día 10 del inicio de síntomas si ha estado libre de sintomatología al menos durante tres días. Este periodo aumenta en pacientes que han necesitado hospitalización, siendo en los casos más graves 21 días desde el inicio de síntomas

RESPUESTA INMUNE FRENTE A SARS-CoV-2

1.- RESPUESTA INMUNE INNATA FRENTE A SARS-COV-2

- **Reconocimiento de PAMPs virales.** SARS-CoV-19, es un virus ARN monocatenario. En células fagocíticas NO INFECTADAS, la internalización del virus permite el reconocimiento del RNA viral por los receptores Toll Like 3, 7, 8 y 9 localizados en vesículas. Por el contrario las células infectadas por el virus reconocerán RNA viral en citoplasma por receptores tipo I (RLR) inducibles por ácido retinoico (RIG-I) y MDA5. La interacción del RNA viral con estos Receptores que reconocen patógenos (PRRs) vesiculares o citoplásmicos tiene diferentes consecuencias. Por una parte induce la transcripción y activación del inflammasoma NLRP3. Este hecho es necesario para la ruptura enzimática de pro-IL-1 β , pro-IL-18 y gasdermina D, lo que permite la secreción de IL-1 β y IL-18 y el desarrollo de una potente respuesta inflamatoria que puede tener efectos beneficiosos como perjudiciales. Por otra parte el reconocimiento de RNA viral induce la producción y secreción de IFN Tipo-I, que como veremos parece jugar un papel fundamental en el control de la infección. El virus ha desarrollado diferentes estrategias para impedir la disponibilidad de IFN-I, lo que favorece el antenimiento de replicación viral y favorece un curso grave de la enfermedad al mantener una estimulación prolongada de células del sistema inmune innato y una excesiva producción de interleucinas pro-inflamatorias.

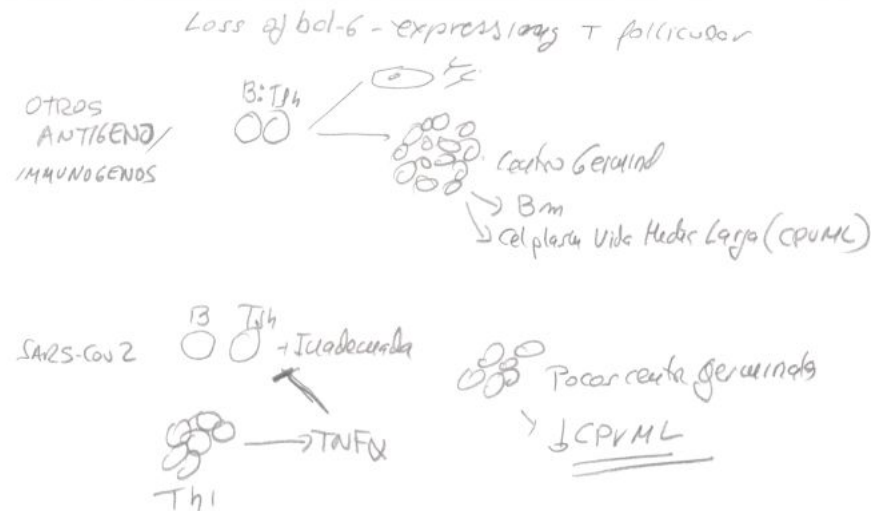


En esta figura se desarrolla la hipótesis en la que una defectuosa/demorada producción de IFN-I conduce a una mayor carga viral, una mayor estimulación de células del sistema inmune innato y la hiperproducción de interleucinas proinflamatorias como IL-6 o IL-1. También se proponen tratamientos que puedan mejorar el curso clínico y que deberían de administrarse en diferentes momentos de la evolución clínica (IFN-I o tratamiento antiviral al inicio e inmunosupresores en un momento posterior)

2.- RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA/ADAPTATIVA FRENTE A SARS-COV-2

- **Reconocimiento y funciones efectoras de Linfocitos T.** La respuesta de células T ha sido detectada en todas las infecciones por SARS-CoV-2 sean estas sintomáticas o asintomáticas. Aparentemente respuesta de las células T CD4+ predomina sobre la respuesta T CD8+, lo cual se asocia con un control de la infección primaria.
 - **Linfocitos T CD4+.** Los linfocitos T CD4+ antivirales pueden hacer sinapsis inductora con células dendríticas que hayan internalizado el virus (presentación en forma de complejos pMHC-II de proteínas estructurales), como de cuerpos apoptóticos de células infectadas (presentación de complejos pMHC.II en donde el péptido provenga de proteínas estructurales o no estructurales). En pacientes convalescentes se ha demostrado que las proteínas inmunodominantes son las estructurales, sobre todo proteína spike ("S"), la proteína "M" y nucleoproteína ("N"). Se ha sugerido que la rápida aparición de células T CD4+ antivirales se asocia a un curso de la enfermedad leve.

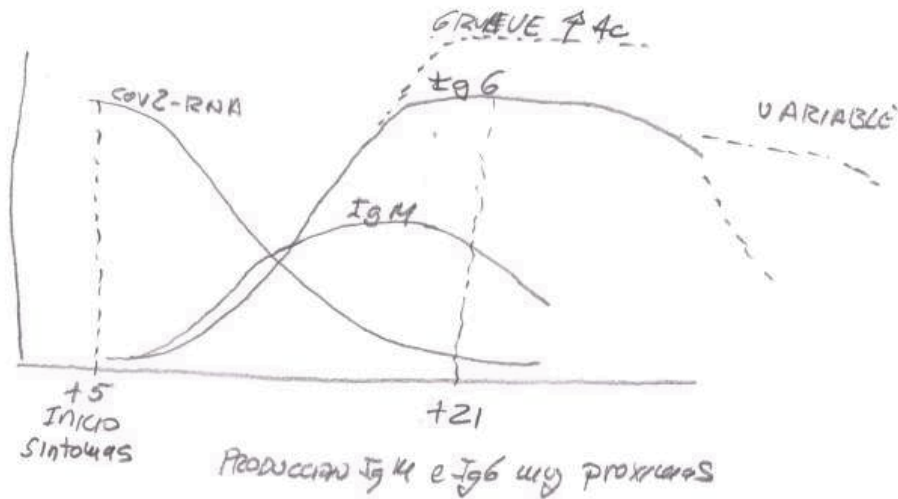
- Polarización a linfocitos TH1. Como en tras infecciones virales, se ha descrito una respuesta polarizada a linfocitos TH1. IFN-gamma producido por estas células T efectores ejecutaría su función anti-viral de manera directa, aumentando también la activación de macrófagos con los que hayan hecho sinapsis efectora, estimulando la rápida producción de interleucinas pro-inflamatorias y reclutamiento de células del sistema inmune innato y específico.
- Generación de linfocitos T efectores que producen IL-22. Se ha detectado producción de IL-22 por parte de las células T CD4+ antivirales que anidan en mucosas, Dado que la secreción de IL-22 se asocia a mantenimiento de una mucosa íntegra, que impide el paso de microorganismos a lámina propia al participar en la reparación del tejido pulmonar durante COVID-19.
- Por otra parte, la polarización de estos linfocitos T antivirales a T_{fh} jugaría un papel muy importante en la producción de anticuerpos específicos, generación de células plasmáticas de vida media larga y de linfocitos B memoria. Como se desarrollará posteriormente, la producción de anticuerpos anti-virales disminuye de forma significativa unos meses después de la infección, lo que induce a pensar que el virus logra dificultar la generación de células plasmáticas de vida media larga CPVML. Se ha descrito que una excesiva polarización de la respuesta anti-viral a linfocitos TH1, junto a una respuesta inmune inata excesiva induce un ambiente rico en TNF-alfa que dificulta la generación de centros germinales, y con ello la generación de Bm y CPVML.



- **Linfocitos T CD8+ antivirales.** Se han identificado linfocitos T CD8+ efectores antivirales frente a prácticamente todas las proteínas virales, tanto estructurales como no estructurales, lo que facilita la destrucción de células infectadas y demuestra la importancia de la presentación cruzada de antígenos virales en forma de complejos pMHC-I. Las células generadas durante la infección aguda expresan moléculas efectoras como granzima o perforina y se ha demostrado su capacidad de producir IFN-gamma.
 - Linfocitos T exhaustos. Existe una controversia sobre la existencia o no de linfocitos T CD8+ exhaustos en la infección aguda con un curso clínico grave. Como ya se ha señalado en el Tema-8, los receptores inhibidores que caracterizan el fenotipo de linfocito T exhausto se expresan en linfocitos T efectores, aunque no en linfocitos T memoria. Por ello la existencia de receptores inhibidores como PD1 en linfocitos T CD8+ antivirales no implica una defectuosa función efectora, aunque tampoco lo descarta. Son necesarios más estudios para clarificar esta controversia.
- **Generación de linfocitos T memoria tras la infección.** Se han encontrado células T que reaccionan contra el SARS-CoV 17 años después de la infección. (por lo que parece razonable que en pacientes recuperados de Covid-19 persista inmunidad de células T memoria de larga duración)
- **Evolución de la infección en pacientes con inmunodeficiencias B.** También se ha comprobado como algunos pacientes que se han recuperado de la infección por SARS-CoV-2 no han desarrollado anticuerpos neutralizantes, por lo que la inmunidad no depende completamente de los anticuerpos, sino también de otras células como los linfocitos T efectores. De hecho, se ha podido comprobar como pacientes con inmunodeficiencias de células B también han conseguido eliminar la infección, y no se han demostrado peores desenlaces en estos pacientes, respaldando así la posibilidad de controlar la infección por SARS-CoV-2 en ausencia de anticuerpos neutralizantes
- **Reconocimiento y activación de linfocitos B. Proteínas virales inmunodominantes. Cinética de producción de anticuerpos con o sin capacidad neutralizante.** Durante la infección por SARS-CoV-2, la seroconversión se produce en la gran mayoría de las personas entre los 5 y 10 días posteriores al inicio de síntomas, siendo esta del 90% en el día 10 posterior al inicio de los síntomas. Los anticuerpos detectados están dirigidos sobre todo frente a las proteínas estructurales *Spike* (S) y proteína de la nucleocápside (N), correlacionándose los niveles de IgG específica de S y N del dentro de cada individuo. La generación de anticuerpos frente a la proteína "N" implica que esta proteína ha llegado íntegra y no procesada al área B de órganos linfoides secundarios. Al igual que en otras infecciones virales, los anticuerpos dirigidos contra proteínas virales localizadas en el interior del virus carecen de función neutralizante y son

incapaces de favorecer la internalización del virus por macrófagos, neutrófilos o dendríticas. No es raro que no se detecten anticuerpos anti-M o anti-E, dado que son proteínas fuertemente glicosiladas, que enmascaran la secuencia de aminoácidos y que al ser un patrón de glicosilación eucariote dificulta su reconocimiento por células B

