

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA**  
**“ALBERTO CAZORLA TALLERI”**



**FENOTIPIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE  
LINFOCITOS T DE MEMORIA EN CASOS DE INFECCIONES PREVIAS  
POR/O VACUNACIÓN CONTRA SARS-COV-2 E INFECCIONES AGUDAS  
SUBSECUENTES POR *PLASMODIUM VIVAX* O LA SECUENCIA INVERSA  
EN LA REGIÓN LORETO**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
BACHILLER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOLOGÍA**

**AUTOR:**

ALONSO HERNÁN CRUZ ECHEVARRÍA

**ASESORA:**

DRA. KATHERINE JESSICA TORRES FAJARDO

**LIMA - PERÚ**

**2022**

Resumen de coincidencias

10 %

1	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	1 %
2	www.ebmedicine.net Fuente de Internet	1 %
3	saludbydiaz.com Fuente de Internet	1 %
4	doku.pub Fuente de Internet	1 %
5	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1 %
6	Entregado a Universida... Trabajo del estudiante	<1 %
7	search.bvsalud.org	<1 %

Facultad de Ciencias y Filosofía "Alberto Cazorla Talleri"

**Título:** Fenotipificación y cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T de memoria en casos de infecciones previas por/o vacunación contra SARS-CoV-2 e infecciones agudas subsecuentes por *Plasmodium vivax* o la secuencia inversa en la región Loreto

**Trabajo de investigación para optar por el grado de bachiller en ciencias con mención en biología**

**Autor:** Alonso Hernán Cruz Echevarría

**Asesora:** Dra. Katherine Jessica Torres Fajardo

## Contenido

<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	3
<b>ESTADO DEL ARTE</b> .....	5
I.    Generalidades de las enfermedades	5
a.    Características de SARS-CoV-2 COVID-19 y <i>Plasmodium vivax</i> malaria	5
b.    Relación epidemiológica global entre la incidencia y mortalidad por SARS-CoV-2 y <i>Plasmodium</i>	7
c.    Relación epidemiológica local entre la incidencia y mortalidad por SARS-CoV-2 y <i>Plasmodium</i>	8
II.   Inmunidad adaptativa mediada por linfocitos T en COVID-19 y malaria	8
a.    Respuesta inmunitaria efectora mediada por linfocitos T	9
i.    Respuesta inmunitaria efectora mediada por linfocitos T en COVID-19	9
ii.   Respuesta inmunitaria efectora mediada por linfocitos T en malaria	10
b.    Respuesta inmunitaria de memoria mediada por linfocitos T	11
i.    Respuesta inmunitaria de memoria media por linfocitos T en COVID-19	11
ii.   Respuesta inmunitaria de memoria media por linfocitos T en malaria	11
III.  Inmunidad heteróloga	12
a.    Desgaste de la memoria inmunológica	12
b.    Reactividad cruzada de la memoria inmunológica	13
<b>PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	14
<b>ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	17

**Referencias bibliográficas** ..... 19

**Anexos** ..... 25

## Resumen

El historial de exposición a patógenos no relacionados es capaz de modificar la memoria protectora patógeno-específica almacenada en linfocitos activados. En infecciones consecutivas por *Plasmodium* y otros virus se reportó efectos positivos y negativos contra la memoria inmunitaria establecida por una infección natural o vacunas. En infecciones subsecuentes por virus de vaccinia, coriomeningitis linfocítica y hepatitis murina se observa el desgaste de la memoria específica contra *Plasmodium berghei* asociada con la pérdida de linfocitos T CD8<sup>+</sup>. Por otro lado, se observó que la infección previa o coinfección con *Plasmodium* suprime patologías inducidas por virus Chikungunya, reduciendo la inflamación de las articulaciones y viremia que produce.

Las regiones endémicas de malaria muestran una menor incidencia y mortalidad por SARS-CoV-2. Se hipotetiza que poblaciones con historial de exposición a malaria tendrían inmunidad natural contra COVID-19. La diferenciación, activación y expresión de co-inhibidores de linfocitos T se ha comparado entre monoinfecciones de SARS-CoV-2 y *Plasmodium falciparum*. Sin embargo, aún no existe información sobre SARS-CoV-2 en monoinfecciones o infecciones consecutivas por *Plasmodium vivax*, especie dominante en Latinoamérica.

En el contexto local, Loreto es afectado por malaria y COVID-19; en esta región se concentra la más alta incidencia y prevalencia de infecciones por *P. vivax* y se registró tasas de incidencia, mortalidad y letalidad por COVID-19 inferiores al contexto nacional. En esta población se evaluará el efecto de infecciones por *P. vivax* subsecuentes a una infección por/o vacunación contra SARS-CoV-2 y la secuencia inversa en la presencia de subpoblaciones de linfocitos T de memoria. Esta exploración de la inmunidad heteróloga de *P. vivax* y SARS-CoV-2 expandirá el conocimiento sobre la interacción entre infecciones parasíticas y virales respiratorias. En específico se caracterizará, de existir, la

inmunomodulación de la respuesta inmunitaria contra *P. vivax* en quienes padecieron una infección previa por/o se vacunaron contra SARS-CoV-2 y viceversa.

