



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAestrÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE
LA SALUD
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas

Adultos mayores, sobrevivientes de COVID 19,
presentan cambios inflamatorios que se asocian a fragilidad, secuelas
musculoesqueléticas y pulmonares

MODALIDAD DE GRADUACIÓN OPORTUNA
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestría en Ciencias Médicas

PRESENTA:
Daniela Josefina Cataneo Piña

TUTOR
Dra. Ivette Buendía Roldán (INER)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
Dra. Leslie Chávez Galán (INER)
Dr. José Alberto Ávila Fines (INCMNSZ)

Ciudad de México, enero de 2024



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.



Daniela Josefina Cataneo Piña

Nombre y firma del alumno



Dra. Ivette Buendía Roldán

Nombre y firma del tutor



Dr. José Rogelio Pérez Padilla

Nombre y firma del responsable de
la entidad y/o campo disciplinario

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
JUSTIFICACIÓN	8
OBJETIVO	8
MÉTODOS.....	8
RESULTADOS.....	13
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES	42
ANEXOS.....	44
REFERENCIAS	49

Introducción

Los adultos mayores han experimentado el impacto negativo de la pandemia por COVID-19, la cual ha afectado ámbitos como la funcionalidad, desempeño físico, estado de ánimo y calidad de vida [1]. Los adultos mayores que contrajeron la infección por SARS-CoV2 y requirieron ser hospitalizados, sufrieron enfermedad grave en alrededor de la mitad de los casos y enfermedad crítica en el 20% de ellos [2]. Las bases moleculares de la vulnerabilidad a la COVID-19 en adultos mayores ha sido tema de interés, despertando investigaciones que permitan entender estos mecanismos biológicos [3].

El envejecimiento, explica en parte la gravedad de la enfermedad en los adultos mayores con COVID-19, ya que, al disminuir la función en múltiples subtipos celulares, tejidos y órganos, compromete la capacidad para mantener la homeostasis y responder a estímulos externos. La regulación precisa del sistema inmune es susceptible a perderse con el envejecimiento, afectando las cascadas de señalización y comunicación intercelular, lo que puede traducirse en deficiencias importantes en la defensa inmune. Con el envejecimiento se observa una mayor deficiencia en la función de granulocitos, macrófagos y células NK[4], así como disminución en la función de los receptores del sistema inmune innato y el sistema del complemento[5].

La infección aguda por SARS-CoV2 causa una tormenta inflamatoria en casos de enfermedad severa, caracterizada por elevación de la proteína C reactiva, la interleucina (IL)-6, linfopenia, hipoalbuminemia, entre otros[6]. Estos marcadores de inflamación aguda son predictores de la severidad de la enfermedad y mortalidad[7]. La respuesta inmune descontrolada causa un síndrome inflamatorio multisistémico, que es más frecuente en los adultos mayores. Actualmente se conoce que la infección por SARS-CoV2 en etapa aguda desencadena una sobreproducción de citocinas proinflamatorias como IL-6, IL-1 β y factor de necrosis tumoral (TNF)- α . A largo plazo, citocinas como IL-17, IL-2 se asocian a la persistencia de síntomas de COVID largo, los cuales son más frecuentes en personas de 60 años y más[8].

Si bien, los casos de COVID-19 fueron más graves en los adultos mayores al compararlos con la población joven [9, 10] también dentro de este mismo grupo de adultos mayores, encontramos diferentes grados de severidad de la enfermedad[11]. Las diferencias en los patrones de envejecimiento, y por ende, a la severidad de la enfermedad, se deben en alguna medida al balance del sistema inmunológico, que protege al organismo ante el daño conferido por patógenos como el SARS-CoV2[12]. En algunos casos, el balance de las diferentes subpoblaciones del sistema inmune no se mantienen, sometiendo al organismo a una inflamación crónica de bajo grado, también llamada inflammaging[13].

La inflamación crónica sostenida se explica en parte por mecanismos tales como la senescencia celular, la cual ocurre en respuesta a factores estresantes, desajuste metabólico, alteración en la proteostasis, entre otros. Las células senescentes, se llevan a una parálisis en la capacidad proliferativa, resistencia a la apoptosis y secreción de moléculas asociadas al fenotipo secretor senescente[14].

