



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN ESTUDIOS DE POSGRADO



TÍTULO

**ANÁLISIS DE LOS FACTORES CLÍNICOS, INMUNOLÓGICOS Y METABOLÓMICOS ASOCIADOS
AL DESARROLLO DE SÍNDROME POST-COVID-19**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE SUB-ESPECIALISTA EN
REUMATOLOGÍA

P R E S E N T A

DR. EMMANUEL ABIMELEC CAMACHO MORÁN

TUTOR DE TESIS

DRA. DIANA GÓMEZ MARTÍN

COTUTOR DE TESIS

DR. JOSÉ JIRAM TORRES RUIZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ANÁLISIS DE LOS FACTORES CLÍNICOS, INMUNOLÓGICOS Y METABOLÓMICOS ASOCIADOS AL
DESARROLLO DE SÍNDROME POST-COVID-19



INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
DR. SALVADOR ZUBIRÁN
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA

Dr. José Alberto Ávila Funes
Director de Enseñanza
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dra. Diana Gómez Martín
Investigador en Ciencias Médicas y Médico Adscrito del departamento de Inmunología y Reumatología
Tutor de Tesis
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dra. Marina Rull Gabayet
Profesor Titular del Curso de Reumatología
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

ÍNDICE

1. Resumen.....	4
2. Introducción	5
3. Planteamiento del problema	7
4. Hipótesis	8
5. Objetivos	9
6. Material y métodos.....	10
7. Resultados.....	12
8. Conclusiones	15
9. Diagrama de flujo.....	16
10. Tablas.....	17
11. Bibliografía	23

Resumen

La evidencia actual sugiere que un alto porcentaje de pacientes que presentaron COVID-19 pueden manifestar diversos síntomas posteriores a la resolución de la infección aguda. El conocimiento sobre los factores de riesgo tanto clínicos, inmunológicos y metabólicos que son capaces de predecir el desarrollo de síndrome post-COVID-19 serán de gran relevancia para poder establecer una estrategia de seguimiento y diagnóstico oportuno. El síndrome post-covid-19 agrupa la persistencia de síntomas por más de 12 semanas posterior al inicio de la infección. Su patogénesis aún no es del todo conocida y carece de biomarcadores. El objetivo del presente estudio fue evaluar los factores clínicos, inmunológicos y metabólicos asociados al desarrollo del síndrome post-COVID19. Se realizó un estudio de cohorte que incluyó pacientes con diagnóstico de COVID-19 corroborado mediante RT-PCR positiva para SARS-CoV-2 en hisopado nasofaríngeo, que a su egreso de hospitalización o manejo ambulatorio tuvieron al menos 3 semanas del inicio de los síntomas. A dichos pacientes se les aplicó un cuestionario estandarizado para la detección de síntomas asociados a síndrome post-COVID-19 previamente validado, así como el cuestionario St. George para síntomas respiratorios. Además, se les realizó una exploración física completa y se les tomó una muestra de 10 mL de sangre venosa periférica para la obtención de suero y plasma para inmunotipificación, cuantificación de citocinas, quimiocinas y perfil metabólico. Posteriormente, se revisaron a los pacientes 6 meses después para evaluar quienes permanecieron con síntomas o no asociados a síndrome post-COVID19. El desenlace primario fue el desarrollo de síndrome post-COVID19 definido como la persistencia de los síntomas más allá de las 12 semanas siendo fatiga el síntoma pivote y 2 ó más de los siguientes: dolor muscular, debilidad, depresión, fiebre de bajo grado, dolor torácico, dermatosis, mal control metabólico, cefalea, disnea, dificultades neurocognitivas y eventos trombóticos.

Se reclutaron 51 pacientes, siendo de ellos 32 (62.7%) hombres, la edad media de los pacientes fue de 48 años (IIC 24-71). Diecinueve pacientes (37.2%) desarrollaron síndrome post-COVID-19; en aquellos pacientes con obesidad 9 (47.3%) $p=0.03$, así como en aquellos con hipertensión arterial sistémica 8 (42.1%) $p=0.03$ el desarrollo de síndrome post-COVID-19 fue mayor. La fatiga se presentó en la totalidad de los pacientes que presentaron síndrome post-COVID-19, el resto de síntomas que persistieron y que fueron diferentes en los pacientes con síndrome post-COVID-19 fueron los siguientes: tos 7 (36.8%) $p=0.017$, confusión 4(21.1%) $p=0.03$, disnea 7(36.8%) $p=0.001$, cefalea 11(57.9%) $p=0.001$, disminución de la memoria 10(52.6%) $p=0.012$, disminución de la memoria 14(73.7) $p=<0.001$ y dolor torácico 2(10.5%) $p=0.05$.

Además los pacientes que presentaron síndrome post-COVID-19 se caracterizaron inmunológicamente por mostrar niveles incrementados de TNF- α ($p=0.001$), IP10 ($p=0.001$), IL-1R ($p=0.001$), así como expansión de LDGs CD10-inmaduras ($p=0.01$). Desde el punto de vista metabólico, los niveles elevados de ácido- α hidroxibutírico ($p=0.01$), ácido hidroxivalérico y cisteína ($p=0.01$) caracterizaron a los pacientes con síndrome post-COVID-19. *Palabras clave:* síndrome post-COVID19, fatiga, SARS-COV2.