Palabras claves: inmunomodulación, *P. vivax*, SARS-CoV-2, linfocito T, memoria

## **Abstract**

The history of infections to unrelated pathogens can modify the protective pathogen-specific memory stored in activated lymphocytes. In consecutive infections by *Plasmodium* and other viruses positive and negative effects against the immune memory established by natural infection or vaccines was reported. In subsequent infections by vaccinia virus, lymphocytic choriomeningitis and murine hepatitis an exhaustion of the *Plasmodium berghei*-specific memory was associated with the loss of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes. On the other hand, a previous infection or coinfection with Plasmodium suppresses pathologies induced by the Chikungunya virus reducing joint inflammation and viremia produced.

Malaria-endemic regions report a lower incidence and mortality by SARS-CoV-2. It is hypothesized that populations with a history of longstanding exposure to malaria would have natural immunity against COVID-19. The differentiation, activation, and expression of co-inhibitors of T lymphocytes has been compared between mono infections of SARS-CoV-2 and *Plasmodium falciparum*. Nonetheless, no information about SARS-CoV-2 and mono infections or consecutive infections by *Plasmodium vivax*, dominant species in Latin America, have yet to be published.

In the local context, Loreto is affected by malaria and COVID-19 and in this region is where the highest incidence and prevalence of *P. vivax* infections is registered and lower than national averages of incidence, mortality and lethality by COVID-19 were registered. In this population the effect of *P. vivax* infections after an infection by or vaccination against SARS-CoV-2 and the reverse sequence on the presence of memory T lymphocyte subpopulations will be evaluated. This exploration of the heterologous immunity between *P. vivax* and

SARS-CoV-2 will create new knowledge about the interaction between parasitic and respiratory viral infections. Specifically, if it exists, the immunomodulation of the immune response against *P. vivax* in whom have suffered a previous infection by or have been vaccinated against SARS-CoV-2 and vice versa will be characterized.

Keywords: immunomodulation, *P. vivax*, SARS-CoV-2, T lymphocyte, memory



## ESTADO DEL ARTE

### I. Generalidades de las enfermedades

#### a. Características de SARS-CoV-2 COVID-19 y *Plasmodium vivax* malaria

La COVID-19, enfermedad del coronavirus 2019, se propagó desde Wuhan, China hacia el resto del mundo desde diciembre del 2019. La Organización Mundial de la Salud, OMS, reporta en el mundo 418,650,474 casos y 5,856,224 fallecidos por COVID-19 hasta el 18 de febrero del 2022 (1).

El agente etiológico de la COVID-19 es el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 que pertenece al género  $\beta$ -coronavirus de la familia *Coronaviridae*. El virus se relaciona a otros coronavirus de origen zoonótico que causan el síndrome respiratorio agudo grave, SARS-CoV-1 y MERS-CoV (2).

La transmisión viral de SARS-CoV-2 es por inhalación de aerosoles por la cavidad oral y nasal. En breve, el ciclo viral implica: 1) la adhesión al epitelio respiratorio mediante el reconocimiento de la enzima convertidora de angiotensina 2, ACE2, por la glicoproteína S; 2) la fusión de la membrana viral y celular dependiente de la proteasa transmembrana de serina tipo 2, TMPRSS2, de la célula diana; 3) liberación del genoma viral y rondas ininterrumpidas de replicación y transcripción; y 4) ensamblaje y secreción de nuevos viriones (3).

El virus permanece en el tracto respiratorio superior 1-2 días durante la fase asintomática y se desplaza durante la fase sintomática hacia el tracto respiratorio inferior del día 2-14. Bennet et al. (2021) reportan que los síntomas más comunes de la COVID-19 son fiebre, tos seca, fatiga y pérdida de apetito; y que las comorbilidades más comunes son hipertensión, enfermedades cardiovasculares, enfermedades endocrinas y diabetes (4). En adición, los resultados clínicos adversos más comunes son el síndrome de distrés respiratorio agudo, lesión cardíaca aguda y lesión renal aguda; 16.3% de los infectados

necesitan ser admitidos a cuidados intensivos y 11.7% requieren ventilación mecánica (4).

Por otro lado, la malaria es una enfermedad crónica cuya erradicación ha estado presente en la agenda de la OMS desde la asamblea en México 1955. En el reporte mundial de la malaria del 2020 se registran 229 millones de casos y 409 mil fallecidos (5).

La malaria humana es causada por la infección de parásitos hemáticos del género *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi*. La malaria es endémica de regiones tropicales y subtropicales con *P. falciparum* distribuida en África y *P. vivax* en América latina y el sudeste asiático. La triada palúdica alude a la manifestación clásica de la malaria: fiebre, escalofríos y sudoración, que en la *P. vivax* malaria no complicada es acompañada por otros síntomas inespecíficos como: cefalea, mialgia, vómitos y fatiga. De no ser controlada progresa a malaria severa que se caracteriza por la manifestación de anemia, ictericia y distrés respiratorio (6).