La acumulación de células senescentes en diversos tejidos promueve declive funcional asociado al envejecimiento y la aparición de diversas enfermedades como osteoartritis, fibrosis pulmonar, enfermedades neurodegenerativas y cáncer[15]. Una condición que refleja la acumulación de estos déficits en el organismo, producto de el envejecimiento que ocurre en diferentes medidas en las personas mayores es la fragilidad[16]. La fragilidad consiste en un proceso dinámico originado por la acumulación de daño celular en conjunto con alteraciones en los mecanismos de reparación y defensa contra el daño[17], que compromete al organismo a desenlaces adversos al someterse a diversos estresores[18], manifestando homeostenosis[19].

Un método de medición de la fragilidad se basa en el fenotipo de fragilidad, que se construye con base en cinco parámetros que incluyen la fatiga, pérdida de peso, debilidad, disminución en la velocidad de la marcha e inactividad física, catalogando a una persona como frágil cuando acumula tres o más déficits en estos dominios, prefrágil si tiene la presencia de alteraciones en uno o dos dominios y robusto cuando no presenta ninguna alteración.

La prevalencia de fragilidad incrementa con la edad[20], y al igual que el resto de los fenómenos relacionados con el envejecimiento, se expresa de forma heterogénea entre los individuos, sugiriendo la existencia de componentes que podrían modularse para impactar en la incidencia de fragilidad[21]. Las alteraciones del sistema inmunológico se relacionan con la incidencia de fragilidad, siendo las principalmente descritas, aquellas en las que existe una elevación de citocinas inflamatorias como IL-6, TNF- α o la proteína C reactiva[22, 23].

El estudio de los linfocitos T CD4+ nos permite conocer más a fondo la influencia de la infección sobre el balance de los mecanismos pro y anti inflamatorios a corto y mediano plazo, dado que se atribuye un perfil inflamatorio al subtipo Th1 de los linfocitos T CD4+, con liberación de citocinas proinflamatorias como interferon (INF) γ y TNF- α , mientras que el subtipo de Th2 libera mediadores que suprimen la respuesta inflamatoria como IL-4, IL-10 e IL-13[24].

Las células T CD4 se diferencian dependiendo de señales como el reconocimiento de antígenos peptídicos presentados mediante la interacción con el complejo mayor de histocompatibilidad (MCH) Clase II de las células presentadoras de antígeno, con las moléculas coestimuladoras y mediante señales adicionales dadas por citocinas y quimiocinas[25].

Las células Th1 juegan un rol esencial en el control y regulación de la infección viral, mientras que las células Th2 mantienen el balance de inflamación, y la homeostasis de tejidos. En los individuos jóvenes hay un balance entre ambos subtipos en el transcurso de la infección, siendo las células Th1 las que predominan en etapas tempranas de la respuesta adaptativa de la infección, mientras que las Th2 predominan en etapas tardías[26].

Los adultos mayores, suelen tener una mayor proporción de linfocitos Th1, con mayor proporción de células que contienen INF- γ e IL-2 y menor proporción de células que secreten IL-4 en comparación a sujetos jóvenes[27], lo que es indicativo de un perfil proinflamatorio en adultos mayores. En la etapa aguda de la COVID-19, los pacientes

con enfermedad más severa presentan un desbalance del índice de linfocitos Th2/Th1, y son los factores con factores de riesgo como edad avanzada, sexo masculino y fumadores los que podrían presentar este desequilibrio [28].

Una forma de evaluar el fenotipo de linfocitos T CD4+ es mediante el perfil de citocinas circulantes que se atribuyen a cada subtipo de células[29]. Sin embargo, la producción de estas citocinas pro y anti-inflamatorias no es exclusivo de este subtipo de células, por lo que se han propuesto otros métodos, como la medición de factores nucleares encontrados en cada subtipo linfocitario.