ANÁLISIS DE LOS FACTORES CLÍNICOS E INMUNOLÓGICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE SÍNDROME POST-COVID-19

INTRODUCCIÓN

La enfermedad inducida por coronavirus 2019 (COVID-19, por sus siglas en inglés) es una patología infecciosa emergente, la cual fue decretada como pandemia por la OMS en marzo de 2020¹. En Diciembre de 2019, la Comisión Municipal de Salud de Wuhan, provincia de Hubei, China notificó un conglomerado de casos de neumonía atípica en la ciudad, la cual se determinó posteriormente que era causada por un nuevo betacoronavirus, denominado SARS-CoV-2².

Se sabe que la mayoría de los pacientes (aproximadamente 80%) desarrollará una enfermedad leve, definida como fiebre, signos de enfermedad de vías respiratorias, fatiga, anosmia y disgeusia³. Se ha reportado que aproximadamente 15% de los pacientes pueden desarrollar enfermedad grave y aproximadamente 5% pueden tener un estado crítico con requerimiento de cuidados intensivos y ventilación mecánica invasiva⁴. Dentro de la patogénesis de COVID-19 se han descrito múltiples alteraciones en la respuesta inmune innata y adaptativa, dentro de las cuales se destacan el papel de la tormenta de citocinas y diversas alteraciones en la respuesta de linfocitos T, así como la expansión de plasmablastos⁵ y la inducción de trampas extracelulares de neutrófilos⁶. Recientemente se ha descrito en diversas poblaciones a nivel mundial que los pacientes que se recuperan de la infección por SARS-CoV-2 pueden presentar diversos síntomas como secuela de la enfermedad⁷⁻⁹. Se ha reportado que hasta el 87% de los pacientes que sobreviven a COVID-19 presentan al menos 1 síntoma persistente con una media de 60 días posteriores al inicio de síntomas y hasta el 55% pueden presentar 3 o más síntomas persistentes⁷. En una revisión sistemática de la literatura y meta-análisis que incluyó a 15 estudios, se encontró que los síntomas más frecuentes fueron fatiga (58%), cefalea (44%), alteración de la atención (27%), pérdida de cabello (25%) y disnea (24%)¹⁰. La evidencia actual sugiere que un alto porcentaje de pacientes que presentaron COVID-19 pueden manifestar diversos síntomas posteriores a la resolución de la infección aguda.

El conocimiento sobre los factores de riesgo tanto clínicos como inmunológicos y metabólicos que sean capaces de predecir el desarrollo de síndrome post-COVID-19 serán de gran relevancia para poder establecer una estrategia de seguimiento y diagnóstico oportuno.

El síndrome post-COVID-19 agrupa la persistencia de síntomas por más de 12 semanas posterior al inicio de la infección. Su patogénesis aún no es del todo conocida y carece de biomarcadores.

La evidencia actual sugiere que los pacientes que sobreviven a la infección por SARS-CoV-2 pueden presentar alguna manifestación, ya sea clínica o serológica compatible con autoinmunidad, lo cual podría a su vez formar parte del síndrome post-COVID-19.

A pesar de que la tormenta de citocinas y la cantidad de NETs circulantes se han asociado al desarrollo de COVID-19 grave/crítico^{6 25}, su potencial papel en la persistencia de los síntomas como parte del síndrome post-COVID-19 no ha sido evaluada. Actualmente, no se cuenta con información sobre el perfil inmunológico de los pacientes que desarrollan síndrome post-COVID-19, el cual es el objetivo principal del presente trabajo.

Planteamiento del problema.

La evidencia actual sugiere que los pacientes que sobreviven a la infección por SARS-CoV-2 podrían presentar alguna manifestación, ya sea clínica o serológica compatible con autoinmunidad, lo cual podría a su vez formar parte del síndrome post-COVID-19.

Se ha reportado que hasta el 87% de los pacientes que sobreviven a COVID-19 presentan al menos 1 síntoma persistente con una media de 60 días posteriores al inicio de síntomas y hasta el 55% pueden presentar 3 o más síntomas persistentes⁷. En una revisión sistemática de la literatura y meta-análisis que incluyó a 15 estudios, se encontró que los síntomas más frecuentes fueron fatiga (58%), cefalea (44%), alteración de la atención (27%), pérdida de cabello (25%) y disnea (24%)¹⁰. Dentro de la patogénesis de COVID-19 se han descrito múltiples alteraciones en la respuesta inmune innata y adaptativa, dentro de las cuales se destacan el papel de la tormenta de citocinas y diversas alteraciones en la respuesta de linfocitos T, así como la expansión de plasmablastos⁵ y las trampas extracelulares de neutrófilos⁶. Además, se ha descrito la reactividad cruzada entre la glicoproteína spike de SARS-CoV-2 y proteínas relacionadas al surfactante alveolar (13/24 pentapéptidos), y se ha sugerido que esta reactividad cruzada forma parte de la inmunopatogénesis de la infección por SARS-CoV-2¹⁹ las cuales también podrían contribuir o formar parte del síndrome post-COVID-19.

En un estudio de cohorte que incluyó a 277 pacientes recuperados de COVID-19, leve (34.7%) o grave (65.7%), y que fueron evaluados por una mediana de 77 días, se documentó la presencia de síndrome post-COVID-19 en el 50.9% (IC95% 45.0–56.7%) de los casos, con una mayor incidencia acumulada en aquellos pacientes con antecedente de neumonía grave vs aquellos sin neumonía (58.2% vs 37%, $p=0.003$). En el análisis multivariado, se documentó que los únicos factores de riesgo independientes para el desarrollo de síndrome post-COVID-19 fueron la presencia de afectación tomográfica mayor al 50% (RM 2.87 (1.13–7.32), $p = 0.027$) y mayor frecuencia cardíaca a la admisión (RM 1.03 (1.01–1.06, $p = 0.04$)¹⁴. En otro estudio realizado en 150 pacientes se encontró que la edad de 40-49 años (RM 13.3 (2.8-64.1), el requerimiento de oxígeno suplementario (RM 3.4 (1.2-9.5), antecedente de hospitalización (RM 2.8 (1.2-6.2) y la disnea como síntoma inicial (RM 2.4 (1.0-5.3) se asociaron significativamente con el desarrollo de síndrome post-COVID-19 a los 30 días posteriores al inicio de síntomas¹⁵.