El ciclo de vida heteroxeno de *Plasmodium* engloba la fase exo-eritrocítica y eritrocítica en el hospedero vertebrado y la fase esporogónica en el mosquito vector. El esporozoito, el estadio infeccioso que reside en las glándulas salivales de mosquitos *Anopheles* hembra, es inoculado durante la hematofagia. El ciclo exo-eritrocítico comprende la migración del esporozoito, invasión de hepatocitos, maduración de esquizontes y liberación de merozoitos a la circulación durante el día 9 al 16 de la infección. En el ciclo de vida de *P. vivax* y *P. ovale* existe un estadio latente de hipnozoito que persiste en el hígado y causa relapsos. El ciclo eritrocítico engloba la invasión de eritrocitos y la maduración de trofozoítos que mantengan la esquizogonia o la diferenciación a gametocitos en menor proporción. En el caso de *P. vivax* existe un estricto tropismo por reticulocitos. El ciclo esporogónico comprende la formación del cigoto, la maduración a

ooquinetos y el desarrollo de ooquistes cuya ruptura libera esporozoitos que migran a la glándula salival en el mosquito (6).

b. Relación epidemiológica global entre la incidencia y mortalidad por SARS-CoV-2 y *Plasmodium*

El primer brote epidémico por el virus SARS-CoV-2 se asoció con el mercado mayorista de productos marinos de Wuhan en la provincia de Hubei, China. La diseminación de la COVID-19 se intensificó en los próximos meses hasta ser calificada como pandemia por la OMS el 11 de marzo del 2020. Por otro lado, la malaria es endémica de regiones tropicales y subtropicales de África subsahariana, Latinoamérica y el sudeste asiático. En India se reportó el primer caso de coinfección por SARS-CoV-2 asociada a un relapso de *P. vivax* malaria en un varón de 55 años (7).

En este panorama se observa una asociación negativa entre la incidencia de malaria y la incidencia y mortalidad por COVID-19 comparando entre países y regiones. Goswami et al. (2021) reportan que el riesgo de contraer la COVID-19 es 2.122 y 11.069 veces mayor en regiones libres de malaria en comparación a regiones de baja a moderada transmisión y alta transmisión respectivamente (8). En adición, Napoli et al. reportan que el registro histórico de las epidemias de SARS-CoV y MERS-CoV revela limitada o inexistente diseminación de estos desórdenes en regiones endémicas de malaria. El registro del primer trimestre de la pandemia de SARS-CoV-2 refleja patrones epidemiológicos similares de limitada transmisión en regiones endémicas de malaria (9). En este sentido, se ha reportado la correlación negativa entre mortalidad por COVID-19 y prevalencia de malaria en base a datos hasta mayo del 2021 (10).

c. Relación epidemiológica local entre la incidencia y mortalidad por SARS-CoV-2 y *Plasmodium*

En relación con el contexto de la pandemia de COVID-19 en el Perú el Ministerio de Salud reportó el primer caso el 6 de marzo del 2020, y a la fecha se han reportado 3,363,489 casos con 206,984 fallecidos hasta el 18 de febrero del 2022 (11). La amazonia es un foco de malaria en el mundo. En el departamento de Loreto se concentraron el 84.69% de infecciones de malaria del Perú en el 2021. Cabe resaltar que en el Perú a diferencia de la situación global en dónde participan 5 especies de *Plasmodium* patógenas para humanos, el 81.29% de infecciones durante el 2021 se deben a *P. vivax* (12).

El panorama epidemiológico local de COVID-19 y malaria de la región Loreto refleja patrones recíprocos similares a las tendencias globales descritas. En comparación al panorama nacional la región Loreto experimenta un menor impacto del COVID-19. Por ejemplo, la tasa de incidencia por 100 mil habitantes en Loreto es de 4,391.57, por debajo del nivel nacional de 6.749.81, y la tasa de mortalidad por 100 mil habitantes en Loreto es de 406.04, a diferencia de 613.85 en el Perú (11). Cabe resaltar que la región Loreto se mantuvo en los quintiles inferiores para el indicador de casos positivos por 100 mil habitantes hasta octubre del 2021, a excepción del periodo de marzo a mayo del 2020 y febrero del 2021, que corresponden a la primera y la segunda ola de la pandemia de la COVID-19 (11).

II. Inmunidad adaptativa mediada por linfocitos T en COVID-19 y malaria

La línea de defensa adaptativa es estimulada por la infección primaria con el agente patógeno o la administración de vacunas, en contraste con la innata, que precede al evento infeccioso. La inmunidad adaptativa se caracteriza por ser específica y anamnésica. La especificidad es producto de la capacidad de reconocimiento de antígenos y la capacidad

anamnésica deriva del mantenimiento y supervivencia de un repertorio de linfocitos de memoria que evoquen respuestas efectivas frente a infecciones secundarias (13).

Los linfocitos T gobiernan la respuesta celular especializada en patógenos intracelulares, a diferencia de los linfocitos B y la producción de anticuerpos que median la respuesta humoral contra patógenos extracelulares. Los linfocitos T son producidos en la médula ósea, maduran en el timo y migran a órganos linfoides secundarios en donde la presentación de antígenos estimula la activación de linfocitos T efectores o de memoria (13).

a. Respuesta inmunitaria efectora mediada por linfocitos T

El acervo de linfocitos T efectores comprende las subpoblaciones de linfocitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos (CTL) y T CD4<sup>+</sup> cooperadores (Th). Los CTL inducen la apoptosis de células infectadas del hospedero y los Th estimulan la actividad de linfocitos B o el arsenal de inmunidad innata (13).

i. Respuesta inmunitaria efectora mediada por linfocitos T en COVID-

19

La infección primaria por SARS-CoV-2 induce la respuesta de subpoblaciones de linfocitos Th y CTL, siendo la respuesta de células Th más prominente frente a la respuesta de células CTL. Se reporta la detección de células Th y CTL SARS-CoV-2 específicas tan temprano como en el día 2-4 y 1 después de la aparición de síntomas, respectivamente (14). Se ha reportado que la presencia de linfocitos Th y CTL SARS-CoV-2 específicas se correlaciona con el nivel de expresión de la proteína viral (14). McMahan et al. (2020) reportan en macacos Rhesus convalecientes que la protección contra desafíos con SARS-CoV-2 es derogada parcialmente en ausencia de linfocitos T CD8<sup>+</sup> (15).

