

8. MARCADORS IMMUNOLÒGICS

Iñaki Salvador Corres (1), Francisco Morandeira Rego (1), Elisabet Poyatos Canton (2), Sergio Navarro Velazquez (2), Mario-Adan Framil Seoane (2)

(1) Especialista d'Immunologia. Facultatiu del Laboratori Clínic Territorial Metropolitana Sud.

(2) Especialista en formació d'Immunologia. Laboratori Clínic Territorial Metropolitana Sud.

1. SUBPOBLACIONS LIMFOCITÀRIES

Els limfòcits i les subpoblacions de cèl·lules T CD4+, T CD8+, B i NK juguen un paper important en el manteniment de la funció del sistema immunitari i en la defensa contra els patògens. L'equilibri entre aquestes cèl·lules, així com dels seus subtipus i la relació entre cèl·lules *naïve* i de memòria és crucial per mantenir una resposta immunitària eficient.

Breument, les cèl·lules T CD4+ estimulen a les cèl·lules B per tal que produeixin anticossos específics del virus, i les cèl·lules T CD8+ ataquen directament a les cèl·lules infectades pel virus.

Les cèl·lules *T helper* (CD4+) produeixen citocines que indueixen la inflamació i activen les cèl·lules defensores per tal de destruir els patògens. Entre elles, les de tipus Th1 i Th17 contribueixen a l'anomenada "tempesta de citocines" en les infeccions virals pulmonars. A més a més, els limfòcits amb funció citotòxica, com els limfòcits T citotòxics i les cèl·lules NK, són necessaris per al control de les infeccions virals i la seva funció exhausta està associada amb la progressió de la malaltia.

Després d'una infecció vírica, es produeix una alteració en el nombre total de limfòcits i les seves subpoblacions, i aquesta alteració varia en els diferents tipus de virus, la qual cosa indica una possible associació entre l'alteració del subconjunt de limfòcits i els mecanismes patogènics virals.

Estudis recents en pacients amb COVID-19 han indicat una clara disminució dels limfòcits en sang perifèrica, però les alteracions en les subpoblacions són menys evidents. S'ha vist la importància dels limfòcits T però no de les cèl·lules B en el pronòstic de la infecció. Els subtipus i estat funcional d'aquests limfòcits T continua sent majoritàriament desconegut.

La comprensió dels factors que afecten als limfòcits, en particular al recompte de limfòcits T, els subtipus T, el seu estat funcional i l'associació d'aquests amb la gravetat de la malaltia és important per al maneig clínic d'aquests pacients. A més a més, podria ajudar a comprendre la patogènesi i desenvolupar nous biomarcadors i estratègies terapèutiques per a la COVID-19.

Interpretació en el context COVID-19

Els pacients amb infecció per COVID-19 mostren una marcada limfopènia que afecta principalment als limfòcits T. Dins d'aquests, no existeix un consens sobre si els afectats són exclusivament els CD4, o també els CD8 (1-3). Els limfòcits T romanents mostren signes d'activació i de dèficit funcional (limfòcits exhausts) (4-6).

Alguns autors també han descrit canvis en els limfòcits B i NK però les evidències són escasses i incongruents (4,6,7).

La limfopènia observada en pacients amb COVID-19 és més acusada en els pacients amb curs clínic greu, afectant especialment a les cèl·lules T (8-10). Alguns estudis suggereixen que en aquests pacients hi ha una disminució més marcada en els CD8 que s'evidencia per un canvi en el quocient CD4/CD8 (4,6,7). Valors de limfòcits T totals, T CD4 i T CD8 inferiors a 800 cèl/μL, 400 cèl/μL o 300 cèl/μL respectivament estan relacionats negativament amb la supervivència (3). Valors de limfòcits T CD8 ≤ 75 cèl/μL són un gran predictor de mortalitat (11). Una explicació és la seva relació amb el desenvolupament de la síndrome de destret respiratori agut (SDRA) (9,12).

La restauració dels valors normals de subpoblacions limfocitàries és indicativa d'una bona resposta al tractament i recuperació del pacient (3,7).

L'estudi de subpoblacions limfocitàries (cèl·lules T CD4+, T CD8+, limfòcits B i cèl·lules NK) en sang perifèrica de pacients amb infecció per COVID-19 pot ser útil com a marcador pronòstic i de monitorització de la malaltia. L'estudi de marcadors d'activació també podria ajudar a identificar als pacients amb curs clínic més greu. Però aquest tipus d'estudis no estan disponibles de forma rutinària en la majoria de laboratoris, pel que el seu ús es circumscriu a la investigació.