La fisiopatología del síndrome post-COVID-19 aún no es del todo conocida y el síndrome post-COVID-19 carece de biomarcadores que permitan una detección temprana de pacientes en riesgo. Por lo que los pacientes que desarrollan síndrome post-COVID-19 podrían presentar un perfil clínico, inmunológico y metabólico diferente en comparación con aquellos que no desarrollan síndrome post-COVID-19.

Hipótesis

Los pacientes que desarrollan síndrome post-COVID-19 presentan un perfil clínico, inmunológico y metabólico diferente en comparación con aquellos que no desarrollan síndrome post-COVID-19.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar los factores clínicos, inmunológicos y metabólicos asociados al desarrollo del síndrome post-COVID-19.

Objetivos específicos:

Evaluar la asociación de los niveles séricos de citocinas proinflamatorias y quimiocinas con el desarrollo de síndrome post-COVID19.

Analizar la asociación de diversas subpoblaciones celulares tanto linfoides como mieloides con el desarrollo de síndrome post-COVID19.

Evaluar la frecuencia de NETs en suero y su asociación con el desarrollo de síndrome post-COVID19.

Analizar la asociación de diversos metabolitos séricos con el desarrollo de síndrome post-COVID19.

Material y métodos

Se realizó un estudio de cohorte con un reclutamiento por muestreo aleatorio probabilístico, que incluyó pacientes con diagnóstico de COVID-19 corroborado mediante RT-PCR positiva para SARS-CoV-2 en hisopado nasofaríngeo, que a su egreso de hospitalización o manejo ambulatorio tuvieron al menos 3 semanas del inicio de los síntomas, que hayan decidido participar en el estudio y firmado el consentimiento informado.

Se incluyeron pacientes adultos con diagnóstico de COVID-19 corroborado mediante RT-PCR positiva para SARS-CoV-2 en hisopado nasofaríngeo, que a su egreso de hospitalización o manejo ambulatorio tuvieron al menos 3 semanas del inicio de los síntomas, que hayan decidido participar en el estudio y firmado el consentimiento informado. Dentro de los criterios de exclusión se excluyeron pacientes con diagnóstico previo de cáncer (5 años previos), enfermedades autoinmunes sistémicas u órgano específicas, embarazo, puerperio, infecciones virales crónicas y en aquellos que no se lograra obtener muestra suficiente para realización de las mediciones de las variables biológicas.

A dichos pacientes se les aplicó un cuestionario estandarizado para la detección de síntomas asociados a síndrome post-COVID-19 previamente validado ⁽¹⁴⁾, así como el cuestionario St. George para síntomas respiratorios. Además, se les realizó una exploración física completa y se les tomó una muestra de 10 mL de sangre venosa periférica para la obtención de suero y plasma para cuantificación de citocinas, quimiocinas y medición de perfil metabólico. Posteriormente, se revisaron a los pacientes 6 meses después para evaluar quienes permanecieron con síntomas o no asociados a síndrome post-COVID19. El desenlace primario fue el desarrollo de síndrome post-COVID19 definido como la persistencia de los síntomas más allá de las 12 semanas siendo fatiga el síntoma pivote y 2 ó más de los siguientes: dolor muscular, debilidad, depresión, fiebre de bajo grado, dolor torácico, dermatosis, mal control metabólico, cefalea, disnea, dificultades neurocognitivas y eventos trombóticos.

Caracterización de subpoblaciones celulares (linfocitos T y B) en sangre periférica.

A cada sujeto se le extrajeron 10 ml de sangre venosa periférica anticoagulada con EDTA mediante venopunción. Se separaron las células mononucleares por centrifugación a través de gradientes de densidad (Ficoll-Hypaque). Se realizó tinción de dichas células mediante el siguiente panel de anticuerpos conjugados (tabla 5).

Para las tinciones intracitoplásmicas, las células mononucleares fueron previamente permeabilizadas y fijadas mediante el uso del Buffer BD Cytotfix/Cytoperm, acorde a las instrucciones del proveedor. La detección de citocinas intracitoplásmicas se realizó posterior a la estimulación de CMN con PMA (50 ng/ml) más ionomicina (1µg/ml) por un lapso de 5 horas y se agregó al cultivo monensina para inhibir el transporte de proteínas a nivel del aparato de Golgi. Todas las muestras fueron adquiridas en un citómetro BD LSR Fortessa, con 4 láseres y se analizarán con apoyo del software Flow-Jo.

Cuantificación de citocinas y quimiocinas pro-inflamatorias

En las muestras de plasma de los pacientes se cuantificaron por duplicado las siguientes citocinas: IL-1(alfa/beta), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12p40/p70, IL-13, IL-15, IL-17, TNF(alfa/beta), IFN γ , IFN α 2, GCSF, GMCSF, IP10, MCP-1, MIP1(alfa/beta), Eotaxina, y VEGF mediante ensayo multiplexado por lectura en el sistema Bio-Plex (Bio-Rad) empleando el kit Millipore Px29.