En la revisión de Sette et al. (2021) y Shrotri et al. (2021) se reporta que la presencia de linfocitos T se asocia con la acelerada eliminación viral, una menor severidad y la resolución exitosa de la COVID-19, y su ausencia, con la severidad y la fatalidad de la COVID-19 (14,16). En caso de ausencia de control de la enfermedad viral se produce una linfopenia periférica que es acompañada del desgaste funcional de la población remanente caracterizada por el aumento transitorio de co-inhibidores: PD-1, LAG-3, TIM-3 (16,17). La subpoblación de linfocitos Th SARS-CoV-2 específicos presentan un perfil de expresión característico de las células Th1: producción de interferón- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), factor de necrosis tumoral (TNF) e interleucina-2 (IL-2) (14). En adición, esta subpoblación de linfocitos Th SARS-CoV-2 específicos expresan la interleucina-22 (IL-22), que se asocia con la reparación del tejido pulmonar durante la COVID-19 (14). En la fase aguda de la infección, la subpoblación de células CTL específicas contra SARS-CoV-2 expresa potentes moléculas citotóxicas: interferón- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), granzima B, perforina y CD107a (14).

ii. Respuesta inmunitaria efectora mediada por linfocitos T en malaria

Del mismo modo, la infección primaria por *Plasmodium* induce la respuesta de células Th y CTL, y produce la linfopenia periférica y el desgaste funcional de la población linfoide (17). En adición, Bach et al. (2021) reportan que la respuesta linfoide discrimina entre especies, que la infección por *P. falciparum* la activa en exceso en comparación a *P. vivax*, sugiriendo que este podría ser un factor que exacerba la mayor frecuencia de malaria severa por *P. falciparum* (18). Antonelli et al. (2019) reporta que la infección por *P. vivax* induce la respuesta mixta de linfocitos Th1, Th2 y Th17 que participan en controlar los estadios eritrocíticos (6). En adición, la respuesta CTL es capaz de reconocer hepatocitos y reticulocitos infectados y mediar la eliminación de esporozoitos y merozoitos de *P. vivax* (6,19).

b. Respuesta inmunitaria de memoria mediada por linfocitos T

Por otro lado, el acervo de linfocitos T de memoria sobrevive por periodos prolongados posterior a la eliminación del patógeno y permite un control eficiente de infecciones secundarias (13). Esta población de linfocitos T de memoria no es homogénea, los subgrupos difieren en: 1. capacidad de circular y 2. funcionalidad; sin embargo, la delimitación de estos subgrupos aun es poco clara. Jameson (2020) ha descrito la existencia de los supergrupos de memoria central (T<sub>CM</sub>) y efectora (T<sub>EM</sub>) (20). Los linfocitos T<sub>CM</sub> circulan por tejidos linfáticos con una limitada capacidad efectora, pero con elevada capacidad proliferativa; y los T<sub>EM</sub> circulan por tejidos no linfáticos y el torrente sanguíneo, y responden con agilidad frente a la estimulación por el antígeno (21). Estos supergrupos se subdividen según sutiles cambios en su fenotipo y funcionalidad como esta descrito en el anexo 1 en base a la revisión de Jameson (2019, 2020) (20,21).

i. Respuesta inmunitaria de memoria media por linfocitos T en COVID-19

En el contexto de la COVID-19, la experiencia de infecciones con SARS-CoV-1 y MERS-CoV sugiere que la infección por SARS-CoV-2 induciría una efímera respuesta humoral y una prolongada respuesta celular. Las infecciones por SARS-CoV-1 y MERS-CoV inducen poblaciones de linfocitos T de memoria que permanecen hasta 17 años post infección (22,23). En el caso de la infección por SARS-CoV-2, se ha reportado la detección de linfocitos T de memoria que persisten hasta 12 meses después de la resolución de síntomas (24).

ii. Respuesta inmunitaria de memoria media por linfocitos T en malaria

Por otro lado, la inmunidad contra *Plasmodium vivax* confiere protección de corta duración que de persistir la exposición a largo plazo produce protección parcial no esterilizante; y dicha protección se desvanece en quienes emigran de regiones endémicas

sugiriendo que la exposición continua es imprescindible para la inducción y mantenimiento de linfocitos efectores y de memoria (6). En el estudio de Reyes-Sandoval et al. (2021) se reporta que los linfocitos T<sub>EM</sub> CD8<sup>+</sup> en el hígado, sangre y bazo median la protección contra el ciclo pre-eritrocítico de la malaria (25). Otra investigación de Fernandez-Ruiz et al. (2021) reporta que los linfocitos T<sub>EM</sub> CD8<sup>+</sup> en el hígado protegen contra desafíos con esporozoitos (26). En relación con la longevidad de la memoria antimalárica específica de *P. falciparum* y/o *P. vivax* en humanos, Wipasa et al. (2011) reportan que en un contexto de exposición infrecuente la respuesta inflamatoria de la memoria efectora es de menor duración en comparación a la respuesta antiinflamatoria de la memoria central (27).