- **Anticuerpos anti-spike con función neutralizante. Epítomos reconocidos.** Los principales anticuerpos neutralizantes producidos durante la infección frente SARS-CoV-2 son contra la proteína Spike, específicamente frente al dominio de unión al receptor (RBD), siendo los epítomos contenidos en este dominio reconocidos por el 90% de los anticuerpos neutralizantes caracterizados. Las variantes virales han demostrado como ha pesar de que contiene más de 200 aminoácidos, hay ciertas posiciones que son especialmente importantes en el reconocimiento de anticuerpos con capacidad neutralizante, destacando las sustituciones (evolución convergente) K417N/T, E484K, y N501Y de la proteína spike presentes en las variantes SARS CoV-2 B.1.1.7 (UK), B.1.351 (South Africa) y B.1.1.28 (Brazilian), mostrano la especial importancia de ciertos residuos en un determinado epítomo. También se han detectado anticuerpos neutralizantes frente al dominio N-terminal o S2 de *Spike*, pero en menor proporción cuya capacidad neutralizante estará probablemente ligado a la inducción de cambios conformacionales en el dominio RBD tras la unión del anticuerpo. La inmunodominancia del dominio RBD y del motivo RBM parece estar ligado a la baja glicosilación de los residuos contenidos, lo que contrasta con las 9 cadenas de oligosacáridos que posee en su superficie S2 frente a las tan solo 2 glicoproteínas que se encuentran en la superficie de RBD.
- **Familias VH implicadas en la neutralización.** Los dominios variables de los anticuerpos neutralizantes tienen muy pocas mutaciones, lo que pone facilita la aparición temprana de anticuerpos neutralizantes. Ello no ocurre en otras infecciones, en donde la generación de anticuerpos neutralizantes de amplio espectro requiere un proceso de aparición de mutaciones acumuladas que en el caso de la respuesta a VIH tarda en tener lugar años. Ello puede explicar el que no se haya podido correlacionar la aparición de anticuerpos neutralizantes con un curso clínico más leve, dado que todos los pacientes son capaces de generar anticuerpos neutralizantes. De hecho numerosos estudios muestran una fuerte asociación entre la concentración de anticuerpos neutralizantes y el curso clínico de la infección, siendo paradójicamente mayor en casos graves de enfermedad, a diferencia de lo que ocurre con los niveles elevados de CD4+ y CD8+ específicos para SARS-CoV-2, que se relacionan con una gravedad disminuida.
- **Cinética de aparición de isotipos de inmunoglobulinas.** Se ha demostrado la aparición de los tres isotipos de inmunoglobulina que cabe esperar en una infección en donde el microorganismo penetra por mucosa, IgM, IgA e IgG. Si bien en los primeros momentos se consideró que al igual que en otras infecciones la IgM debía preceder a la aparición de IgG e IgA (requieren formación de centros germinales, la denominada en muchos artículos como respuesta folicular), no parece ser el caso de la respuesta a Sars-Cov-2, en donde a veces IgG aparece al mismo tiempo que IgM o incluso antes. Ello probablemente se deba a la existencia de linfocitos Bm frente a coronavirus estacionales que dan reacción cruzada con antígenos presentes en Sars-Cov-2, diferenciándose a plasmáticas y aumentando la concentración de anticuerpos específicos en la primera semana, si bien estos anticuerpos no parecen tener capacidad neutralizante. Como no todos los pacientes tienen estos linfocitos Bm con reacción cruzada entre coronavirus (que también existen en el compartimento de linfocitos T) la cinética de aparición de anticuerpos es heterogénea en los pacientes, aunque no tienen un valor predictivo del curso de la infección. Más del 90% de los pacientes tienen anticuerpos detectables de isotipo IgM e IgG a los 15 días del inicio de síntomas en sangre. Se ha estudiado con menor detalle la aparición de IgA en la luz de mucosas o en sangre, si bien no parece haber grandes diferencias con respecto a IgG
- **Cinética de disminución de la concentración de los diferentes isotipos en sangre de pacientes.** Tal y como cabía esperar, los anticuerpos anti-Sars-Cov2 de isotipo IgM disminuyen rápidamente al ser producidos por células plasmáticas de vida media corta que no han surgido de centro germinal (también llamados extrafoliculares). Sin embargo, es un hallazgo consistente y repetido que la concentración de IgG e IgA en sangre disminuyen progresivamente después de alcanzar una concentración máxima aproximadamente dos meses después del inicio de síntomas. Ello implica que no se producen suficientes células plasmáticas de vida media larga (CPVML) capaces de mantener una alta concentración de anticuerpos de isotipo IgG, lo que sí ocurre en otras infecciones virales, sobre todo en virus que inducen viremia. Como ya se ha mencionado, la alta producción de TNF-alfa y la fuerte polarización a TH1 hace que se desarrollen escasos centros germinales. Es un campo de intensa investigación. Otro factor que dificulta la extracción de conclusiones es que en los artículos publicados utilizan diferentes herramientas diagnósticas, CLIA, ELISA, inmunocromatografía lateral de diferentes casas comerciales y que por ello tienen una diferente capacidad de detectar bajas concentraciones de anticuerpos específicos. También es necesario profundizar en la dirección de IgA específica no solo en sangre (producida por células plasmáticas que anidan en órganos linfocitos o médula ósea) sino en mucosas, secretada por plasmáticas que anidan en lámina propia.
- **Linfocitos B memoria anti-Sars-Cov-2.** Hay abundantes estudios que han demostrado la existencia de linfocitos Bm anti-Sars-Cov2 en pacientes que han superado la enfermedad, sea esta leve o grave. Como los linfocitos Bm surgen de centros germinales, es un campo de investigación el conocer cuáles son las razones que dificultan la generación de células plasmáticas de vida media larga, pero no de linfocitos B memoria. De hecho se ha observado que existe un aumento de afinidad progresivo en pacientes que han superado la enfermedad, lo que sugiere que en algunos pacientes puede haber una estimulación continuada del sistema inmune compatible con replicación viral continuada en algunos órganos o sistemas. Este hecho podría justificar la prolongada detección de RNA viral en algunos pacientes (PCR+ persistente) y jugar un papel en el síndrome pos-covid como se desarrollará en otro apartado



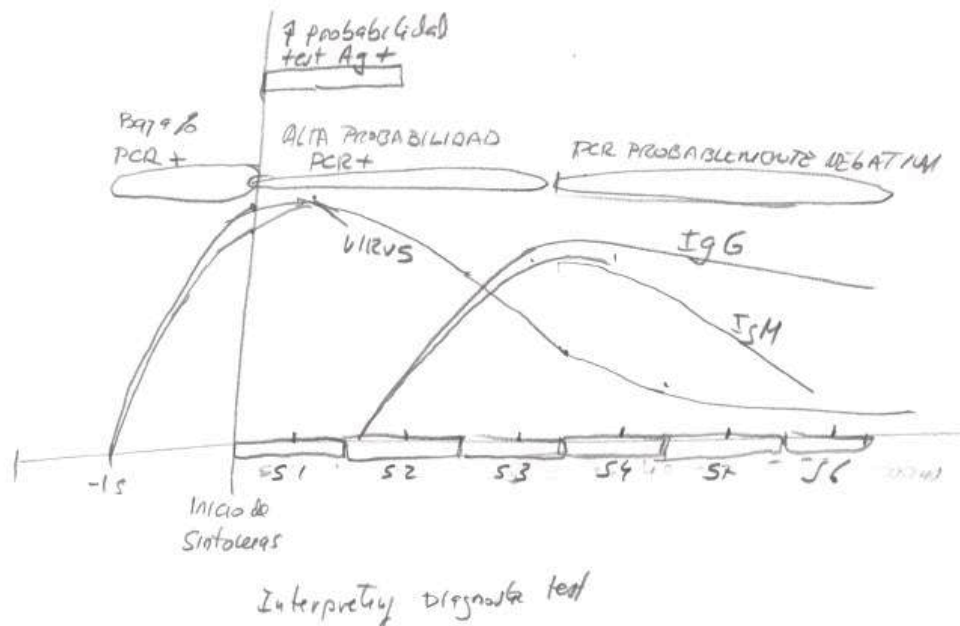
IMMUNOLOGY OF COVID: CURRENT STATE OF SCIENCE

En esta gráfica se refleja como la aparición de IgM no siempre precede a la aparición de IgG anti-sars-Cov-2 y como la generación de CPVML es variable, siendo de mayor concentración y duración tras el desarrollo de un COVID-19 grave, tal vez ligado a la aparición de viremia y de respuesta inmune anti-viral sistémica.

- **Cooperación del sistema inmune innato y específico.** Los datos experimentales actuales apoyan un modelo en el que es probable que una respuesta temprana coordinada de las tres ramas de la inmunidad adaptativa sea más exitosa para controlar la infección y limitar la gravedad por Covid-19.

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-SARS-COV-2 Y SU PAPEL EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y EN ANÁLISIS POBLACIONALES.

Aunque sin lugar a dudas el diagnóstico de infección se hace mediante la demostración de RNA o proteínas virales en el exudado nasofaríngeo, la determinación de anticuerpos puede ser relevante cuando el número de ciclos necesarios para la detección de la presencia de RNA viral en una muestra es mayor de 30-35, cuando la prueba de PCR se ha hecho en un asintomático que va a ser intervenido de otra patología y en el cribado resulta positivo en una prueba de PCR y se quiere determinar si es una infección activa o es una infección pasada con PCR positiva persistente



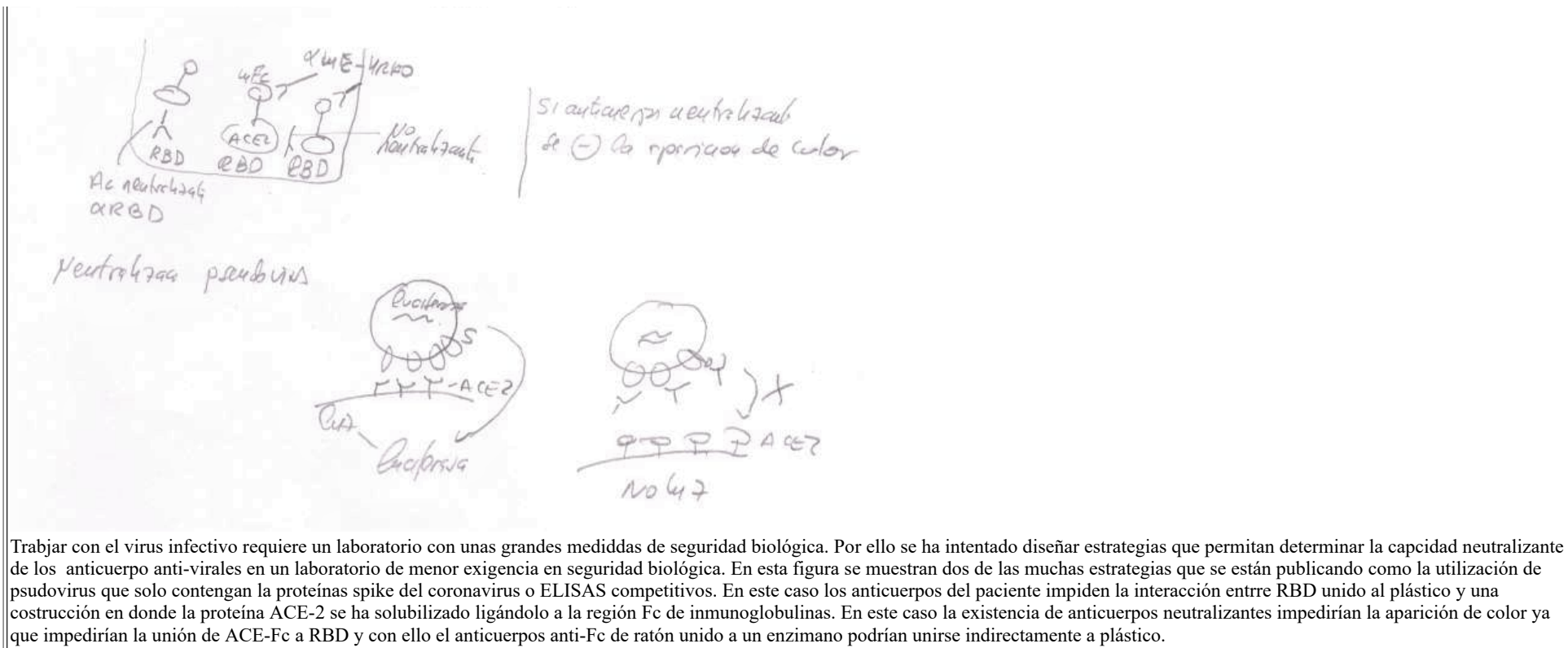
Como se aprecia en esta figura a partir de la tercera semana del inicio de síntomas la prueba de PCR puede ya ser negativa, pudiendo detectarse en la inmensa mayoría de las ocasiones IgM e IgG específica anti-Sars-Cov-2. Por ello la demostración de anticuerpos específicos refleja una infección de larga evolución.