Cuantificación de NETs (trampas extracelulares de neutrófilos) ex vivo

Se tomaron una muestra de 5 ml de sangre periférica y se centrifugaron para la obtención de plasma. Se almacenaron en crioviales a -80°C hasta que fueron procesados para la evaluación de la cantidad de complejos DNA-Elastasa de neutrófilo mediante ELISA. Se incubaron placas de ELISA de 96 pozos por 12 hs a 4°C con anti-MPO (conejo) diluido en el buffer del kit de detección de muerte celular. Posterior al lavado (Tween 20 0.01%) y bloqueo (albúmina sérica bovina, BSA 1%), se incubaron por 12 hs a 4°C con 200 μ L de plasma humano diluido en BSA 1%. Posteriormente se realizó un lavado y se incubaron con anti-DNA_{dc} del kit de detección de muerte celular durante 1 hr. Las placas se lavaron nuevamente y posteriormente se añadió el sustrato TMB (3,3',5,5'-Tetrametilbencidina), se aplicó la solución de paro y finalmente se medirá la absorbancia a 450 nm.

En cuanto al análisis estadístico, las variables cuantitativas se expresaron como medianas e intervalo intercuartil. La diferencia entre medianas se evaluó mediante U de Mann-Whitney. Se tomó un valor de $p < 0.05$ y el análisis se llevó a cabo con la ayuda del software SPSS v21. Protocolo sometido a comité de ética y aprobado IRE-3734-21-22-1

Resultados .

Se reclutaron 51 pacientes, de ellos 32 (62.7%) eran hombres y 19 mujeres (37.3%) (diagrama 1), en cuanto a las características clínicas basales la edad media de los pacientes fue de 48 años (IIC 24-71). De ellos diecinueve pacientes (37.2%) desarrollaron el síndrome post-COVID-19 de ellos siendo 7 mujeres (36.8%) con un índice de masa corporal similar entre aquellos que presentaron síndrome post-COVID-19 y aquellos que no, al igual que en el resto de comorbilidades como diabetes mellitus tipo 2, enfermedad renal crónica o la gravedad de la infección en el evento agudo, sin embargo siendo estas diferentes en aquellos pacientes con obesidad 9 (47.3%) en comparación con 6 (18.7%) $p=0.03$, así como el padecer hipertensión arterial sistémica 8 (42.1%) contra 5 (15.6%) $p=0.03$.(tabla 1).

En cuanto a la presencia de síntomas la fatiga se presentó en la totalidad de los pacientes que presentaron síndrome post-COVID-19, 19 (100%) contra 7 (21.9%) $p<0.001$ el resto de síntomas que persistieron y que fueron diferentes en los pacientes con síndrome post-COVID-19 fueron los siguientes: tos 7(36.8%) contra 3(9.4%) $p=0.017$, confusión 4(21.1%) contra 1(3.6%) $p=0.03$, disnea 7(36.8%) contra 1(3.6%) $p=0.001$, cefalea 11(57.9%) contra 2(6.3%) $p=0.001$, disminución de la memoria 10(52.6%) contra 6 (18.8%) $p=0.012$, disminución de la memoria 14(73.7) contra 5 (15.6%) $p= <0.001$ y dolor torácico 2(10.5%) $p=0.05$. No se presentó alguna otra diferencia en el resto de síntomas interrogados como por ejemplo fiebre o sibilancias.(Tabla 2).

Los pacientes que presentaron síndrome post-COVID-19 se caracterizaron inmunológicamente por mostrar niveles incrementados de TNF- α ($p=0.001$), IP10 ($p=0.001$), IL-1R ($p=0.001$), así como expansión de LDGs CD10-inmaduras ($p=0.01$).

Además, desde el punto de vista metabólico, los niveles elevados de ácido- α hidroxibutírico ($p=0.01$), ácido hidroxivalérico y cisteína ($p=0.01$) caracterizaron a los pacientes con síndrome post-COVID-19.(Tabla 3 y 4).

Discusión

La presencia de síndrome post-COVID-19 se reporta en otras series en hasta el 50% de los pacientes que presentaron infección por SARS-COV-2 siendo esta asociada a la gravedad, sin embargo estudios recientes muestran que la heterogeneidad del síndrome se puede presentar en cualquier grupo y con periodos de tiempo variables así como la persistencia de los síntomas por un período de tiempo aún desconocido ⁽⁹⁾. La presencia de síntomas fue similar a lo reportado de igual forma en otras cohortes ⁽⁹⁾. Probablemente la inflamación persistente podría sugerir una relación en la fisiopatología esto promovido por reclutamiento de granulocitos de baja densidad (LDGs) enriquecidas con citocinas proinflamatorias y que al mismo tiempo la hipoxia prolongada tenga repercusión en el metabolismo celular como posibles mecanismos de estrés oxidativo. En cuanto la fatiga y el estrés oxidativo algunos estudios han encontrado que los anticuerpos IgM séricos contra los ácidos grasos (ácido oleico, palmítico, mirístico, fosfatidil-inositol, ácido azelaico y malondialdehído) que son subproductos de la peroxidación lipídica, son significativamente mayores en el líquido cerebro espinal en pacientes con fatiga crónica que en los controles normales ^[27]. Esto sugiere que el líquido cefalorraquídeo se caracteriza por una respuesta inmunitaria

relacionada con IgM dirigida contra los componentes de la membrana lipídica alterados y los subproductos de la peroxidación lipídica, que normalmente no son detectados por el sistema inmunitario pero que debido al daño oxidativo se han vuelto inmunogénicos ⁽²⁸⁾.