La diferenciación de los linfocitos T cooperadores se determina dependiendo de los antígenos a los que ha sido expuesto, las moléculas co estimuladoras y las citocinas presentes en el medio al momento de la estimulación de la célula.[30] El factor T-box expresado en las células T (T-bet) y la proteína 3 de unión a GATA (GATA-3) son factores de transcripción de células T que regulan la diferenciación hacia genes de citocinas Th1 o Th2. T- bet es un factor de transcripción de Th1 que inhibe la transcripción a Th2 [31], mientras que GATA-3 juega un rol fundamental en el desarrollo del fenotipo Th2, mientras que inhibe a las células Th1 [32]. Se ha probado que estos factores de transcripción están sobre regulados en linfocitos T que producen citocinas inherentes al subtipo de Th1 y Th2, proveyendo un marcador subrogado de estos subtipos celulares[33].

Planteamiento del Problema

El envejecimiento del sistema inmunológico se caracteriza por inflamación crónica de bajo grado, también denominada inflammaging, que podría predisponer a diversas comorbilidades, así como a presentación más severa ante la infección por SARS-CoV 2. Enfermedades como la COVID-19 podrían alterar el curso de la inmuno senescencia al causar una tormenta inflamatoria y con esto también influir en los desenlaces asociados a esta, como el fenotipo de fragilidad. Es de nuestro interés el conocer el perfil inmunológico de los pacientes sobrevivientes de COVID-19 grave, mediante el balance pro/anti inflamatorio observado por el índice de linfocitos

Th1/Th2, y cómo este balance se asocia a la presencia del fenotipo de fragilidad a corto y mediano plazo.

Justificación

El conocer las características de los linfocitos T CD4 y su asociación del estado de fragilidad a corto y mediano plazo en individuos que sobrevivieron a enfermedad grave por COVID-19 nos permitiría explicar diferencias en los patrones de envejecimiento al exponerse a una tormenta inflamatoria como la conferida por el SARS-CoV2 y caracterizar a los pacientes que tengan mayor riesgo de desarrollar el fenotipo de fragilidad. El identificar a los pacientes en mayor riesgo de estos desenlaces, mediado por un fenotipo específico de pro/anti inflamación, nos permitiría intervenir en ellos tempranamente, y con esto prevenir otros desenlaces adversos como discapacidad, caídas, pobre calidad de vida, hospitalizaciones y mortalidad.

Objetivo

Nuestro objetivo fue explorar la asociación entre el fenotipo de fragilidad y las características fenotípicas y funcionales de los linfocitos T CD4 a corto y mediano plazo en adultos mayores supervivientes de COVID grave.

Métodos

Se seleccionó una subcohorte de la cohorte de pacientes Post-COVID 19, del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. Esta cohorte se conformó por todas aquellas personas que acudían a la Unidad de Atención para pacientes con secuelas por COVID 19 grave, definido por los Institutos Nacionales de Salud, como aquellos pacientes con saturación menor al 94% al aire ambiente, un índice de presión parcial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno menor a 300 mmHg, frecuencia respiratoria >30 respiraciones por minuto o infiltrados mayores al 50%[34]. En el programa de atención integral, se dio atención multidisciplinaria por nutrición, rehabilitación, psicología y diversas especialidades médicas, con el fin de resolver las secuelas multiorgánicas derivadas de la COVID 19 grave y la hospitalización

prolongada. La cohorte incluyó a 859 pacientes, los cuales se atendieron por al menos 12 meses desde su primera visita.

De dicha cohorte se seleccionaron a 49 personas de 65 años y más, y se invitaron a participar en el protocolo. Se incluyeron números similares de pacientes con y sin fragilidad en la primera valoración que se realizó a los 4 meses del egreso, estos pacientes debían cumplir con los criterios de inclusión, que consistían en tener 65 años y más y haber cursado con enfermedad grave por COVID y haber egresado en los 4 meses previos al reclutamiento, esto con el fin de permitir una recuperación del periodo inmediato posterior a la hospitalización[35], en el cual la mayoría de los participantes podrían presentar características sugerentes de fragilidad física. Se excluyeron pacientes quienes por comorbilidades de base pudieran tener alteraciones linfocitarias, como aquellos con enfermedades reumatológicas, oncológicas, hematológicas, o quienes se encontraban recibiendo fármacos inmunosupresores.