DETECCION ANTICUERPOS

Capas	Sustrato
Resolución	α IgG-HRP
Problema	Exudado
Captura	Ag-Cov2

	FIJADO	Muestras	HRPO	Sostrato
ELISA	PLASTICO Ag-Cov2	Suero	α IgG-HRP	A Papelillo
TIRA	Ag-Cov2 BANDA R	Suero	α IgG-HRP BANDA R	Cu banda T

En esta figura se muestra el diseño de un ELISA indirecto o una inmunocromatografía lateral. En ambos casos los antígenos virales utilizados (proteína S, dominio RBD o proteína N se fijan a un soporte sólido (plástico (capa de captura) o nitrocelulosa (franja T)). La diferencia entre ambas estrategias radica en cual es la primera interacción antígeno anticuerpo, Ag-Ac problema en el ELISA o Ac problema-Anti-IgG-Enz en la inmunocromatografía lateral.



Trabajar con el virus infectivo requiere un laboratorio con unas grandes medidas de seguridad biológica. Por ello se ha intentado diseñar estrategias que permitan determinar la capacidad neutralizante de los anticuerpos anti-virales en un laboratorio de menor exigencia en seguridad biológica. En esta figura se muestran dos de las muchas estrategias que se están publicando como la utilización de pseudovirus que solo contengan la proteínas spike del coronavirus o ELISAS competitivos. En este caso los anticuerpos del paciente impiden la interacción entre RBD unido al plástico y una construcción en donde la proteína ACE-2 se ha solubilizado ligándolo a la región Fc de inmunoglobulinas. En este caso la existencia de anticuerpos neutralizantes impedirían la aparición de color ya que impedirían la unión de ACE-Fc a RBD y con ello el anticuerpos anti-Fc de ratón unido a un enzímico podrían unirse indirectamente a plástico.

Protección. Existen dudas sobre la protección que se genera tras la infección con betacoronavirus humanos estacionales en donde las reinfecciones son comunes al año de la primoinfección (<https://www.nature.com/articles/s41591-020-1083-1>) si bien en estos estudios no se analiza si las reinfecciones (aumento de título de anticuerpos) son o no sintomáticas. Estas mismas incertidumbre se cierne sobre la duración de la protección de las vacunas en uso. Sin embargo los datos que ahora se disponen son alentadores, aunque la aparición de variantes virales puede suponer un problema, y en parte puede explicar la dificultad en lograrse una protección duradera frente a coronavirus. Hay que tener en cuenta que en la protección frente a una infección participan anticuerpos preformados con capacidad neutralizante producida por CPVML, linfocitos B memoria y los tres tipos de linfocitos T memoria (Tme, Tmr y Tmc)

- **Cinética de la concentración de anticuerpos neutralizantes y generación y duración de Linfocitos Bm y Tm anti-SARS-Cov2.** Existe una cierta controversia sobre el tiempo de duración de los anticuerpos antivirales con capacidad neutralizante ya que depende del ensayo utilizado para su detección (ELISA, neutralización de pseudovirus). Diversos estudios parecen demostrar que aunque la concentración de anticuerpos de isotipo IgG anti-S y anti-RBD (probablemente neutralizantes) disminuye a partir de los seis meses de la primoinfección, los linfocitos Bm y Tm permanecen más de seis meses, por lo que la protección frente a la re-infección puede ser más duradera de lo que se puede deducir de un mero análisis de la concentración de anticuerpos ([https://www.cell.com/med/fulltext/S2666-6340\(21\)00038-6](https://www.cell.com/med/fulltext/S2666-6340(21)00038-6)). Estos estudios han puesto de manifiesto la alta variabilidad entre pacientes, mientras que la concentración de anticuerpos anti-RBD y el número de Tm parece disminuir a partir de los seis meses (sobre todo en la población CD8+), los linfocitos Bm parecen aumentar, al menos durante los primeros 8 meses (<https://science.sciencemag.org/content/371/6529/eabf4063>). Por ello es posible que pacientes que han enfermado de COVID-19 y los títulos de anticuerpos son indetectables están protegidos de la re-infección (https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/27/1/20-3772_article)
- **Protección frente a la re-infección en pacientes que han padecido COVID-19.** Hay varios estudios que han puesto de manifiesto que existe una protección frente a la re-infección de al menos 8 meses de duración tanto en trabajadores sanitarios como en estudios poblacionales (Austria y Dinamarca)

Estudio en trabajadores sanitarios donde se siguieron durante seis meses 11364 seronegativos y 1265 seropositivos (anti-S o anti-N)

Hubo 223 PCR+ en seronegativos (100 asintomáticos y 123 sintomáticos, Incidencia de 1.09/100.000) y dos asintomáticos entre positivos (incidencia de 0.13/100.000). **Protección**

https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2034545?query=infected-disease	
Trabajadores sanitarios. Cohorte positiva 6614 (PCR+ o Ab+). Coorte negativa 14173 https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.01.13.21249642v1	44 positividadades en cohorte positiva (3,3/100.000/día) frente a 318 positividadades en cohorte negativa (PCR y/o seroconversión) (22.4/100.000/día). Protección del 84%
2,876,773 en cohorte negativa (seronegativos) y 378,606 en cohorte positiva. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.18.20248336v1	20% de serositivos seronegatividad en menos de 90 días. A los 90 días de seguimiento de cada paciente, los pacientes seropositivos tienen una probabilidad 10 veces menor de tener PCR positiva que ls seronegativos.
Se analiza incidencia en la segunda ola de alta incidencia en Austria de COVID-19 entre pacientes infectados en primera ola (14840) y no infectados (8885640) https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cci.13520	Se observó una incidencia 10 veces mayor en pacientes que no habían tenido contacto con SARS-Cov2. Hubo 40 reinfecciones.
Estudio en Dinamarca comparando incidencia de covid-19 en segunda ola entre pacientes infectados en primera ola (11068) o no infectados (514271) https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00575-4/fulltext	Hubo 72 reinfecciones (0,65%) y 16819 primoinfecciones (3,27%), lo que supone un 80% de protección. En mayores de 65 años la protección fue menor, del 47,1%. No se encontraron diferencias en la protección observada a los 3 meses de seguimiento o a los 7 meses, por lo que parece que la pérdida de la protección se limita a un grupo de infectados, que aumenta con la edad.

MECANISMOS DE EVASIÓN DEL VIRUS DE LA RESPUESTA INMUNE

- **Alteración en la producción o señalización de IFN-I.** Los coronavirus son especialmente sensibles al Interferón Tipo-I, por lo que la presión selectiva sobre estos ha sido la responsable del desarrollo y proliferaciones de CoV con capacidad para limitar la respuesta inmune innata y permitir su replicación intracelular. Por ello han aparecido diferentes mecanismos que bloquean la señalización del receptor de IFN y/o inhibiendo productos de genes específicos estimulados por IFN y/o dificultando el reconocimiento del RNA viral por PRRs citosólicos.
- **Alteraciones en la función de células dendríticas.** La infección por SARS-CoV-2 puede reducir en algunos casos la expresión de HLA en las células dendríticas y los macrófagos, impidiendo así su correcto funcionamiento y reduciendo por tanto la presentación de antígenos a los linfocitos T. No se conoce si este fenómeno tiene relación con la gravedad del cuadro clínico
- **Variantes virales.** Como todos los virus RNA los betacoronavirus mutan por una falta de fidelidad de la RNA polimerasa. Sin embargo la longitud del virus hace que haya mecanismos que aumentan la fidelidad de la copia del RNA, por lo que los betacoronavirus mutan menos que otros virus RNA. Se ha seguido desde el inicio de la pandemia y la publicación de la secuencia el 11 de enero del año 2020 la evolución de la secuencia del virus, observando como aparecían variantes que han sustituido a la variante Wuham por tener ventajas evolutivas y son seleccionadas. Pronto apareció la variante B1, en donde se fijó el cambio D614G (Asp⁶¹⁴-a-Gly). Se acuñó el término VOC (variant of concern) en donde una variante aumenta rápidamente su incidencia y las mutaciones que presenta permiten sospechar una posible evasión de los anticuerpos preformados (en primoinfección o tras la vacunación). Estas variantes se denominan Linajes, si se expanden en una determinada localidad. Actualmente hay tres variantes que preocupan a la comunidad científica (ver Tabla) ya que contiene mutaciones en el dominio RBD que le puede hacer resistente a anticuerpos vacunales o provenientes de la primoinfección. Destaca el hecho de que hayan aparecido mutaciones comunes en poblaciones no relacionadas, fenómeno que se denomina evolución convergente, en donde hay cambios que mejoran transmisión o resistencia a respuesta inmune, como los cambios en los aminoácidos 501, 484 y 417. Se confía en que esta evolución convergente sea debida a que no se pueden aceptar cambios diferentes sin que disminuya capacidad de transmisión y que el ritmo de aparición de nuevas variantes de preocupación disminuya.

Nombre	B1.1.7 (501Y.V1)	B1.351 (501Y.V2)	P1 (501Y.V3)
País en el que se ha identificado	Reino Unido	Sudáfrica	Brasil
Mutaciones	23	21	17
Mutaciones en "Spike)	8	9	10
Mutaciones relevantes en dominio RBD	Delección E69/70, P681H, del 144Y, N501Y, A570D	K417N, E484K, N501Y	K417T, E484K, N501Y
Otras mutaciones relevantes en spike	T716I, S982A, D1118H	L18F , D80A, D215G, del 2542-244, R264I, A701V	L18F , T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y, T1027I
Otros genes mutados que parecen relevante		Delección en Orf1	Delección en Orf1
Trasmisibilidad	>50%	No establecida	Parece más alta
Letalidad	>30% (datos preliminares)	Se desconoce	Se desconoce
Reconocimiento por anticuerpos que reconocen	Adecuada, leve reducción	Sustancial reducción	Reducción, aunque menor que B1.135

virus Wuhan (susceptibilidad a reinfecciones)			
Reconocimiento Ac generados con vacunas	<10% disminución con Novavax y AZ	64% eficacia J&J, no eficacia frente a infección leve/moderada con AZ	
Casos de esa variante en España	Más del 50%. Varía por comunidades	Escasa	Escasa

Reactividad cruzada de linfocitos T y anticuerpos frente a coronavirus estacionales.

- **Reacción cruzada de anticuerpos.** Se ha demostrado que hay anticuerpos anti-coronavirus estacionales (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63, and HCoV-HKU1) que dan reacción cruzada con Sars-Cov2. Estos anticuerpos no reconocen el dominio RBD, aunque sí pueden reconocer la proteína viral orf-1 y la proteína "spike", sobre todo en la subunidad S2. Aunque ello posibilitaría la neutralización de SARS-Cov2 (<https://science.sciencemag.org/content/370/6522/1339>) pudiendo participar en la efectiva respuesta de niños y adolescentes a la infección por Sars-Cov2, ya que tiene una mayor incidencia de infecciones por estos coronavirus estacionales. Sin embargo no parece frecuente la existencia de anticuerpos que neutralicen al mismo tiempo los coronavirus estacionales y SARS-Cov2, lo que no quiere decir que mutaciones de Bm anti-estacionales puedan reconocer sars-cov2 y tras la formación de un centro germinal, generar anticuerpos de mayor afinidad por sars-cov2 y con capacidad neutralizante (anticuerpos neutralizantes de amplia reactividad cruzada). Es un campo de investigación abierto ([https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(21\)00171-5/fulltext](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(21)00171-5/fulltext))
- **Reacción cruzada de linfocitos T.** Diversos estudios han puesto de manifiesto la existencia de linfocitos T anti-sars-cov2 en muestras de sangre extraída de pacientes antes de la pandemia. Ello no es raro dado que existe homología de secuencia entre con proteínas de coronavirus estacionales, tanto estructurales como no estructurales. Se está investigando si la presencia de estos linfocitos Tm que dan reacción cruzada pueden influir en el curso de la pandemia, por ejemplo generando una rápida respuesta T que impida el curso grave de la enfermedad. Estudios in silico han incluso postulado como existen epítomos T compartidos entre sars-cov2 y la vacuna DPT (<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.586984/full>)
- **Relación con gravedad.** Existen algunos artículos que sugieren que la exposición previa a coronavirus estacionales (endémicos) no influyen en la susceptibilidad frente a la infección, pero sí protegen frente al curso clínico grave de la enfermedad.