### III. Inmunidad heteróloga

La inmunidad heteróloga se refiere a la inmunomodulación de la respuesta inmunitaria efectora o de memoria patógeno específica inducida por la infección previa o coinfección por un patógeno no relacionado. Este fenómeno puede devenir en una respuesta inmunitaria fortalecida o debilitada y en la alteración de las consecuencias inmunopatológicas. La información descrita en esta sección se concentra en estudios que evalúan poblaciones de linfocitos T en contextos de infecciones subsecuentes de *Plasmodium* y otros agentes bacterianos o virales.

#### a. Desgaste de la memoria inmunológica

El desgaste de la memoria inmunológica se refiere a la pérdida en número o funcionalidad de subpoblaciones de linfocitos. Schmidt y Harty (2011) reportan el desgaste de linfocitos T CD8<sup>+</sup> de memoria específicos del circumsporozoito de *P. berghei* y la reducida protección contra esporozoitos de *P. berghei* en presencia de infecciones subsecuentes no relacionadas: coriomeningitis linfocítica, vaccinia y hepatitis del ratón. En adición, detectan la pérdida preferencial en el bazo e hígado de la subpoblación de linfocitos T<sub>EM</sub>



CD62L<sup>-</sup> en comparación a T<sub>CM</sub> CD62L<sup>+</sup>, sin embargo, se desconoce la consecuencia funcional (28). Otra investigación por Mooney et al. (2015) reportó la profunda pérdida de la protección contra *Salmonella typhimurium* no tifoidea en presencia de la infección por *P. yoelii* que se restauró tras la resolución de la malaria. La ausencia de protección se correlacionó con la reducción de la capacidad efectora específica contra *Salmonella* de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, y el incremento de la expresión del co-inhibidor PD-1 en células T CD4<sup>+</sup> (29). En adición, el estudio de Alamer et al. (2019) reporta que la infección por *P. chabaudi* incrementa la permeabilidad intestinal y la translocación bacteriana que facilita la diseminación sistémica de *Salmonella*. También, reportan la pérdida de protección antimalárica reflejada por la disminución de activación de linfocitos B y T en coinfecciones (30). Estos estudios evidencian el efecto negativo y bidireccional en la respuesta efectora y memoria entre infecciones de malaria y otros patógenos virales y bacterianos no relacionados. Sin embargo, estos estudios produjeron información en base al modelo animal del ratón, la información sobre este tipo de efectos en humanos es escasa.

#### b. Reactividad cruzada de la memoria inmunológica

Teo et al. (2018) reportan el efecto protector de la coinfección o la infección previa por *P. yoelii* o *P. chabaudi* en la patología inducida por la infección del virus chikungunya. Se reporta que infecciones de *Plasmodium* inducen la apoptosis de linfocitos T CD4<sup>+</sup> en el nódulo linfático y perturban la migración del virus mediada por CXCR3 que evita la infiltración de la articulación, en consecuencia, se reduce la inflamación de la articulación (31).

En el contexto de malaria y COVID-19, Achan et al. (2022) reportan que la baja exposición previa a malaria se asocia con la severidad de COVID-19 y mayor probabilidad de resultados no favorables, en presencia o ausencia de comorbilidades en

una región de alta transmisión (32). En ese sentido, Kalungi et al. (2021) sugieren que la memoria inmune establecida contra merozoitos de *P. falciparum* podría ser protectora contra la infección por SARS-CoV-2 y la severidad de la COVID-19. Esto es debido a que SARS-CoV-2 y *P. falciparum* interactúan con CD147 como ruta de invasión de células del hospedero, en consecuencia, la infección previa por *P. falciparum* facilitaría el reconocimiento y la fagocitosis temprana de células infectadas por SARS-CoV-2 (33).

### **PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

En el contexto descrito las infecciones por SARS-CoV-2 y *Plasmodium vivax* producen panoramas epidemiológicos recíprocos. Existe una asociación inversa entre la tasa de incidencia y mortalidad de COVID-19 y malaria (8,9). En otras palabras, en regiones endémicas de malaria el impacto de la COVID-19 es menor que en zonas no endémicas. Esta relación inversa es contraintuitiva debido a que la infraestructura de salud tiende a ser más precaria en estas regiones.

La relación inversa entre la incidencia y mortalidad por COVID-19 y malaria en zonas endémicas y no endémicas de malaria podría ser producto de disparidades demográficas o de diferente capacidad logística de vigilancia o control de casos por escasez de recursos de diagnóstico o debilidades del sistema de salud.

Sin embargo, la desproporción de la incidencia y mortalidad de COVID-19 podría ser explicada por la heterogeneidad de factores biológicos entre las poblaciones de zonas endémicas y zonas no endémicas. Es decir, que el efecto protector contra la COVID-19 podría ser producto del uso masivo de antipalúdicos con efectos antivirales o del efecto en la memoria inmune inducida por la repetida exposición a la malaria (34).