Los pacientes que dieron su consentimiento para participar en el protocolo fueron evaluados por un médico geriatra quien realizó una evaluación geriátrica integral, evaluación del fenotipo de fragilidad y obtuvo muestra de 10 ml de sangre periférica la cual fue procesada en el laboratorio de inmunología integrativa de la misma institución. Esta valoración se realizó a los 4 y 12 meses del egreso de hospitalización con el fin de identificar los cambios en el fenotipo y función de los linfocitos T de acuerdo a la recuperación del estado de fragilidad en estas dos valoraciones.

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación y el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (Código de aprobación C15-22). Los participantes firmaron el consentimiento informado previo a la toma de mediciones físicas, evaluación geriátrica integral y toma de muestras de sangre periférica (**Anexo 4**).

La determinación del estado de fragilidad se realizó mediante la evaluación de fenotipo de fragilidad modificado, el cual fue validado en población de Mexicana,

utilizado en Americanos que participaron en la versión hispana del estudio epidemiológico de la Encuesta Nacional de Salud y Envejecimiento (ENASEM o MHAS)[36]. Esta escala incluye los mismos cinco dominios propuestos por Fried y colaboradores [19]. El fenotipo modificado ha demostrado tener una correlación positiva con una mayor carga de comorbilidad, peor autopercepción de salud y tener un desempeño similar en la predicción de riesgo de discapacidad y mortalidad. El fenotipo modificado incluye los cinco apartados previamente mencionados, y su categorización se realizó de acuerdo a como se indica en el **anexo 1**. Además se realizó medición de pruebas de desempeño físico, categorizándose como sugerentes de fragilidad de acuerdo a puntos de corte previamente establecidos, las cuales incluyeron velocidad de la marcha[37], fuerza de presión[19], y la prueba corta de desempeño físico (SPPB), siendo los pacientes que obtuvieron 8 puntos o menos en esta prueba los que se determinaron como frágiles. La categorización de estos puntajes se realizó como se establece en el **anexo 2**.

La fenotipificación de los linfocitos T de sangre periférica

A través de punción venosa se obtuvieron 10 ml de sangre periférica. Se hizo una dilución 1:2 de la sangre con PBS (Solución salina con Buffer de Fosfato).

En un tubo cónico de 15 ml se añadieron 3 ml de Ficoll-Paque (Lympho-prep™; Axis-Shield, Oslo, Noruega) y se añadieron 10 ml de muestra diluida con PBS. Las muestras fueron centrifugadas durante 30 minutos a 800 xg para la obtención del gradiente celular de Ficoll. Colectamos las células mono-nucleares (CMN) en un nuevo tubo de 15 mL y se realizó lavado de células adicionando 8mL de PBS y centrifugación por 10 minutos a 350 xg. Después del lavado, descartamos el sobrenadante y el pellet que contiene a las CMN, se re suspendió en 1 ml de PBS. La viabilidad celular fue evaluada por el método de exclusión con azul de tripano utilizando una cámara de Neubauer.

Las CMN fueron almacenadas en crioviales a una densidad máxima de 10×10^6 CMN por vial, y se congelaron gradualmente en un contenedor con alcohol isopropílico hasta llegar a -70°C , entonces, los viales fueron transferidos a un tanque de nitrógeno

líquido a -80° C hasta ser utilizadas. Se descongelaron las células para su procesamiento y posterior al conteo celular se distribuyeron en las distintas condiciones experimentales a evaluar.

Cultivo celular

Para el análisis de fenotípico de las células mononucleares se incubaron en placas de cultivo de 24 pozos durante 24 horas en RPMI a 37°C 5%CO₂. Las CMN fueron incubadas por 24 hrs en tres distintas condiciones: RPMI (control), anti-CD3/anti-CD28 y otra condición adicionando un control de isotipo. Después de 1 hora de estímulo se añadió 1 µL/ml de brefeldina 1000x. después de 24 horas el sobrenadante fue colectado y las CMN recuperadas con PBS. Las CMN fueron lavadas por centrifugación y contadas nuevamente con azul de tripano y cámara de Neubauer.