Además, se considera que el estrés oxidativo en pacientes de riesgo con COVID-19 se debe a un exceso de especies reactivas de oxígeno que no se contrarresta con un aumento de antioxidantes. Los niveles de especies reactivas en estos pacientes se han determinado a partir de un aumento en los marcadores inflamatorios como las citocinas ⁽²⁶⁾. Sin embargo, esta evidencia está respaldada principalmente por artículos de revisión. Solo un estudio ha evaluado en pacientes con COVID-19 marcadores inflamatorios y especies reactivas (H₂O₂, malondialdehído y capacidad antioxidante total) mediante muestras de sangre, sin encontrar correlación con la gravedad de la enfermedad ⁽²⁴⁾ lo cual en síndrome post-COVID-19 no se ha estudiado. Por lo que son necesarias investigaciones para documentar los marcadores inflamatorios y de especies reactivas en pacientes con COVID-19 y síndrome post-COVID-19 para evaluar su asociación con el daño tisular y las consiguientes deficiencias funcionales en la fase aguda y crónica de la enfermedad ⁽²⁵⁾. Los estudios futuros deben evaluar no solo las medidas de su efecto sistémico (sangre periférica), sino también marcadores del sistema respiratorio, lo cual sería esencial para comprender el principal órgano afectado por SARS-CoV-2 y su mayor susceptibilidad al daño tisular ⁽²⁵⁾.

Esto es relevante para la identificación de pacientes en riesgo de presentar este desenlace, que no presentaran una recuperación espontánea de las secuelas de COVID-19 y que podrían beneficiarse de un tratamiento más oportuno.

En cuanto al perfil de citocinas y quimiocinas, IP-10 se ha encontrado como predictor de gravedad en COVID-19⁽¹¹⁾. La presencia de este se ha asociado al inicio de síntomas neurológicos en modelos de encefalitis ⁽¹¹⁾, lo que pudiera contribuir a los síntomas neurológicos en los pacientes con síndrome post-COVID-19 y siendo estos encontrados de igual manera en entidades como el síndrome de fatiga crónica ⁽¹⁹⁾. A su vez en algunas cohortes pequeñas de pacientes con secuelas de COVID-19 se ha demostrado que el subtipo de neutrófilos llamados LDGs por sus siglas en inglés (Low-density granulocytes) pueden persistir en la circulación por períodos de tiempo mayores, posterior a la infección aguda y que esta elevación de LDGs con formación de NETs pudiera estar asociada con el pronóstico y desarrollo de síndrome post-COVID-19⁽¹²⁾.

En un estudio que evaluó los cambios metabolómicos durante la fase post-COVID-19 se observó que la tendencia de los metabolitos evaluados era a la normalización comparado con controles ⁽²⁹⁾. Como ejemplo se encontró que los niveles de glutamina se restablecían rápidamente después de un descenso inicial y se mantenían sin cambios en la fase post-COVID-19, de igual forma se encontraron niveles iniciales elevados de fenilalanina sin embargo en la fase post-COVID-19 los niveles se normalizaron ⁽²⁹⁾. En otro estudio se encontró que los niveles persistentemente elevados de ácido 3 hidroxibutírico en conjunto con ácido nicotínico confieren un efecto anti-inflamatorio en TNF- α disminuyendo el nivel de proteínas (iNOS, COX-2) o citocinas (IL-6 e IL-1 β) que pudieran explicar los niveles elevados de ácido 3 hidroxibutírico ⁽³⁰⁾. Lo anterior sugiere que en efecto estos cambios metabólicos durante la infección aguda pueden regular la

persistencia de la respuesta inflamatoria en COVID-19. Sin embargo actualmente aún es materia de controversia la causalidad de dicha regulación inmunometabólica.