El uso masivo de antipalúdicos con efectos antivirales y beneficios terapéuticos o profilácticos contra la COVID-19 podrían ser causa de la protección en poblaciones endémicas. No obstante, la cloroquina y sus derivados carecen de efectividad en reducir

la mortalidad o el riesgo de hospitalización por COVID-19 y existen favorables pero escasos resultados *in vitro* del uso de la artemisinina y sus derivados contra la COVID-19 (35,36).

Otra potencial explicación de la protección exhibida por poblaciones en zonas endémicas de malaria es que la infección previa por *Plasmodium* establece memoria inmunitaria que prepara al organismo contra SARS-CoV-2. En modelos animales se detectó el efecto nocivo o protector de infecciones consecutivas de *P. chabaudi*, *P. berghei* o *P. yoelii* previa infección con patógenos no relacionados y viceversa en la respuesta y memoria inmunitaria inducida por la infección natural o la administración de vacunas (28–30). En el contexto de la malaria humana, Kalungi et al. (2021) sugieren que la infección previa por *P. falciparum* protege contra la infección posterior por SARS-CoV-2 y la severidad de COVID-19 (33). Sin embargo, hasta la fecha no se han publicado investigaciones que evalúen el mecanismo sugerido por Kalungi et al. (2021) u otro efecto en la respuesta humoral o celular en el contexto de una infección con *Plasmodium* precedida con SARS-CoV-2 o la secuencia inversa. En adición, la información publicada de la inmunidad heteróloga entre malaria en general y otras infecciones virales respiratorias es escasa. Se desconoce de investigaciones publicadas que evalúen la población de linfocitos T de memoria en individuos con una infección previa por SARS-CoV-2 o se vacunaron contra COVID-19 y una infección posterior por *P. vivax* o la secuencia de patógenos inversa.

Este estudio se concentra en la memoria inmunológica, cualidad que le permite al organismo evocar respuestas efectoras eficaces frente a infecciones secundarias. La memoria es dependiente de la producción y supervivencia de poblaciones de linfocitos B y T de memoria patógeno específico. En base a la experiencia con los  $\beta$ -coronavirus SARS-CoV-1 y MERS-CoV se espera que la infección por SARS-CoV-2 produzca una duradera memoria de linfocitos T (22,23). Hasta la fecha, se ha reportado la presencia de

linfocitos T de memoria específicos contra SARS-CoV-2 hasta 12 meses tras la resolución de síntomas (24). En contraste, la información sobre la memoria contra la malaria es más escasa, sin embargo, sugiere que es dependiente de la repetida exposición al parásito.

En el contexto local, en la región Loreto convergen las infecciones de malaria y COVID-19 y se ha ejecutado de forma gradual la vacunación de esta población. En adición, el patrón epidemiológico recíproco observado a escala global se observa a escala local (11,12). La reciprocidad entre los patrones epidemiológicos de malaria y COVID-19 en la región Loreto podría ser explicada por la inducción de inmunocompetencia por repetidas infecciones de malaria en contra infecciones virales no relacionadas de SARS-CoV-2. En adición, se resalta que a diferencia del caso más conocido de *P. falciparum* de la región África, en la Amazonía peruana la especie dominante es *P. vivax* que consta de escasa información inmunológica y ninguna que compare mono infecciones o infecciones subsecuentes con SARS-CoV-2.

El objetivo de esta investigación es fenotipificar y cuantificar subpoblaciones de linfocitos T citotóxicos y colaboradores de memoria específicos de SARS-CoV-2 o *P. vivax* en sangre periférica de poblaciones de interés en la región Loreto. Las poblaciones de interés son: 1) individuos que reportan una infección previa por o se vacunaron contra SARS-CoV-2 sin antecedentes de malaria; 2) individuos que reportan una infección previa por *P. vivax* sin antecedentes de COVID-19; 3) individuos que reportan una infección previa por/o se vacunaron contra SARS-CoV-2 que en adición reportan una infección por *P. vivax* reciente; 4) individuos que reportan una infección previa por *P. vivax* que en adición reportan una infección reciente por o se vacunaron contra SARS-CoV-2; y por último, 5) individuos sanos sin antecedentes de infección previa o reciente por SARS-CoV-2 o *P. vivax*. Esta investigación producirá nueva información sobre la

inmunomodulación de la respuesta inmunitaria contra *P. vivax* en casos de individuos que han padecido una infección previa por/o se vacunó contra SARS-CoV-2 y la secuencia inversa de patógenos en relación con las subpoblaciones de linfocitos T.

## **ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN**

La estrategia experimental comprende: 1) la detección pasiva de casos de las poblaciones de interés; y 2) la fenotipificación y cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T de memoria patógeno específicos. Este proyecto de investigación se someterá para su aprobación al Comité Institucional de Ética en Investigación de la UPCH.

En primer lugar, se detectarán casos de las poblaciones de interés: 1) infección previa de SARS-CoV-2 o vacunados contra este virus; 2) infección previa por *P. vivax*; 3) infección previa de SARS-CoV-2 o vacunados contra este virus e infección activa por *P. vivax*; 4) infección previa por *P. vivax* e infección activa por o vacunados contra SARS-CoV-2 recientemente y 5) individuos sanos para ambos patógenos. Se incluirá en el estudio a individuos que reporten una infección previa de haber sucedido esta hasta tres meses antes. Se excluirá del estudio a individuos que reporten una infección por otros patógenos con el objetivo de minimizar su efecto y ceñirse a la interacción entre la respuesta inmunitaria contra SARS-CoV-2 y *P. vivax* malaria. El grupo control negativo será la población de individuos sanos tanto para malaria como COVID-19. Se realizará un seguimiento mensual de seis meses de duración a todas las poblaciones de interés. El diagnóstico de *P. vivax* malaria se realizará mediante COX-Taqman-PCR y de COVID-19 mediante RT-qPCR. En aquellos sujetos que consientan a participar se aplicará una encuesta que evalúe el cuadro clínico de malaria y COVID-19 y características sociodemográficas del sujeto.