Referències

1. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y et al. Dysregulation of Immune Response in Patients with COVID-19 in Wuhan, China. SSRN Electronic Journal. 2020 Mar 12. doi: 10.1093/cid/ciaa248.
3. Wu D, Yang XO, TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib, Journal of Microbiology, Immunology and Infection, <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.005>
2. Wang L, He W, Yu X, Hu D, Bao M et al. Coronavirus disease 2019 in elderly patients: Characteristics and prognostic factors based on 4-week follow-up. Journal of Infection. 2020 Mar 30 doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.019
4. Zhou Y, Fu B, Zheng X et al. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. National Science Review. 2020 Mar 13. doi: 10.1093/nsr/nwaa041

5. Thevarajan I, Nguyen T, Koutsakos M, Druce J, Caly L, van de Sandt C et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nature Medicine*. 2020;26(4):453-455.
6. Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Preprint. **doi:** 10.1101/2020.02.18.20024364
7. Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J Infect Dis*. 2020 Mar 30. doi: 10.1093/infdis/jiaa150.
8. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q et al. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020 Mar 12. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017.
9. Chen J, Qi T, Liu L, Ling Y, Qian Z, Li T et al. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *Journal of Infection*. 2020;80(5):e1-e6.
10. Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). Preprint. **doi:** 10.1101/2020.02.10.20021832
11. Du R-H, Liang L-R, Yang C-Q, et al. Predictors of Mortality for Patients with COVID-19 Pneumonia Caused by SARS-CoV-2: A Prospective Cohort Study. *Eur Respir J* 2020; in press (<https://doi.org/10.1183/13993003.00524-2020>).
12. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine* 2020 March 13. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994

2. CITOCINES

Al voltant del dia 7-10 després de l'inici dels símptomes, alguns pacients desenvolupen un empitjorament clínic relacionat amb l'alliberament descontrolat de citocines proinflamàtores (síndrome d'alliberament de citocines) per part de cèl·lules del sistema immunitari, principalment limfòcits i macròfags. Aquest procés està relacionat amb complicacions greus com SDRA i la coagulació intravascular disseminada. Les citocines proinflamàtores són també la diana d'alguns dels fàrmacs emprats per al tractament de COVID-19 com el tozilumab, l'anakinra i els inhibidors de les JAK quinases.

Diferents estudis han mostrat augments en les concentracions sèriques de IL-6, IL-10, IL2R (sCD25) i TNF α . Concretament les concentracions d'IL-2R i IL-6 en pacients amb COVID-19 es correlacionen positivament amb la gravetat de la malaltia. En canvi, altres citocines inflamatòries com la IL-1b i la IL-8 no mostren alteracions plasmàtiques.

Altres estudis han descrit augments en les concentracions plasmàtiques d'altres citocines (IL2, IL7, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A) en els pacients ingressats en unitats de cures intensives respecte als pacient amb un curs més moderat de la malaltia (3).

Interleucina-6 (IL-6)

La IL-6 és la única citocina que està sent emprada com a biomarcador de forma rutinària. Encara que presenti funcions leiotròpiques, és una citocina majoritàriament proinflamatòria. Estimula la producció de reactants de fase aguda pel fetge, indueix febre, estimula la producció de neutròfils a la medul·la òssia, afavoreix la síntesi d'anticossos en els limfòcits B i controla el desenvolupament i diferenciació de limfòcits Th17.

En els pacients amb COVID-19 s'ha observat un gran increment de la concentració plasmàtica d'aquesta interleucina en els casos greus de SDRA, que correlaciona amb la gravetat del pacient. A conseqüència del seu paper en aquesta malaltia, es planteja l'ús de l'anticòs **tocilizumab** (anti-receptor d'IL-6) per al tractament dels casos greus. El **tocilizumab** és un anticòs monoclonal que bloqueja la unió de la IL-6 al seu receptor. Aquesta unió bloqueja al seu torn la cascada de senyals. El bloqueig del receptor comporta un augment en les concentracions plasmàtiques de la citocina. Per tant, paradoxalment, un augment de les concentracions d'IL-6 no ha d'interpretar-se com una mala resposta al tractament.

Vegeu informació complementària en el document 3 (Marcadors d'inflamació).

Interferons

~~Tant~~ Els interferons de tipus I (IFN- α i β), tipus II (IFN- γ) i tipus III (IFN- λ), presenten un efecte antiviral. Desafortunadament, els de tipus I i II presenten a més a més capacitat per induir l'alliberament de citocines proinflamatòries de manera que el seu efecte pot ser deleteri. En canvi, l'IFN- λ activa els gens antivirals sense contribuir de manera significativa en l'alliberament descontrolat de citocines proinflamatòries. És per això que s'ha plantejat com una estratègia terapèutica pel tractament d'infeccions virals. De tota manera, actualment no es disposa de fàrmacs aprovats i la mesura de les concentracions d'aquesta citocina no estan a l'abast de la majoria de laboratoris.