Posible papel de la ruptura de la tolerancia a elementos propios en el síndrome pos-COVID. Papel autoanticuerpos. Tal y como ya se ha comentado, el curso clínico grave se considera que es debido a una desregulación de la respuesta inmune. Una de las teorías que se baraja es que durante la infección, y probablemente ligado a la muerte de células por el virus y la inflamación secundaria, se pueden presentar por células dendríticas maduras complejos pMHC no presentes en timo y en donde el péptido proviene de proteínas humanas, rompiéndose la tolerancia y pudiendo aparecer autoanticuerpos que pueden jugar un papel en el denominado "COVID persistente" en donde se produce una lesión que puede ser de larga duración por su continua producción por células plasmáticas. Excepto los anticuerpos anti-IFN (<https://science.sciencemag.org/content/370/6515/eabd4585>) y antifosfolípidos (<https://stm.sciencemag.org/content/12/570/eabd3876.full>), el resto de artículos aparecen en revistas sin revisión por pares

Inmunopatología de COVID-19 grave

Biomarcadores ligados a presentación clínica grave en COVID-19.

1. **Influencia de edad, sexo.** La edad no es un factor que modifique la susceptibilidad a la infección, pero sí es un determinante de su gravedad. Hay varios factores que pueden jugar un papel en este tormentoso curso clínico. Con la edad se produce una inmunosenectud que se traduce en una disminución gradual de la respuesta inmune antiviral que parece relacionarse con una menor producción de IFN-I, menor número de células NK, un aumento en la mielopoyesis, SARS-Cov2 parece inducir una infección abortiva en células mieloides (sin replicación viral) pero que induce producción de citoquinas como IL-6, IL-10 o IP-10 (<https://www.jci.org/articles/view/144115>). Con la edad se produce un aumento de indicadores de inflamación en ausencia de infección cuyo origen parece multifactorial (infecciones virales crónicas, insuficiente eliminación de células en apoptosis, daño en el DNA, lebración de DNA y RNA mitocondrial, lo que induce un aumento de TNF crónico que dificulta la activación de linfocitos T y B, Ello implica que con la edad se produce una disminución en la producción de IFN que se acompaña con un aumento de secreción de citoquinas proinflamatorias y marcadores séricos de inflamación (IL-6, TNF, C-reactive protein, GM-CSF, D-dimer, ferritin, y MCP-3). Los varones tienen

- un curso más grave de la enfermedad con un riesgo de morir 1,7 veces superior. Hay diferentes elementos que pueden jugar un papel, la existencia de dos alelos en genes codificados en el cromosoma X, diferentes entorno hormonal lo que facilita una mayor aparición de centros germinales en mujeres.
2. **Análítica y comorbilidades como obesidad, hipertensión y diabetes. Predicción mortalidad.** Se han descrito comorbilidades que se asocian a una mayor morbilidad. Entre ellas destaca obesidad, diabetes, hipertensión en menores de 70 años, presencia de cáncer no hematológico de menos de un año de presentación, tumores hematológicos, insuficiencia renal, enfermedad respiratoria crónica, enfermedad cardíaca crónica, insuficiencia hepática, antecedentes de ictus, enfermedades neurológicas, trasplante de órganos e inmunosupresión (primaria o farmacológica). Las alteraciones de laboratorio que se asocian a mal pronóstico son leucocitosis (>12.000), neutrofilia, linfopenia, valores altos del cociente neutrófilos/linfocitos; trombocitopenia y concentración de Proteína C-reactiva por encima de 5 mg/L y dímeros-D >1 ug/ml. ([https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(20\)30431-6/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(20)30431-6/fulltext)) (<https://www.nature.com/articles/s41586-020-2521-4>).
 3. **Factores relacionados con el virus Relación entre carga viral y presentación clínica Mayor carga viral en el tracto respiratorio y saliva.** Aunque la viremia es poco frecuente (25% de pacientes hospitalizados y 10% en ambulatorios, parece asociarse con una mayor afectación pulmonar, linfopenia, y aumento de marcadores de inflamación, como proteína C-reactiva o IL-6, IL-10 y MCP-1. Por otra parte la carga viral en saliva parece correlacionarse positivamente con criterios de gravedad
 4. **Alteraciones en la coagulación y permeabilidad vascular; inmunotrombosis.** Aproximadamente 1/3 de los pacientes con COVID-19 grave tienen trastornos de la coagulación que conduce al consumo de factores de la coagulación, microangiopatía, trombocitopenia, elevación de dímeros-D y disminución de la concentración de fibrinógeno. Por ello los pacientes que requieren hospitalización reciben tratamiento para prevenir fenómenos trombóticos. La causa de esta situación parece ser multifactorial. De una parte las células endoteliales pueden ser infectadas por Sars-Cov2 ya que tienen el receptor ACE-2. En humanos las células endoteliales expresan MHC-II, pero no CD80/CD86, por lo que pueden hacer sinapsis efectiva con linfocitos T CD4+ efectores (además de CD8+ si infectada <https://www.nature.com/articles/s41577-020-0343-0>). Por otra parte la presencia de interleucinas proinflamatorias en la proximidad del endotelio induce procesos de coagulación (como en el shock séptico). Por otra parte se ha descrito la activación de la cascada del complemento, que también conduce a fenómenos trombóticos (hematuria paroxística nocturna). Incluso autoanticuerpos anti-fosfolípidos o la presencia de interleucinas induce la activación de neutrófilos que producen daño endotelial y la formación de trombos. La razón por la que existe en COVID-19 una elevada activación de complemento es también multifactorial. Además de la activación por vía clásica, puede haber activación de complemento por vía alterna en membranas celulares dañadas o en la denominada vía extrínseca en donde intervienen factores de la coagulación como trombina y plasmina, que rompen C3 y C5 de manera directa o tras la activación de calicreina. También se ha incluido postulado la activación de la vía lectina por un mecanismo aún no dilucidado. Cuando la concentración de C5a es superior a 10nM se produce un cuadro de hiperinflamación, donde los macrófagos producen un exceso de citoquinas y junto a las células endoteliales producen Factor Tisular, que induce cuadros de coagulación intravascular diseminada. (<https://www.jimmunol.org/content/205/6/1488.long>). La activación del complemento induce poros que pueden facilitar la liberación de DAMPs y la secreción de citoquinas antes de destruirse completamente la estructura y función de las células. Por otra parte la infección con sars-cov2 puede disminuir la función de ACE-2 de convertir Angiotensina-2 en angiotensina 1-7, permitiendo un aumento de la concentración de angiotensina, lo que puede estar implicado en el aumento de la permeabilidad vascular y en reclutamiento de neutrófilos (<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01714/full>)
 5. **Tormenta de citoquinas. Hiperinflamación.** Los enfermos de COVID-19 graves desarrollan un cuadro clínico denominado Síndrome de liberación de citoquinas (CRS) que se caracteriza por el rápido y sostenido aumento de más de 20 citoquinas y quimiocinas que conduce a Síndrome de Distrés respiratorio agudo (ARDS). De las 20 citoquinas secretadas, la IL-6 parece tener una especial relevancia aunque está menos elevada en COVID-19 que en otros cuadros hiperinflamatorios. Se ha descrito esta "tormenta de citoquinas" en otras situaciones (infecciones sistémicas bacterianas o virales, respuestas a suerantígenos, o tratamiento con CAR-T), pero tiene ciertas peculiaridades como el aumento de IL-10 o GM-CSF (<https://immunology.sciencemag.org/content/6/57/eabg9873>). En las situaciones en donde los macrófagos son los principales responsables tienen una alta concentración de IL-18 en sangre (activación de inflamósoma) y se suelen acompañar de hiperferritinemia, elevados niveles de aminotransferasa. El síndrome de liberación de citoquinas (tormenta de citoquinas) se caracteriza por una concentración elevada de interleucinas en sangre, síndrome inflamatorio sistémico agudo (afecta a órganos lejos de la infección), alteración de la función de algún órgano secundario (insuficiencia renal, hepática o pulmonar) debida a una inflamación superior a la que se puede considerar normal a la hora de eliminar un microorganismo o una alteración de un órgano por la presencia de citoquinas cuando no hay una infección aparente (grandes quemados). En resumen, la tormenta de citoquinas es una respuesta inmune que causa daño colateral que causa más daño del beneficio potencial de su puesta en marcha. Una respuesta inmune de gran magnitud ante una gran carga microbiana puede ser adecuada siempre que el daño en los órganos en donde se produce esa inflamación no sea excesivo. La respuesta hiperinflamatoria a microorganismos suelen tener defectos en la detección, del patógeno, en los mecanismos efectores o reguladores o en la resolución de la infección. Por ello se postula que el patógeno inicia un proceso que el sistema inmune innato o específico propaga en pacientes con una cierta predisposición genética. La correlación entre carga viral en saliva y la concentración de interleucinas en sangre (IFN-I, IFN-gamma y TNF) junto con la disminución de la carga viral en pacientes con un curso clínico leve/moderado pero no en graves, sugiere que existe un desbalance en el inicio de la infección (probablemente una incorrecta producción o respuesta a (IFN-I) que conduce a una elevada carga viral, una respuesta excesiva en la producción de citoquinas, cuadros de coagulación y daño celular que no son capaces de eliminar el virus pero sí de producir un cuadro de inflamación sistémica y fallo multiorgánico. Los fenómenos tromboembólicos son más frecuentes en COVID-19 que en otros cuadros de tormenta de citoquinas.
 6. **Linfopenia y neutrofilia.** En los cuadros de tormenta de citoquinas descritos no suele cursar con linfopenia (disminución de la concentración de linfocitos en sangre) a excepción de sepsis bacteriana. Sin embargo la linfopenia es un hallazgo constante en COVID-19, sobre todo en el curso grave de la enfermedad. Es un campo de intensa investigación demostrar a que se debe esta linfopenia, si a la inflamación sistémica y a la extravasación de linfocitos T en diferentes tejidos, o a la destrucción de linfocitos, bien por infección aberrante que induce apoptosis o bien por otros mecanismos que conduzcan a su destrucción (expresión de fas-L en macrófagos y fas en linfocitos T en situaciones de alta concentración de citoquinas o al efecto combinada de varias

interleucinas (IFN-gamma y TNF a altas concentraciones ([https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(20\)31542-7](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(20)31542-7))). Esta linfopenia hace que algunos autores sostengan que el mantenimiento de una alta carga viral en un entorno hiperinflamatorio (tormenta de citoquinas) se debe a la alteración en el número y función de linfocitos T, sosteniendo que el curso grave de COVID-19 tiene lugar por una inmunosupresión en el compartimento T (<https://insight.jci.org/articles/view/140329>) y al inicio de la infección (<https://www.nature.com/articles/s41467-020-19706-9>). También hay notables alteraciones en las células del sistema inmune innato y especialmente en monocitos, aumentando la concentración de los denominados no clásicos (CD14⁺ CD16⁺) que secretan GM-SCF e IL6. Las células dendríticas tienen alterada su capacidad de presentación antigénica posiblemente debido a una disminuida expresión de CD80, CD86 y MHC-II tras la continua exposición a estímulos.