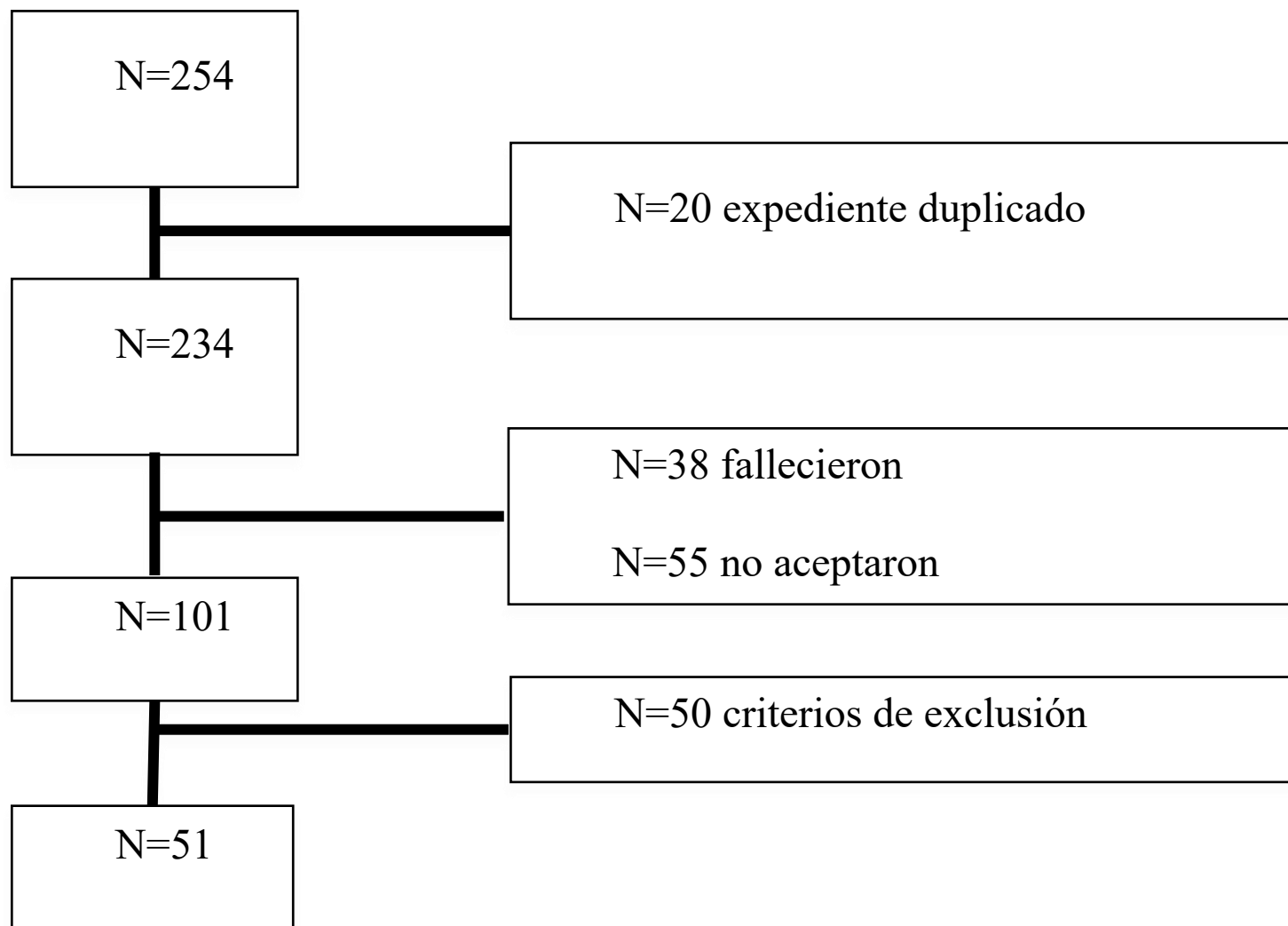
Por su alta prevalencia, el síndrome post-COVID-19 puede constituir un problema de salud pública importante en el corto plazo. Algunos estudios sugieren que hasta en un 63.8% de los pacientes continúan presentando síntomas relacionados a síndrome post-COVID-19 después de los 6 meses. De estos síntomas los más frecuentes han sido fatiga, disnea, debilidad muscular, ansiedad, trastornos del sueño, problemas de concentración, dolor torácico así como problemas cognitivos. ⁽⁹⁾

Dentro de las principales limitaciones del estudio se encuentran que la definición de síndrome post-COVID-19 no se encuentra estandarizada al igual que la forma de evaluar los síntomas, por lo que la prevalencia de síndrome post-COVID-19 es variable dependiendo del estudio consultado, el periodo de seguimiento es corto y de igual forma no se evaluaron parámetros como tomografía computada y/o espirometría. En América Latina se cuenta con rezagos en la atención e identificación de estos pacientes por lo que surge la necesidad de equipos multidisciplinarios para realizar las intervenciones terapéuticas apropiadas, además el surgimiento de clínicas post-COVID-19 podría permitir la intervención oportuna de medidas para identificar pacientes con potenciales factores de mal pronóstico y tal vez cambiar sus desenlaces.

Conclusiones.

Los datos sugieren una fuerte relación entre el estado pro-inflamatorio mediado a través de la exacerbación del daño durante la infección aguda por SARS-CoV-2, promovida por un reclutamiento aumentado de granulocitos inmaduros enriquecidos con citocinas proinflamatorias, lo cual sugiere que pueden tener un papel clave en la fisiopatogenia del sx post-COVID19. Estos hallazgos a su vez pueden estar promovidos por repercusiones en el metabolismo celular posiblemente derivadas de hipoxia (metabolismo de aminoácidos ramificados) y de mecanismos asociados al estrés oxidativo (cisteína/cistina).

Diagrama de flujo.



Tablas

Tabla 1 Características clínicas basales entre paciente con síndrome post-COVID-19 y ausencia de síndrome post-COVID-19

	Total (n:51)	POST-COVID-19 (n:19)	Ausencia de POST- COVID-19(n:32)	VALOR P
Edad (años)(IIC)	49(24-71)	50(29-68)	46(24-63)	0.3
Sexo femenino (%)	19(37.3)	7 (36.8)	12(37.5)	0.963
IMC (IIC)	44.5 (23-45)	44.5(33-45)	44.6(24-45)	0.61
Duración síntomas(meses)	16(7-19)	14.7(8-16)	15.2(7-18)	0.6
Diabetes mellitus (%)	8(15.7)	3 (15.7)	5(15.6)	0.988
Obesidad (%)	15(29.4)	9(47.3)	6(18.7)	<0.03
Hipertensión arterial sistémica (%)	13(25.5)	8(42.1)	5(15.6)	<0.036
ERC (%)	1(2)	1	0	0.190
Gravedad (en infección aguda) Leve o moderado (%)	47(92.2)	17	30	0.5
Grave (%)	4(7.8)	2	2	0.5

(porcentajes, medianas, intervalos intercuartil)

Tabla 2: Síntomas presentes en pacientes con síndrome post-COVID-19 y ausencia de síndrome post-COVID-19

	POST-COVID-19 (N:19)	AUSENCIA DE POSTCOVID-19 (N:32)	Valor de p
Fatiga (%)	19 (100)	7 (21.9)	<0.001
Tos (%)	7 (36.8)	3 (9.4)	0.017
Confusión (%)	4 (21.1)	1 (3.6)	0.03
Disnea (%)	7 (36.8)	1 (3.1)	0.001
Cefalea (%)	11 (57.9)	2 (6.3)	0.001
Sibilancias (%)	2 (10.5)	0	0.06
Fiebre (%)	1 (5.3)	0	0.19
	POST-COVID-19 (N:19)	AUSENCIA POSTCOVID-19 (N:32)	Valor de p
Disminución concentración (%)	10 (52.6)	6 (18.8)	0.012
Disminución memoria (%)	14 (73.7)	5 (15.6)	<0.001
Dolor torácico (%)	2 (10.5)	0	0.05