Interleucina-1 β (IL-1 β)

La IL-1 β és una citocina proinflamatòria i un potent pirogen. Les seves concentracions sèriques son generalment indetectables fins i tot dins d'un context d'inflamació aguda, per tant el seu estudi no té utilitat en aquest context. L'**anakinra**, un antagonista de IL-1 β , pot emprar-se per tractar la tempesta de citocines causada per la infecció.

Receptor de la interleucina-2 (sCD25)

La IL-2 és un fort inductor de la proliferació de limfòcits T i B. Exerceix la seva funció mitjançant la unió al seu receptor (IL-2R o CD25s) que es localitza a la superfície dels

limfòcits. L'augment de les concentracions plasmàtiques de la forma soluble d'aquest receptor (sCD25) és un dels criteris del laboratori emprats per al diagnòstic de la síndrome hematofagocítica. Tot i que encara no es disposa d'una quantitat suficient de biòpsies com per assegurar que els pacients amb infecció greu per COVID-19 presenten síndromes hematofagocítics, sí que s'ha demostrat un augment significatiu de les concentracions plasmàtiques.

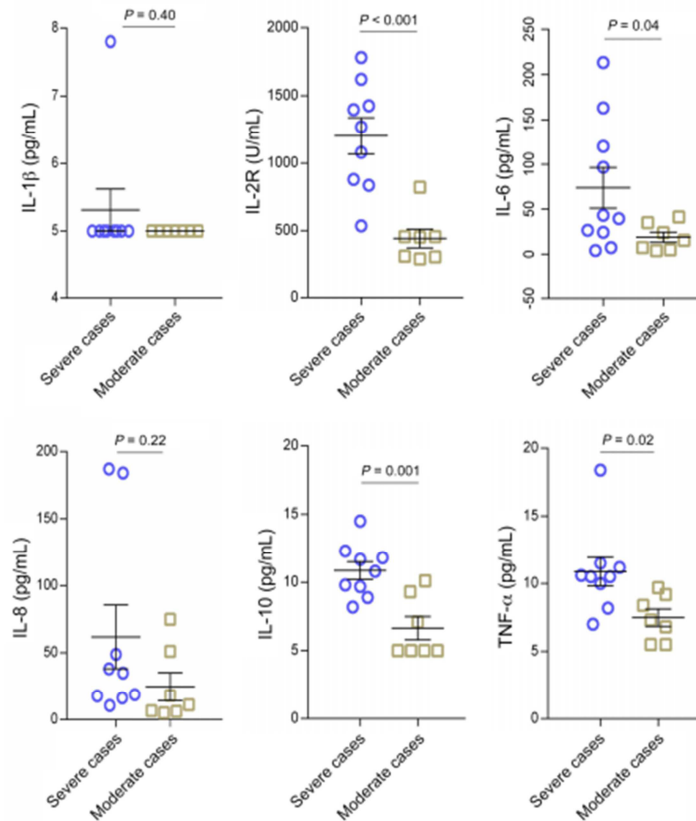


Figura 1. Sèrie de comparacions de les concentracions plasmàtiques de citocines entre casos COVID-19 greus (n=9) i casos moderats (n=7) . Dades: mitjana +/- SEM. Prova: t-student 2 sided. Cheng G et. al (2020)

Bibliografia

1. Cheng G et. al. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest.* 2020 1;130(5):2620-2629. doi: 10.1172/JCI137244.
2. Li X, Xu S, Yu M et. al. (2020). Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 in patients in Wuhan. *J Allergy Clin Immunol.* 2020 Apr 12. pii: S0091-6749(20)30495-4. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.006.
3. Huang C, Wang Y, Li X et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395(10223):497-506.
4. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020 Apr 10. pii: S0163-4453(20)30165-1. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037

3. PROVES D'AUTOIMMUNITAT

Els casos greus d'infecció per COVID-19 presenten concentracions elevades de ferritina i poden desencadenar coagulació intravascular disseminada (CIVD). Aquestes troballes poden recordar el quadre clínic de la síndrome antifosfolípid catastròfic. Encara que aquesta analogia pugui ajudar a la comprensió i al maneig de la malaltia, és important remarcar que es tracta d'una malaltia diferent. La determinació d'anticossos anti-fosfolípids o altres marcadors d'autoimmunitat (anticossos anti-nuclear (ANAs), anticossos anti-antígens extraïbles del nucli (ENAs), factor reumatoide...) no estan justificades.