Serie Blanca

Leucocitos	7.09	x10 ³ /uL		4.50- 11.00
Neutrófilos	4.02	x10 ³ /uL	(56.70 %)	1.80- 7.70
Linfocitos	2.25	X10 ³ /uL	(31.70 %)	1.00 - 4.00
Monocitos	0.61	X10 ³ /uL	(8.60 %)	0.00 - 0.80
Eosinófilos	0.14	X10 ³ /uL	(2.00 %)	0.00 - 0.50
Basófilos	0.07	x10 ³ /uL	(1.00 %)	0.00 - 0.20
Neutrófilos inmaduros	0.010	x10 ³ /uL	0.10 %	0.000- 0.100
Cociente granul. inm/ granul.t	0.002			0.000- 0.160

Tras intervención quirúrgica abdominal

Serie Blanca

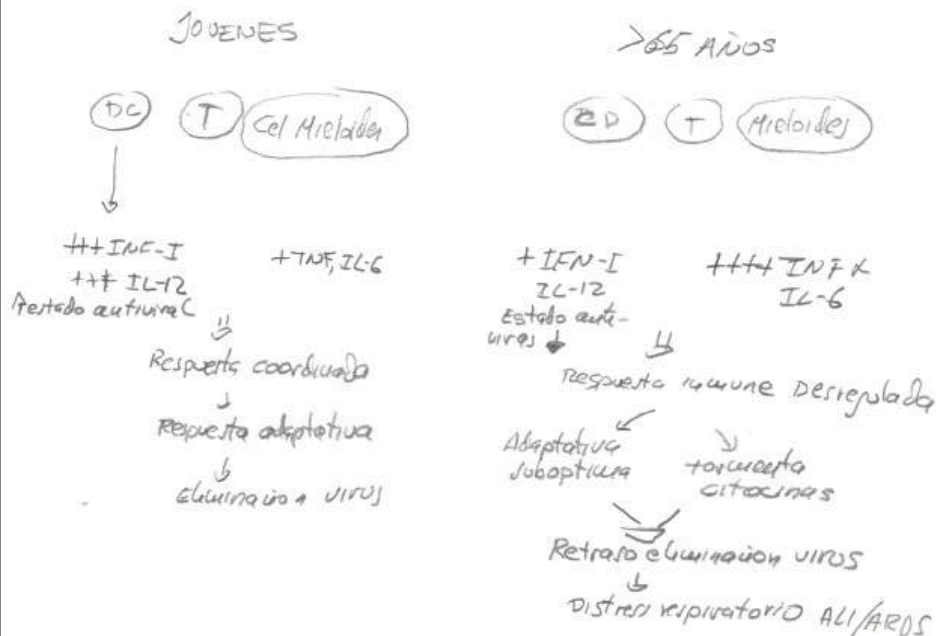
Leucocitos	*	12.42	x10 ³ /uL		4.50- 11.00
Neutrófilos	*	11.58	x10 ³ /uL	(93.20 %)	1.80- 7.70
Linfocitos	*	0.62	X10 ³ /uL	(5.00 %)	1.00 - 4.00
Monocitos		0.17	X10 ³ /uL	(1.40 %)	0.00 - 0.80
Eosinófilos		0.01	X10 ³ /uL	(0.10 %)	0.00 - 0.50
Basófilos		0.04	x10 ³ /uL	(0.30 %)	0.00 - 0.20
Neutrófilos inmaduros		0.060	x10 ³ /uL	0.50 %	0.000- 0.100
Cociente granul. inm/ granul.t		0.005			0.000- 0.160

Sin embargo la disminución de la concentración de linfocitos T en sangre ocurre también durante la cirugía abdominal, lo que puede indicar que la linfopenia que aparece en la infección por SARS-CoV-2 no es más que un reflejo de una alta inflamación secundaria a la destrucción de células en tejidos y liberación de DAMPs en pacientes incapaces de poder controlar la infección viral.

7. **Desregulación de la respuesta inmune en el COVID-19 grave.** La respuesta anti-viral no es capaz de eliminar el virus, manteniéndose una alta replicación viral. Progresivamente se produce una reducción en la concentración de linfocitos T en sangre y una elevación progresiva de interleucinas proinflamatorias (IL6, o TNF) o de fragmentos de fibrina (dímeros-d https://es.wikipedia.org/wiki/Dimero_D), lo que pone de relieve la aparición de trombosis quizá debida a daño endotelial directo o indirecto del virus. También se observa concentraciones elevadas de IL-10, que puede suponer un intento de compensar el incremento de otras interleucinas dado que IL-10 es una interleucina anti-inflamatoria. El aumento de concentración de las interleucinas pro-inflamatorias se correlaciona con la disminución de los linfocitos T totales, T CD8⁺ y TCD4⁺ (pudiendo demostrarse concentraciones inferiores a 800/ μ L (T tot, 300/ μ L TCD8⁺ μ L, o 400/ μ L TCD4⁺). No suele observarse inversión del cociente CD4/CD8. La disminución en linfocitos B no está presente en todos los pacientes y puede que la gráfica deba revisarse en un futuro. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.18.20024364v1>. Por otro aparte los linfocitos T presentes en el paciente parecen no ser capaces de secretar una adecuada cantidad de IFN-gamma y expresar marcadores de linfocitos T exhaustos, tales como OD-1 o Tim-3. La alteración en el número y función de linfocitos T no parece ligarse a la infección de estas células dado que no expresan el receptor ACE-2. <https://www.jci.org/articles/view/137647>. Un importante porcentaje de los linfocitos T CD4⁺ y TCD8⁺ presentes en sangre expresan el marcador de activación CD38 y HLA-II, llegando a representar el 12% de las células totales. Probablemente no sean todos ellos anti-SARS-CoV-2 y algunos sean Tm generados frente a otros antígenos que se activan por la presencia de una alta concentración de citoquinas. También aumentan la proporción de linfocitos T FH (CD4⁺CXCR5⁺ICOS⁺PD-1⁺) y de células plasmáticas presentes en sangre (CD3⁻CD19⁺CD27^{hi}CD38^{hi}). Probablemente los linfocitos T anti-SARS-CoV-2 jueguen un papel muy importante en la eliminación del virus sin que parezcan jugar un papel en la tormenta de citoquinas que hemos descrito.

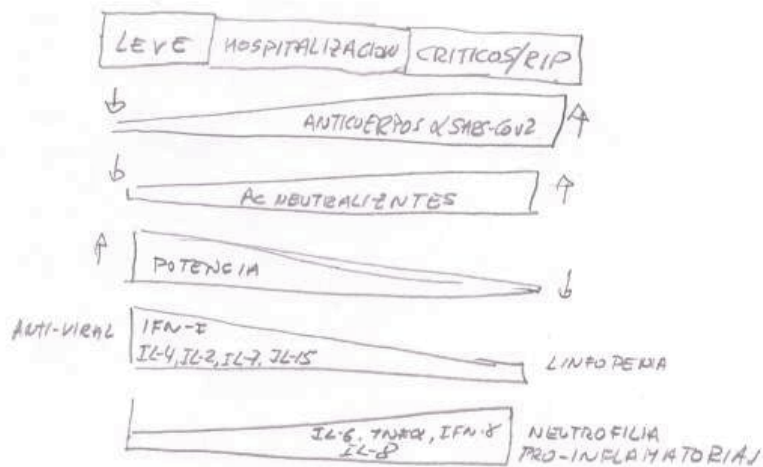
BIOMARCADOR	VALOR ASOCIADO A GRAVEDAD
[Linfocitos]	Disminuye en evolución. Linfoopenia asociada a mal pronóstico
Relación neutrófilo/LC N/L	N/L \rightarrow 3 evolución a gravedad
Proteína C-reactiva	Se relaciona con gravedad post/hospitalario (directa)
LDH	RELACION DIRECTA CON GRAVEDAD
Dímero-D	RELACION DIRECTA CON GRAVEDAD ASOCIADO A INTENTO MIOCARDIO
Proteína amiloide sérica (SAA)	Factor que facilita diagnóstico
Concentración plaquetas	P/L (razón plaquetas/LC) alto se asocia a mal pronóstico

En esta Tabla aparecen los datos de laboratorio asociados a mal pronóstico (covid-19 grave a fallecimiento). Destaca el valor pronóstico de la linfopenia, cuyo origen se desconoce y que aparece en sepsis bacterianas y en situaciones con gran daño celular no infeccioso (cirugía, quemados)



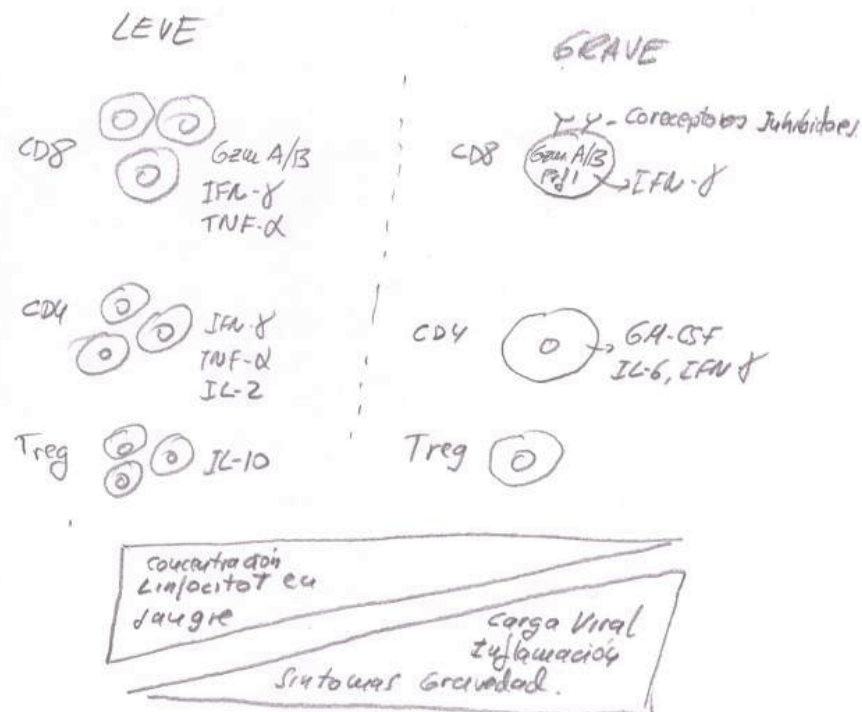
Tal y como se ha desarrollado la edad es un importante factor pronóstico. En >65 años se produce una respuesta desregulada a la infección en un porcentaje de pacientes con una respuesta inmune adaptativa subóptima, una retrasada producción de IFN-I y un exceso de producción de citoquinas proinflamatorias. Todo ello conduce a la permanencia del virus, un daño tisular mantenido que induce una mayor secreción de citoquinas por liberación de DAMPs