	POST-COVID-19 (N:19)	AUSENCIA DE POSTCOVID-19 (N:32)	Valor de p
Artralgias	9 (47.4)	9 (28.1)	0.16
Aumento tamaño articular	4 (21.1)	2 (6.3)	0.22
Aumento temperatura articular	2 (10.5)	1 (3.1)	0.27
Eritema articular	2 (10.5)	0	0.06
Rígidez <15min	2 (10.5)	0	0.06
Incapaz vestirse	0	0	1
Incapaz caminar	1 (5.3)	0	1
Incapaz abrir frasco	2 (10.5)	0	0.06

U-Mann Whitney, p significativa <0.05

Tabla 3: Perfil de citocinas y subpoblaciones celulares entre pacientes con síndrome post-COVID-19 y aquellos en ausencia de síndrome post-COVID-19

Citocinas/subpoblaciones	Post-COVID19 (n:19)	AUSENCIA POST-COVID (n:32)	Valor de P
TNF alfa (ng/ml)	64 (21-78)	40 (4-44)	0.001
IP-10 (ng/ml)	1.204 (221-1,806)	1.164 (107-1,200)	0.001
IL-1R (ng/ml)	77.2 (18-152)	50.3 (2-94)	0.001
LDGs (CD10-) (células/microL)	2.1 (0-15)	0.51 (0-5)	0.01

U-Mann Whitney, p significativa <0.05

Tabla 4: Perfil metabólico entre pacientes con síndrome post-COVID-19 y aquellos en ausencia de síndrome post-COVID-19

Metabólica	Post-COVID19 (n:19)	Ausencia POST-COVID (n:32)	Valor de P
Ácido 3- hidroxibutírico	203,838,811 (1x10 ⁶ -977 x10 ⁶)	360,693,577 (1x10 ⁶ -983 x10 ⁶)	0.003

Ácido hidroxisovalérico	344,711,516 (390,811-936x10 ⁶)	216,159,083 (108,297-804x10 ⁶)	0.01
Cisteína	356,114,125 (193,008-991x10 ⁶)	202,285,736 (987x10 ⁶ -988x10 ⁶)	0.003

U-Mann Whitney, p significativa <0.05

Tabla 5. Subpoblaciones celulares con sus respectivos marcadores

Subpoblación	Marcadores
LDG	
Th1	CD4-AF488+, IFN γ -APC+
Th2	CD4-AF488+, IL-4-PE+
Th17	CD4-AF488+, IL17A-BV421+
Tc1	CD8-PE-Dazzle+ , IFN γ -APC+
Tc2	CD8-PE-Dazzle+, IL-4-PE+
Tc17	CD8-PE-Dazzle+, IL17A-BV421+
T vírgenes	CD3+, CD4+, CD8+, CD45RA+, CD45RO-
T de memoria	CD3+, CD4+, CD8+, CD45RA-, CD45RO+
T memoria efectoras (TEM)	CD3+, CD4+, CD8+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L-, CCR7-
T memoria central (TCM)	CD3+, CD4+, CD8+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L+, CCR7+
T con agotamiento	CD3+, CD4+, CD8+, PD1+
T senescencia	CD3+, CD4+, CD8+, CD57+

T anergia	CD3+, CD4+, CD8+, CD73+
T CD4+ reguladoras	CD3+, CD4+, CD25hi, CD127-
B transicionales	CD19pos CD27neg CD38hi CD24hi CD21neg/lo
B vírgenes en reposo	CD19pos CD27neg IgDpos CD38neg CD24neg CD11cneg
B vírgenes activadas	CD19pos CD27neg IgDpos CD38neg CD24neg CD11cpos
Plasmablastos	CD19pos CD27hi CD38hi CD138hi/lo
Memoria clásicas sin cambio isotipo	CD19pos CD27pos IgDpos
Memoria clásicas con cambio isotipo	CD19pos CD27pos IgDneg
Memoria no clásicas IgD neg	CD19pos CD38neg/lo CD24pos CD27neg IgDneg
Memoria no clásicas IgD pos	CD19pos CD38neg/lo CD24pos CD27neg IgDpos
Dobles Negativas 1 (DN1)	CD19pos CD27neg IgDneg CD38neg CD24neg CD21pos CD11cneg
Dobles Negativas 2 (DN2)	CD19pos CD27neg IgDneg CD38neg CD24neg CD21neg CD11cpos
Dobles Negativas 3 (DN3)	CD19 ^{pos} CD27 ^{neg} IgD ^{neg} CD38 ^{neg} CD24 ^{neg} CD21 ^{neg} CD11c ^{neg}
Dobles Negativas 4 (DN4)	CD19 ^{pos} CD27 ^{neg} IgD ^{neg} CD38 ^{neg} CD24 ^{neg} CD21 ^{pos} CD11c ^{pos}