En segundo lugar, se purificarán células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) y serán criopreservadas, transportadas y almacenadas para su análisis por ELISPOT y

citometría de flujo multicolorimétrica en el Laboratorio de Malaria, LID UPCH, Lima. Se fenotiparán y cuantificarán subpoblaciones de linfocitos T tras su estimulación con un acervo de OLPs, *overlapping peptide pools*, según su fenotipo efector citotóxico (CD8<sup>+</sup>) o colaborador (CD4<sup>+</sup>), fenotipo de memoria según los marcadores descritos en el anexo 1 y especificidad contra *P. vivax* o SARS-CoV-2 (20,21,37,38). Se comparará la frecuencia de linfocitos T entre subtipos de memoria y población de interés mediante ANOVA o Kruskal-Wallis dependiendo de la normalidad de la data. Esta información será correlacionada y comparada con la respuesta humoral específica contra SARS-CoV-2 o *P. vivax*, estudio que se ejecuta en paralelo a esta investigación.

## Referencias bibliográficas

1. WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [cited 2021 Oct 22]. Available from: <https://covid19.who.int/>
2. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536–44.
3. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2021;19(3):155–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
4. Bennett S, Tafuro J, Mayer J, Darlington D, Wong CW, Muntean EA, et al. Clinical features and outcomes of adults with coronavirus disease 2019: A systematic review and pooled analysis of the literature. *Int J Clin Pract.* 2021;75(3):1–13.
5. World Health Organization. World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges. 2020.
6. Antonelli LR, Junqueira C, Vinetz JM, Golenbock DT, Ferreira MU, Gazzinelli RT. The immunology of *Plasmodium vivax* malaria. *Immunol Rev.* 2020;293(1):163–89.
7. Shahid Z, Karim N, Shahid F, Yousaf Z. COVID-19 Associated Imported *Plasmodium vivax* Malaria Relapse: First Reported Case and Literature Review. *Res Rep Trop Med.* 2021;Volume 12:77–80.
8. Goswami RP, Ganguli B, Chatterjee M. Endemic infections, vaccinations, and

- variability of SARS-COV2 worldwide epidemiology: A cross-sectional study. *J Med Virol*. 2021;93(5):3105–12.
9. Napoli PE, Nioi M. Global Spread of Coronavirus Disease 2019 and Malaria: An Epidemiological Paradox. *SSRN Electron J*. 2020;
  10. Anyanwu MU. The association between malaria prevalence and COVID-19 mortality. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2021;21(1):1–6. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06701-8>
  11. MINSA. Situación Actual COVID-19 Perú 2020-2021 20 de octubre [Internet]. 2021. Available from: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/coronavirus/coronavirus311021.pdf>
  12. MINSA. Sala de situación de salud, Perú a la SE 41 - 2021 [Internet]. 2021. p. 267. Available from: [https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/asis-sala/asis-sala\\_202141\\_26\\_091722.pdf](https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/asis-sala/asis-sala_202141_26_091722.pdf)
  13. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology* [Internet]. Tenth. 2021 [cited 2021 Sep 23]. 600 p. Available from: <https://bibvirtual.upch.edu.pe:2051/#!/browse/book/3-s2.0-C20190004463>
  14. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell* [Internet]. 2021;184(4):861–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.007>
  15. McMahan K, Yu J, Mercado NB, Loos C, Tostanoski LH, Chandrashekar A, et al. Correlates of protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature* [Internet]. 2021;590(7847):630–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-03041-6>
  16. Shrotri M, van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-cov-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS*



- One [Internet]. 2021;16(1 January):1–21. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0245532>
17. Herrmann M, Schulte S, Wildner NH, Wittner M, Brehm TT, Ramharter M, et al. Analysis of Co-inhibitory Receptor Expression in COVID-19 Infection Compared to Acute Plasmodium falciparum Malaria: LAG-3 and TIM-3 Correlate With T Cell Activation and Course of Disease. *Front Immunol.* 2020;11(August):1–15.
  18. Bach FA, Muñoz Sandoval D, Mazurczyk M, Themistocleous Y, Rawlinson TA, Kemp A, et al. Mapping T cell activation and differentiation at single cell resolution 1 in naive hosts infected with Plasmodium vivax. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.03.22.21252810>
  19. Junqueira C, Barbosa CRR, Costa PAC, Teixeira-Carvalho A, Castro G, Sen Santara S, et al. Cytotoxic CD8+ T cells recognize and kill Plasmodium vivax–infected reticulocytes. *Nat Med.* 2018;24(9):1330–6.
  20. Jameson SC. The naming of memory t-cell subsets. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2021;13(1):1–12.
  21. Jameson SC, Masopust D. Understanding Subset Diversity in T Cell Memory. *Immunity.* 2018;48(2):214–26.
  22. Zhao J, Alshukairi AN, Baharoon SA, Ahmed WA, Bokhari AA, Nehdi AM, et al. Recovery from the Middle East respiratory syndrome is associated with antibody and T cell responses. *Sci Immunol.* 2017;2(14):1–11.
  23. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, Tham CYL, Hafezi M, Chia A, et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature [Internet].* 2020;584(7821):457–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2550-z>