GRAVEDAD/EDAD

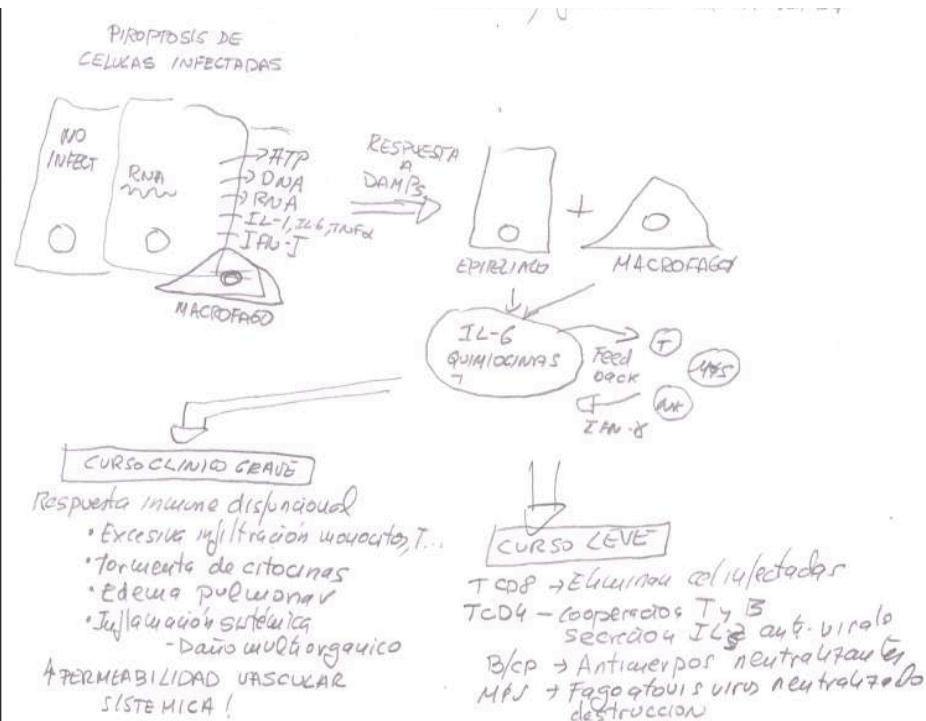


Esta imagen intenta reflejar la relación inversa entre concentración de anticuerpos neutralizantes y gravedad. Sin embargo se especula que en casos leves, los anticuerpos neutralizantes aparecen tempranamente y son de mayor potencia (afinidad y capacidad neutralizante). De nuevo se pone

de relieve el retraso en la producción de IFN-I en pacientes graves que se acompaña de linfopenia y neutrofilia



Se especula que los pacientes graves tienen una deficiente respuesta de linfocitos T, que conduce a una mayor carga viral y mayor daño tisular. En esta gráfica se sugiere que la deficiencia respuesta T afecta a diferentes poblaciones celulares efectoras



En esta imagen se pone de manifiesto la importancia que se está dando al exces de daño celular provocado por un retraso en la producción de IFN-I, una disfunción de la respuesta de linfocitos T (y quizás B) y un exceso de producción de citoquinas por células mieloides, sobre todo macrófagos/monocitos y neutrófilos. Todo ello conduce a alteraciones importantes en la coagulación y en la permeabilidad vascular (inmunotrombosis)

Tratamientos.

Es un tema complejo. Desde un punto de vista inmunológico es interesante señalar que en la fase en que respuesta inflamatoria del huésped es la que provoca el estrés respiratorio, se están haciendo ensayos clínicos de tratamiento con fármacos inmunosupresores tales como corticoesteroides, anti-IL6 o agentes bloqueantes de IL-1.

Por otra parte se están también haciendo ensayos con un fármaco anti-palúdico denominado hidrocloroquina. Su efecto parece que es al basificar las vesículas endocíticas y ello dificulta la fusión de membranas. Por otra parte se ha descrito que es un inhibidor de la activación de inflamósoma, al interferir con el flujo de iones y la salida de calcio.

También se están probando diferentes fármacos anti-virales

También se están probando tratamientos preventivos, que prevengan la infección en entornos de gran prevalencia de la infección (residencias de mayores, hospitales. Entre los candidatos se encuentra chloroquine, hydroxychloroquine, azithromycin, remdesivir, lopinavir/ritonavir, vacuna de bacille Calmette-Guerin (BCG) vaccine, zinc, vitamin D, Oxido Nitros inhalado o IFNα intranasal

VACUNAS

Aunque el virus tiene tres proteínas en la superficie, S, E y M, como utiliza S para unirse a ACE-2, las vacunas están dirigidas a la generación de anticuerpos anti-S con capacidad neutralizante. Al no existir ninguna experiencia con este virus, las predicciones sobre su protección y riesgos se basaron en los estudios realizados frente al virus SARS-CoV-1, que utiliza el mismo receptor ACE-2 y con el que tiene una homología del 80%.

Conocimientos relevantes que se obtuvieron de estas vacunas fueron <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/erv.09.43>

1. En modelos animales las vacunas probadas protegieron de la infección posterior, aunque a veces no se conseguía una inmunidad esterilizante (padecían una enfermedad con sintomatología lo que implica una protección incompleta)
2. Eran vacunas seguras en Fase-I sin grandes efectos secundarios.
3. Se detectan anticuerpos neutralizantes, si bien anticuerpos sin capacidad neutralizante también pueden jugar un papel en la protección
4. En vacunas de virus recombinantes se detectan linfocitos T antivirales que sobre todo parecen reconocer las proteínas N y M, aunque los estudios son bastante incompletos
5. La vía intranasal parece ser más eficaz que la intramuscular, probablemente por la generación de IgA en la luz del sistema respiratorio
6. Se ha descrito que los anticuerpos anti-S no neutralizantes pueden aumentar la infección de células que tengan receptores Fc-gamma (antibody dependent enhancement (ADE), aunque fueran descripciones esporádicas)
7. Se desconoce la duración de esta protección incompleta, aunque se conoce que la protección frente a coronavirus circulantes que no producen SARS (infección respiratoria grave) parece ser de corta duración (2-3 años) y no impide reinfecciones por el mismo virus después de ese periodo

Consideraciones relevantes para la vacuna frente a SARS-CoV-2

Debería sobre todo proteger a mayores de 60 años, que por la edad tienen un cuadro de inmunosenescencia y en el modelo de gripe se ha demostrado que deben tener mayores concentraciones de anticuerpos neutralizantes para estar protegidos

Lessons from covid.

Coronavirus estacionales

229E, OC43, NL63, HKU1

- Resfriados
- Replicación en el epitelio
- Respuesta evanescente con reinfecciones



SARS-CoV-2

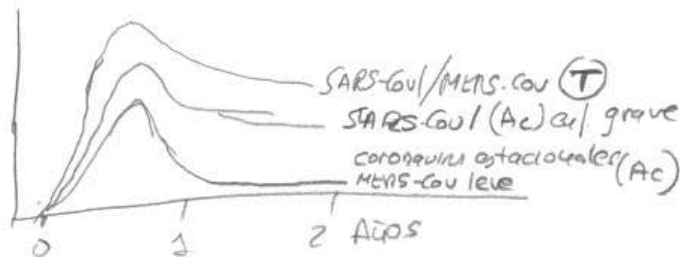
- Deseo asintomático a Distri Respiratorio
- Replicación todo tracto respiratorio
- Se desconoce duración



MERS-CoV

SARS-CoV-1

- Pneumonía grave
- Replicación todo tracto respiratorio
- Respuesta T duradera
- Respuesta Ac proporcional a gravedad



FASES EN APROBACIÓN DE VACUNAS.

1. Evaluación preclínica. Selección y purificación del antígeno/RNA/DNA. Ensayos in vitro. Experimentación animal analizando la respuesta inmune. Se suele evaluar el mecanismo de acción, evaluación toxicológica. Se puede soslayar en base a estudios con vacunas previas

Autoridades regulatorias autorizan Ensayo clínico en humanos

1. Fase I. Farmacocinética y farmacodinámica, seguridad, inmunogenicidad, y tolerabilidad en pequeño número de voluntarios (<100) (1 año en otras vacunas)
2. Fase II. Seguridad e inmunogenicidad en grupo de 100-1000 voluntarios. Evaluación de la eficacia (dosis óptima) e inmunogenicidad (2 años en otras vacunas)
3. Fase III. Seguridad, eficacia y balance riesgo/beneficio en grandes estudios con gran número de participantes. Evaluación de los correlatos de la protección si es posible. Proceso de producción del producto final. Son estudios controlados, aleatorizados y frente a placebo. Como alternativa se puede hacer un estudio con 25-100 participantes con bajo riesgo de morbilidad y alto riesgo de contagio a los que se infecta deliberadamente

Autoridades regulatorias aprueban su uso. Evaluación de coste/efectividad, Puesta en marcha de la vacunación

- Fase IV.- Farmacovigilancia (dos años) y efectividad. Evaluación de nuevas indicaciones

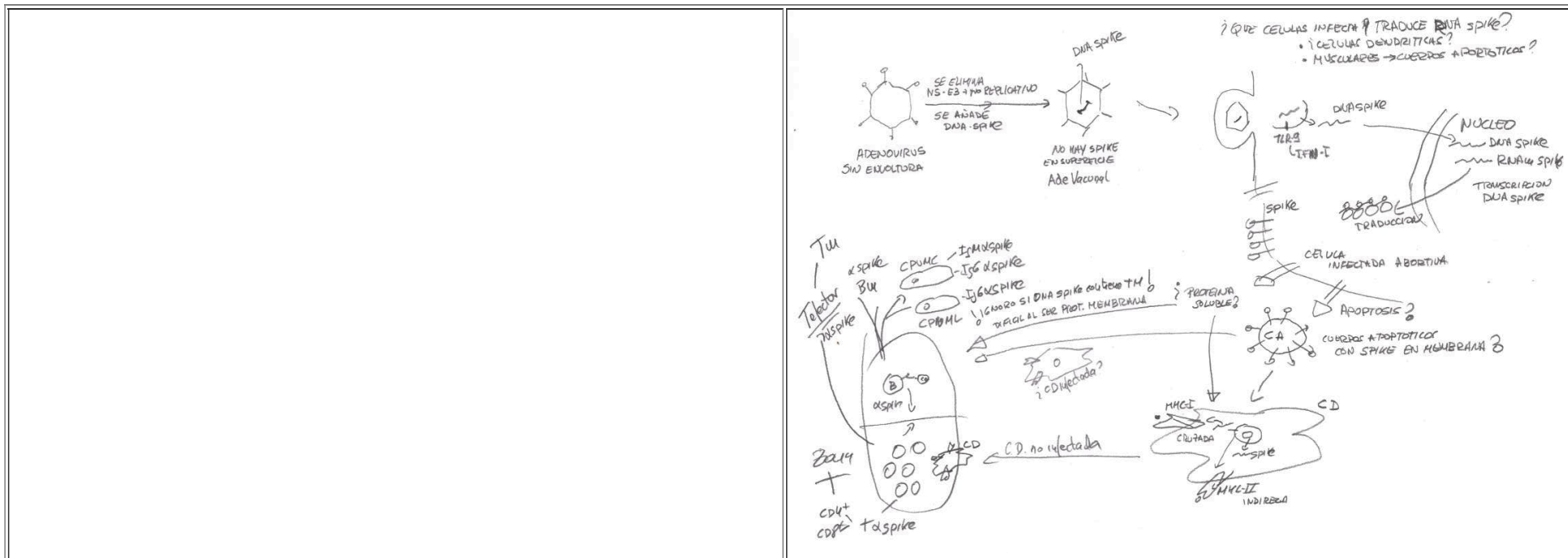
La eficacia vacunal (EV) es el porcentaje de reducción de la incidencia de la enfermedad en los vacunados respecto a los no vacunados. Una vez conocida la distribución de enfermos y no enfermos en el grupo de vacunados y en el de no vacunados, hay que comprobar si la tasa de incidencia de la enfermedad en los vacunados es inferior a la de los no vacunados, estimando el riesgo relativo (RR) como medida que relaciona ambas tasas de incidencia. Si la incidencia en el grupo de vacunados es I_v y en el no vacunados es I_{nv} , la eficacia vacunal (E) se estima mediante cualquiera de las siguientes fórmulas:

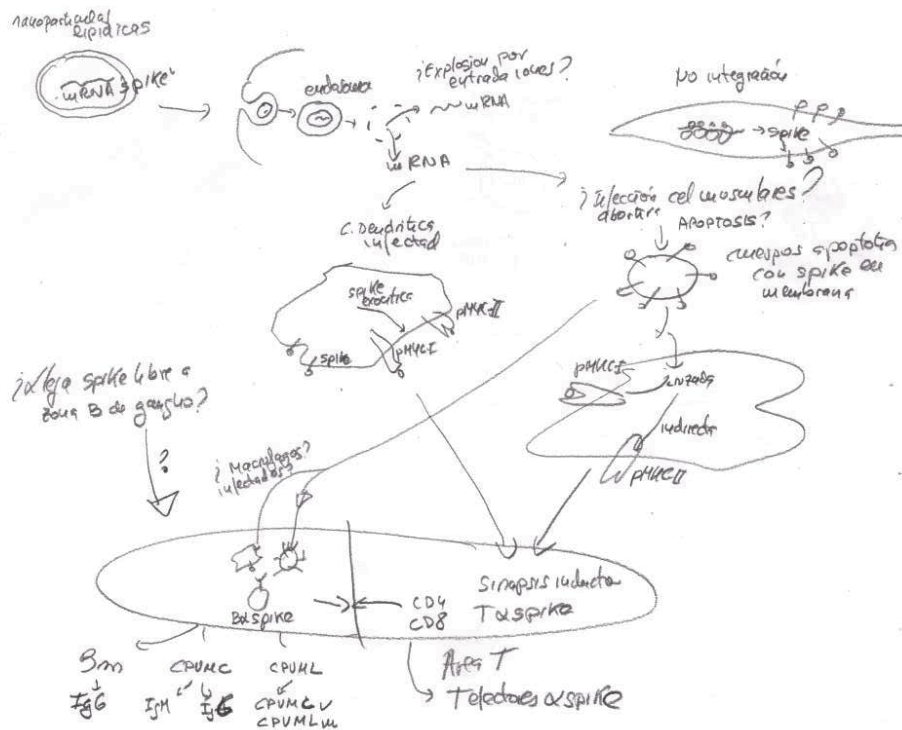
INMUNIDAD DE REBAÑO O GRUPAL. Muy bajo número de personas susceptibles y por ello el virus no se puede transmitir (baja probabilidad de contactos estrechos con susceptibles) Así se logra proteger a no vacunados. El porcentaje de población que debe vacunarse depende del número básico de reproducción y se estima que en SARS-Cov2 debe ser del 70% de la población.

Vacunas RNA. El RNA está en el interior de unas nanopartículas lipídicas que se inyectan en el brazo.	No replicativa. En principio el RNA es captado por células dendríticas de una manera directa o indirecta y puede activar tanto linfocitos B, como TCD4+ como TCD8+
DNA que codifica la proteína S en piel con un inyector.	No replicativa. En principio el RNA es captado por células dendríticas de una manera directa o indirecta y puede activar tanto linfocitos B, como TCD4+ como TCD8+
Vacunas de proteínas recombinantes (proteína S)	No replicativa. No se generan TH1 no TCD8+ anti-virales. Debe evaluarse si esta estrategia pueda favorecer la infección de macrófagos por receptores Fc-gamma y en algunos pacientes agrabar el cuadro clínico tras infección natural de vacunados (como en Dengue)
Vacunas inactivadas	No replicativas. Contienen todas las proteínas virales, geneando anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes
Vacuna de vectores (adenovirus) no replicativa (infecta pero no puede dividirse) que contiene la proteína S. o también de vectores un adenovirus de chimpancé que se replica de manera limitada en humanos	Vacunas que pueden infectar células y casi siempre replicarse. Permite la activación de linfocitos B, TCD4+ y TCD8+. Se puede introducir en el vector una o varias proteínas de SARS-CoV-2. La presencia de anticuerpos preformados contra el vector utilizado puede limitar la respuesta
Vacunas atenuadas. En SARS-CoV-1 la eliminación del gen E parecía inhibir la replicación viral	Replicativa y que contenga la mayor parte de las proteínas virales, además de PAMPs como el RNA viral. Dificultad en la manipulación y obtención y peligro de reversión a un estado virulento si se recombina con virus naturales

Compañía	Plataforma	Dosis	Resultados preclínicos	Número de personas que recibieron la vacuna	Protección frente a hospitalización o muerte	Eficacia frente a enfermedad moderada/ leve	Temp	Medida eficacia
Moderna	ARNm-1273. ARNm spike en nanopartículas lipídicas (wPEG) 100 ug	2 (28d)	Anticuerpos neutralizantes; fuerte respuesta Th1	15.000	100% (30 casos en grupo placebo; 0 casos en vacunados)	94.1% (11v/185nv). Sin datos frente a variantes. Sin cambios en B117	-20°	Sintomáticos 14 días tras segunda dosis
Pfizer	BNT162b2 ARNm spike en nanopartículas lipídicas (wPEG) 30 ug	2 (21d)	Anticuerpos neutralizantes; fuerte respuesta Th1 y respuesta Th2 limitada	43548	100% (9 casos en grupo placebo; 1 casos en vacunados)	95% de protección Escasa pérdida eficacia en sudafricana in vitro	-70°	Sintomáticos 7 días tras segunda dosis (8v-162 placebo). Israel 89% protección infección
Astra-Zeneca	AZD 1222 Adenovirus de chimpancé no replicativos	2 (4-)	Anticuerpos neutralizantes;	23848	100% (10 casos en grupo	70,4% en General	4°C	Sintomático 14 días tras

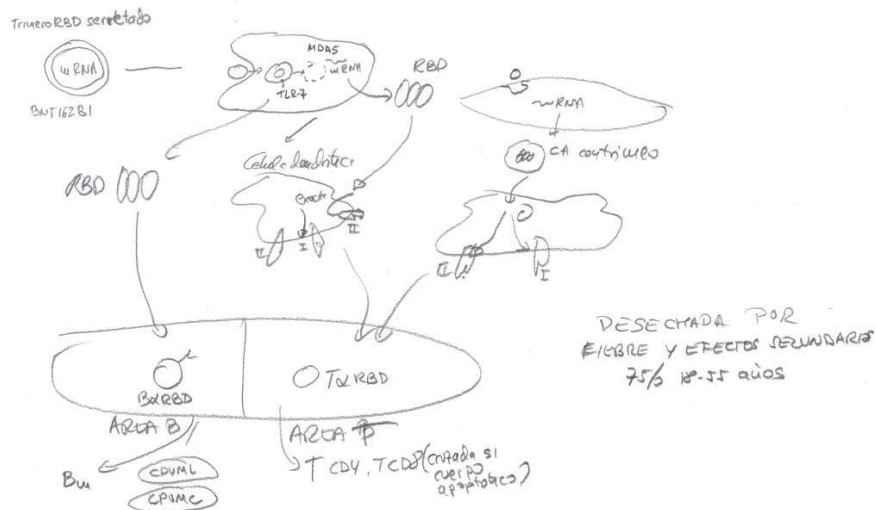
	ChAdOx1-Sn	12s)	fuerte respuesta Th1 y respuesta Th2 muy limitada		placebo; 0 casos en vacunados)	10-20% protección variante sudafricana. Leve descenso en variante B.1.1.7		segunda dosis. Asintomáticos 2-50% protección según dosificación
Johnson-Johnson	NJ-78436725 Adenovirus humanos Ad26 no replicativo. Introducción de dos prolinas (986 y 987) y alteración zona corte furina (682 y 685)	1	Anticuerpos neutralizantes; fuerte respuesta Th1 y respuesta Th2 limitada	43787	100% RIP 85% grave (39 casos en el grupo placebo y 5 casos en el grupo de vacunados 85% Protección variante sudafricana	72% en EEUU, 66% en Latinoamérica, 57% en Sudafricana	4°C	Eficacia en grave o moderada o leve 28 días tras dosis
Gamaleya (Sputnik V)	Ade26 en primera dosis y Ade5 en 2ª dosis	2	Anticuerpos neutralizantes; fuerte respuesta Th1 y respuesta Th2 limitada	11360	100%	91,4% Sin datos frente a variantes	4°C	
Novavax	Vvx-Cov2373 Proteína spike/RBD en adyuvante matriz M. Nanopartículas. Introducción de dos prolinas (986 y 987) y alteración zona corte furina (682, 683 y 685)	2 (21d)	Anticuerpos neutralizantes	9700	100% (incluso sudafricana B.1.135	89% UK 60-50% sudafricana Leve descenso en variante B.1.1.7		
Curevac	CVnCoV RNAm	2 (28d)	Fase II	La unión europea ha comprado 400 millones de dosis				
Sanofi-GSK	Subunidad de proteínas	2 (21d)	Fase-II	La unión europea ha comprado 300 millones de dosis				
Sinovac	Virus inactivado	2 (14d)	Fase-III	En modelos animales se detectan anticuerpos anti-RBD neutralizantes y anti-N no neutralizantes. No parece despertarse respuesta Th1 o Th2 ni T CD8+, por lo que no se generan Tm de estas inexistentes células efectoras				
Las mutaciones descritas en las variantes no parecen impedir reconocimiento T dado que no son aminoácidos reconocidos por linfocitos T anti-spike								



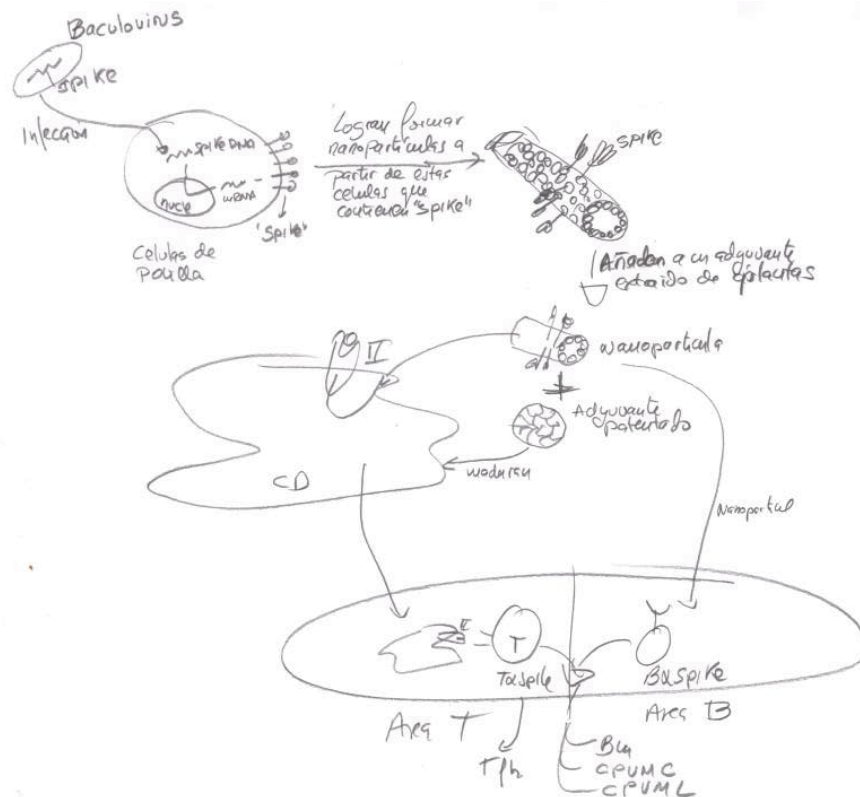


En las vacunas de adenovirus modificados se administra intramuscularmente un adenovirus al que se ha eliminado su capacidad de replicación y que puede infectar de manera abortiva diferentes estirpes celulares. Como es un virus DNA sin envoltura los virus NO expresan la proteína spike en su superficie. Su producción solo se realiza en células infectadas en donde el DNA de spike es transportado a núcleo, transcrito a RNAm y traducido a proteína. Tanto el DNA como el RNA puede ser reconocido por receptores vesiculares y citoplásmicos lo que induce la liberación de citoquinas, IFN-I y entrada en muerte celular. Las células dendríticas pueden ser infectadas por el virus o bien internalizar cuerpos apoptóticos. En ambas situaciones puede hacer sinapsis inductora con linfocitos T anti-spike tanto CD4+ como CD8+ (la vía exocítica permite la generación de ambos complejos pMHC así como la internalización de cuerpos apoptóticos). La llegada de spike a la zona B de bazo se puede hacer en forma de cuerpos apoptóticos o en la membrana de macrófagos que hayan internalizado el RNA. Por ello se pueden generar todas las células efectoras del sistema inmune específico. La segunda dosis permitirá la generación de CPVMLm.