Bibliografia

1. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, et al. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* 2020 doi: 10.1001/jama.2020.12839
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382(8):727-33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017
3. Liu W, Tao ZW, Wang L, et al. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. *Chin Med J (Engl)* 2020;133(9):1032-38. doi: 10.1097/CM9.0000000000000775
4. Moreno-Perez O, Merino E, Leon-Ramirez JM, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: A Mediterranean cohort study. *J Infect* 2021 doi: 10.1016/j.jinf.2021.01.004
5. Peghin M, Palese A, Venturini M, et al. Post-COVID-19 symptoms 6 months after acute infection among hospitalized and non-hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(10):1507–1513.
6. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med.* 2021;27(4):601–615
7. Soriano JB, Murthy S, Marshall JC, WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition, et al. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a delphi consensus. *Lancet Infect Dis.* 2022;22(4):e102–e7.
8. Huang Y, Pinto MD, Borelli JL, et al. COVID symptoms, symptom clusters, and predictors for becoming a Long-Hauler looking for clarity in the haze of the pandemic. *Clin Nurs Res.* 2022;31(8):1390–1398.
9. Ma Y, Deng J, Liu Q, et al. Long-Term consequences of COVID-19 at 6 months and above: a systematic review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(11):6865
10. Amenta EM, Spallone A, Rodriguez-Barradas MC, et al. Postacute COVID-19: an overview and approach to classification. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(12):ofaa509.
11. Sui Y, Potula R, Dhillon N, et al. Neuronal apoptosis is mediated by CXCL10 overexpression in simian human immunodeficiency virus encephalitis. *Am J Pathol.* 2004;164(5):1557–1566.
12. Dean LS, Devendra G, Jiyarom B, Subia N, Tallquist MD, Nerurkar VR, Chang SP, Chow DC, Shikuma CM and Park J (2022) Phenotypic alteration of low-density granulocytes in people with pulmonary post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection. *Front. Immunol.* 13:1076724. doi: 10.3389/fimmu.2022.1076724
13. Seeßle J, Waterboer T, Hippchen T, et al. Persistent symptoms in adult patients 1 year after coronavirus disease 2019 (COVID-19): a prospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 2022;74(7):1191–1198

14. Torres-Ruiz J, Lomelín-Gascón J, Lira-Luna J, et al. FANSY POSTCOV: a composite clinical immunological predictive index for post-COVID-19 syndrome unveils distinctive features in a cohort study of mild to critical patients. *Clinical and Translational Med.* 2021;11(11):e623.
15. Su Y, Yuan D, Chen DG, ISB-Swedish COVID-19 Biobanking Unit, et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell.* 2022;185(5):881–95 e20
16. Liu W, Tao ZW, Wang L, et al. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. *Chin Med J (Engl).* 2020;133(9):1032–1038.
17. Demko ZO, Yu T, Mullapudi SK, et al. Post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC) impact quality of life at 6, 12 and 18 months post-infection. *medRxiv.* 2022
18. Maglietta G, Diodati F, Puntoni M, et al. Prognostic factors for Post-COVID-19 syndrome: a systematic review and Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2022;(6):11
19. Montoya JG, Holmes TH, Anderson JN, et al. Cytokine signature associated with disease severity in chronic fatigue syndrome patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(34):E7150–E7158.
20. Smith M, Honce R, Schultz-Cherry S. Metabolic syndrome and viral pathogenesis: lessons from influenza and coronaviruses. *J Virol.* 2020;94(18):e00665–20.
21. Carfi A, Bernabei R, Landi F, et al. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA* 2020;324(6):603-05. doi: 10.1001/jama.2020.12603
22. Mehandru S, Merad M. Pathological sequelae of long-haul COVID. *Nat Immunol.* 2022;23(2):194–202.
23. Schultheiß C, Willscher E, Paschold L, et al. The IL-1beta, IL-6, and TNF cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19. *Cell Rep Med.* 2022;3(6):100663.
24. Gadotti A.C., Lipinski A.L., Vasconcellos F.T., Marqueze L.F., Cunha E.B., Campos A.C., Oliveira C.F., Amaral A.N., Baena C.P., Telles J.P., et al. Susceptibility of the Patients Infected with Sars-Cov2 to Oxidative Stress and Possible Interplay with Severity of the Disease. *Free Radic. Biol. Med.* 2021;165:184–190. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.044
25. Contreras-Briceño F, Espinosa-Ramírez M, Rozenberg D, Reid WD. Eccentric Training in Pulmonary Rehabilitation of Post-COVID-19 Patients: An Alternative for Improving the Functional Capacity, Inflammation, and Oxidative Stress. *Biology (Basel).* 2022 Oct 1;11(10):1446. doi: 10.3390/biology11101446. PMID: 36290350; PMCID: PMC9598133.
26. Chang R., Mamun A., Dominic A., Le N.T. SARS-CoV-2 Mediated Endothelial Dysfunction: The Potential Role of Chronic Oxidative Stress. *Front. Physiol.* 2021;11:605908.

27. Maes M, Mihaylova I, Leunis JC. Chronic fatigue syndrome is accompanied by an IgM-related immune response directed against neopitopes formed by oxidative or nitrosative damage to lipids and proteins. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; 27:615–621.
28. Maes M. Inflammatory and oxidative and nitrosative stress pathways underpinning chronic fatigue, somatization and psychosomatic symptoms. *Curr Opin Psychiatry*. 2009 Jan;22(1):75-83.
29. Liptak P, Baranovicova E, Rosolanka R, Simekova K, Bobcakova A, Vysehradsky R, Duricek M, Dankova Z, Kapinova A, Dvorska D, Halasova E, Banovcin P. Persistence of Metabolomic Changes in Patients during Post-COVID Phase: A Prospective, Observational Study. *Metabolites*. 2022 Jul 13;12(7):641. doi: 10.3390/metabo12070641.
30. Fu, S. P. *et al.* BHBA suppresses LPS-induced inflammation in BV-2 cells by inhibiting NF- B activation. *Mediat. Inflamm.* **2014**, 98230 (2014).