24. Lu Z, Laing ED, Pena-Damata J, Pohida K, Tso MS, Samuels EC, et al. Durability of SARS-CoV-2-specific T cell responses at 12-months post-infection. *bioRxiv*. 2021;
25. Reyes-Sandoval A, Wyllie DH, Bauza K, Milicic A, Forbes EK, Rollier CS, et al. CD8 + T Effector Memory Cells Protect against Liver-Stage Malaria . *J Immunol*. 2011;187(3):1347–57.
26. Fernandez-Ruiz D, Ng WY, Holz LE, Ma JZ, Zaid A, Wong YC, et al. Liver-Resident Memory CD8+ T Cells Form a Front-Line Defense against Malaria Liver-Stage Infection. *Immunity*. 2016;45(4):889–902.
27. Wipasa J, Okell L, Sakkhachornphop S, Suphavitai C, Chawansuntati K, Liewsaree W, et al. Short-lived IFN- $\gamma$  effector responses, but long-lived IL-10 memory responses, to malaria in an area of low malaria endemicity. *PLoS Pathog*. 2011;7(2).
28. Schmidt NW, Harty JT. Cutting Edge: Attrition of Plasmodium -Specific Memory CD8 T Cells Results in Decreased Protection That Is Rescued by Booster Immunization . *J Immunol*. 2011;186(7):3836–40.
29. Mooney JP, Lee SJ, Lokken KL, Nanton MR, Nuccio SP, McSorley SJ, et al. Transient Loss of Protection Afforded by a Live Attenuated Non-typhoidal Salmonella Vaccine in Mice Co-infected with Malaria. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):1–18.
30. Alamer E, Carpio VH, Ibitokou SA, Kirtley ML, Phoenix IR, Opata MM, et al. Dissemination of non-typhoidal Salmonella during Plasmodium chabaudi infection affects anti-malarial immunity. *Parasitol Res*. 2019;118(7):2277–85.
31. Teo TH, Lum FM, Ghaffar K, Chan YH, Amrun SN, Tan JLL, et al. Plasmodium co-infection protects against chikungunya virus-induced pathologies. *Nat*

- Commun [Internet]. 2018;9(1). Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-06227-9>
32. Achan J, Serwanga A, Wanzira H, Kyagulanyi T, Nuwa A, Magumba G, et al. Current malaria infection, previous malaria exposure, and clinical profiles and outcomes of COVID-19 in a setting of high malaria transmission: an exploratory cohort study in Uganda. *The Lancet Microbe* [Internet]. 2021;3(1):e62–71. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34723228>  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8545833>
33. Kalungi A, Kinyanda E, Akena DH, Kaleebu P, Bisangwa IM. Less Severe Cases of COVID-19 in Sub-Saharan Africa: Could Co-infection or a Recent History of *Plasmodium falciparum* Infection Be Protective? *Front Immunol*. 2021;12(February):1–5.
34. Harris R, Rosemurgy A. COVID-19 and Malaria: A Fatal Attraction for SARS CoV-2? *J Epidemiol Public Heal Rev*. 2020;5(2):6–8.
35. Gasmi A, Peana M, Noor S, Lysiuk R, Menzel A, Gasmi Benahmed A, et al. Chloroquine and hydroxychloroquine in the treatment of COVID-19: the never-ending story. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021;105(4):1333–43.
36. Krishna S, Augustin Y, Wang J, Xu C, Staines HM, Platteeuw H, et al. Repurposing Antimalarials to Tackle the COVID-19 Pandemic. *Trends Parasitol* [Internet]. 2021;37(1):8–11. Available from:  
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.10.003>
37. Jung JH, Rha MS, Sa M, Choi HK, Jeon JH, Seok H, et al. SARS-CoV-2-specific T cell memory is sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells. *Nat Commun*

[Internet]. 2021;12(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-021-24377-1>

38. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell* [Internet]. 2020;183(4):996-1012.e19. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.038>

## Anexos

1. Fenotipo de los subtipos celulares de linfocitos Th CD4<sup>+</sup> y CTL CD8<sup>+</sup> de memoria circulantes. T<sub>CM</sub>: memoria central; T<sub>SCM</sub>: memoria de células madre; T<sub>EM</sub>: memoria efectora; T<sub>PM</sub>: memoria periférica; T<sub>LLEC</sub>: células efectoras de larga vida; T<sub>EMRA</sub>: memoria efectora terminalmente diferenciada (20,21).

Supergrupo	Subtipo	T <sub>CM</sub>		T <sub>EM</sub>		
		T <sub>CM</sub>	T <sub>SCM</sub>	T <sub>PM</sub>	T <sub>LLEC</sub>	T <sub>EMRA</sub>
Fenotipo	CCR7	+	+	-	-	-
	CD62L	+	+	-	-	-
	Cx3Cr1	Bajo	Bajo	Intermedio	Alto	Alto
	CD45RA	-	+			+
	CD45RO	+	-			
	CD27	Alto		Alto	+	-