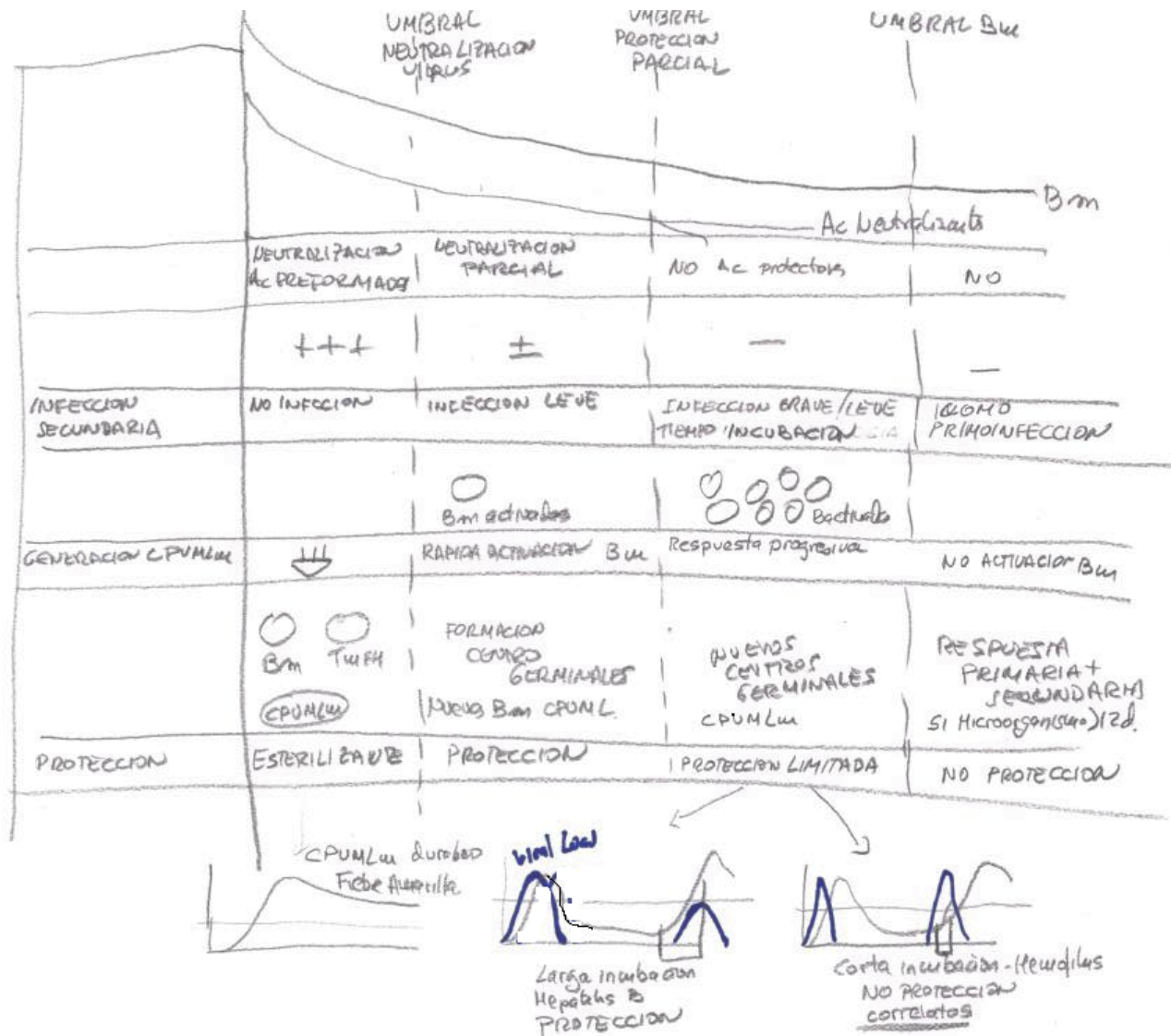
En las vacunas de RNAm se administra intramuscularmente una nanopartícula lipídica que es internalizada por endocitosis. Por un mecanismo no bien delimitado se libera a citoplasma el RNAm que codifica la proteína viral spike que se traduce en ribosomas de retículo endoplásmico por lo que se expresa la proteína en la membrana de la célula que ha internalizado la nanopartícula. El RNA es reconocido por PRR de vesícula y citoplasma lo que induce la producción de IFN y quizá la entrada en apoptosis de células susceptibles. Es posible que las células dendríticas endociten tanto la nanopartícula como cuerpos apoptóticos de células que lo hayan internalizado, haciendo la sinapsis inductora con linfocitos T anti-spike tanto CD4+ como CD8+ (la vía exocítica permite la generación de ambos complejos pMHC así como la internalización de cuerpos apoptóticos). La llegada de spike a la zona B de bazo se puede hacer en forma de cuerpos apoptóticos o en la membrana de macrófagos que hayan internalizado el RNA. Por ello se pueden generar todas las células efectoras del sistema inmune específico. La segunda dosis permitirá la generación de CPVMLm.



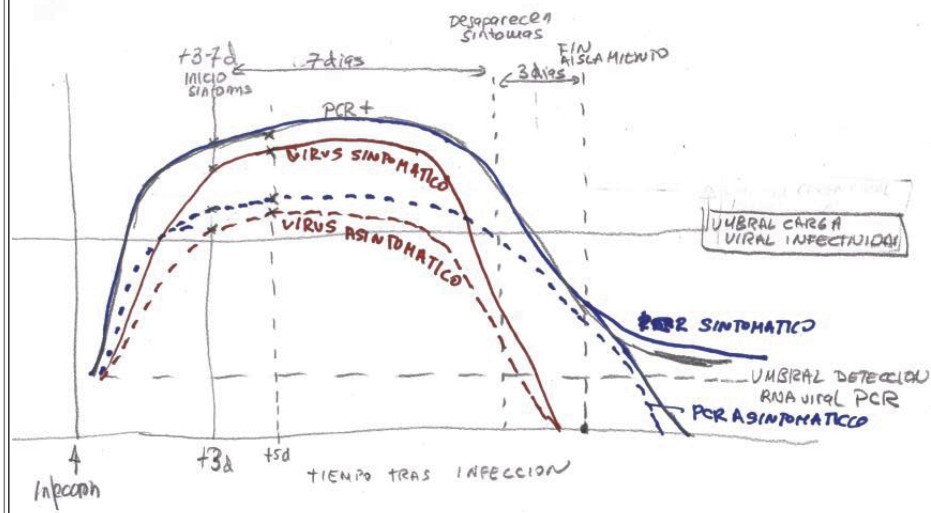
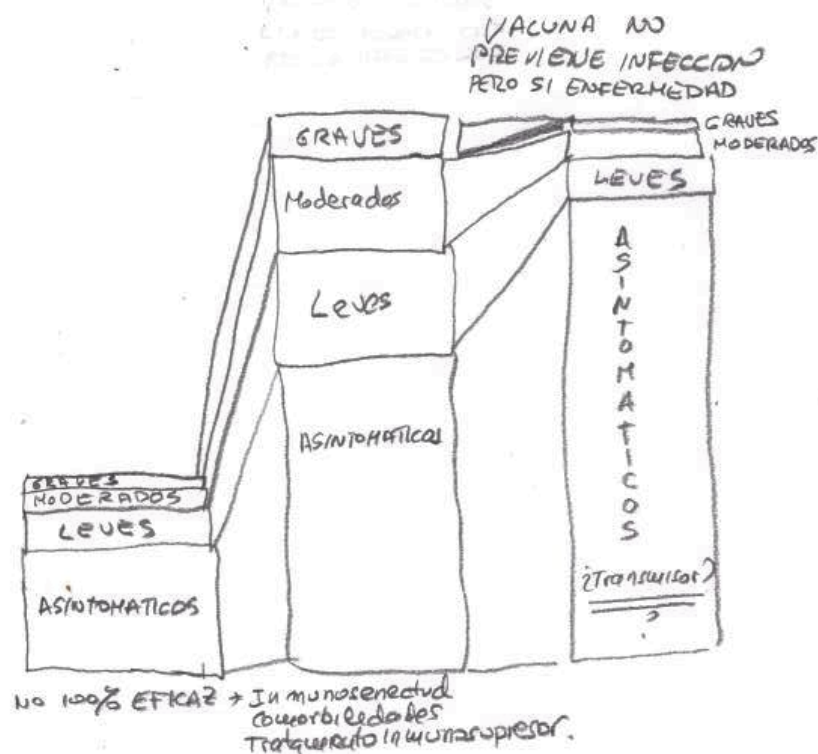
La casa comercial Pfizer ensayó también una vacuna de RNAm en donde el RNAm codificaba el dominio RBD que trimerizaba- En este caso la proteína podría llegar libre a ganglios y activar linfocitos B. Sin embargo esta vacuna tenía notorios efectos colaterales (fiebre) y fue desechada



La vacuna de proteínas próxima a su autorización forma una nanopartícula que se mezcla con un adyuvante derivado de plantas. La nanopartícula contiene una estructura con un elevado número de proteínas spike y está obtenida a partir de células eucariotes infectadas con un baculovirus al que se ha integrado DNA de spike. La nanopartícula puede ser internalizada por dendriticas que la procesan en forma de complejos pMHC-I y legar íntegra a la zona B de bazo. Con ello se pueden producir CPVMC, CPVML y Bm. En la segunda inmunización se produciría la generación de CPVMLm anti-spike



Tras la primoinfección o vacunaciones se generan CPVMLm que producen anticuerpos durante años. Sin embargo no todas las infecciones ni las cavunas son capaces de generar estas células en todos los pacientes. Es común que la concentración de anticuerpos vaya decreciendo. En algunas infecciones se ha logrado determinar la concentración de anticuerpos neutralizantes suficientes para prevenir el desarrollo de una segunda enfermedad clínica. En COVID-19 ese dato se ignora. En ocasiones (como en hepatitis B) la ausencia de anticuerpos neutralizantes detectables no implica susceptibilidad. Ello se debe al largo periodo de incubación de la enfermedad que permite que los linfocitos Bm generados con la vacuna (más longevos que las CPVMLm) se conviertan en CPVMLm y protejan de la enfermedad. Ello no ocurre en otras infecciones de periodo de incubación más corto en donde el tiempo que tardan los Bm en diferenciarse es suficiente como para que se desarrolle una enfermedad clínica.



En esta gráfica se muestra como en pacientes no vacunados, la infección asintomática parece ser menos transmisible, con menor cantidad de pacientes hipertransmisores y una menor carga viral, si bien son investigaciones difíciles de realizar. Lo esperable es que los individuos vacunados y que se infecten no tengan suficiente carga viral para ser transmisores.

También se ignora si las vacunas actualmente en uso impiden la infección o la enfermedad. Ello depende sobre todo de la concentración de anticuerpos alcanzada en mucosa respiratoria y los linfocitos Tme y Tmr que se localizan allí. Esta imagen refleja como las consecuencias de impedir infección o solo enfermedad es muy diferente, sobre todo si los pacientes asintomáticos y vacunados transmiten o no la enfermedad

Dosis por 100 habitantes (no inmunización con 2 dosis)

ISRAEL (NO PALESTINOS)	46%
EMIRATOS ARABES UNIDOS	27%
UK	12%
USA	9%
QUANARCA	4%
ESPAÑA	3%
MUNDO	0.8%

El ritmo de vacunación está siendo muy diferente en países. Entre los estados con mayor cobertura

vacunal está la población no palestina de Israel, Emiratos Arabes Unidos, Reino Unido y EEUU. Los países de la Unión Europea no supera el 3% (aunque hay excepciones al adquirir vacunas de forma no coordinada con el resto de estados miembros). Como media 1 de cada cien habitantes del mundo han recibido una dosis de vacuna.