Tinción para citometría de flujo

Las células se resuspendieron en buffer de tinción (Cell staining Buffer, BioLegend). Adicionamos entonces anticuerpos acoplados a fluorocromos para marcar los antígenos de membrana incubando 25 minutos a 4 °C. Posteriormente las células fueron lavadas por centrifugación y resuspendidas en 100 µL de solución BD Cytotfix/Cytoperm y se incubaron a 4 °C por 25 minutos. Se realizaron tres mezclas de anticuerpos, la primera para detectar la etapa de maduración de los linfocitos T CD4/CD8, con anticuerpo CCR7, CD3, CD4, CD8 y CD45 RA. La segunda, para la detección de linfocitos Th1 con los anticuerpos anti CD3, CD4, T-BET y TIM 3 y la tercera, para la detección de linfocitos Th2 (CD3, CD4, GATA-3) **(Anexo 3)**.

Después del proceso de fijación y permeabilización, adicionamos los anticuerpos para la detección de citocinas intracelulares y factores nucleares, las CMN se incubaron nuevamente por 25 minutos a 4 °C. Enseguida, las CMN fueron lavadas por centrifugación y resuspendidas en buffer de fijación, en el cual se mantuvieron hasta la adquisición en el citómetro.

Citometría De Flujo

Previo a la lectura de las muestras en el citómetro de flujo, se realizó una compensación de los anticuerpos marcados para evitar el traslape de la emisión

producida por los fluorocromos. Las muestras se leyeron en el citómetro de flujo BD FACS Aria II (Becton Dickinson), adquiriendo entre 30-50 mil eventos para analizar las poblaciones linfocitarias. Los datos se analizaron con el software FlowJo V10.0.8 (BD).

La estrategia de selección para la subpoblación a estudiar, se realizó en primer plano seleccionando eventos simples, comparando tamaño (altura vs área) y granularidad (altura contra área) y después se seleccionaron a las células linfocitarias (tamaño vs granularidad). Se seleccionaron las ventanas dependiendo de los anticuerpos con los que se macó cada tubo del experimento. Se utilizaron controles FMO (Fluorescence Minus One) para trazar las ventanas de las principales poblaciones celulares de interés.

En el programa PRISMA se analizaron las diferencias entre pacientes frágiles y no frágiles a los 4 y 12 meses de seguimiento, en la expresión de subtipos de células T, así como de expresión de marcadores inflamatorios en estas, detectados por citometría de flujo.

Métodos Estadísticos

Se realizó un cálculo del tamaño de muestra basándonos en el estudio de Pansarasa y cols.[38], en donde se analizó la diferencia entre la expresión de citocinas proinflamatorias dependiendo del estado de fragilidad, donde para encontrar una diferencia con un alfa 0.05 y beta 0.2, se requería una N de 9 individuos por grupos. Se utilizó el programa Stata v13 para realizar los análisis estadísticos.

Se describieron las características demográficas y comorbilidades con frecuencias y porcentajes para variables categóricas y medianas y rangos intercuartílicos para variables continuas. Se analizaron las diferencias entre las comorbilidades y variables demográficas, de acuerdo al estado de fragilidad a los 12 meses, mediante análisis univariado con prueba exacta de Fisher para variable categóricas y prueba U de Mann-Whitney para variables continuas.

El análisis de la diferencia entre el porcentaje de células positivas a marcadores Th1 como el factor nuclear T-Bet y las citocinas intracelulares: TNF, INF- γ , e IL-10 y de TH2 como el factor nuclear GATA-3 y la IL-4 intracelular dependiendo del estadio de fragilidad y el tiempo de la medición (4 o 12 meses) se realizó mediante la prueba Anova de múltiples vías.

La comparación entre la presencia de los factores nucleares y citocinas en el mismo sujeto en dos momentos (a los 4 y 12 meses), dependiendo de su estado de fragilidad, se realizó mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Se analizaron las diferencias entre los pacientes que mejoraron el fenotipo de fragilidad contra los que no mejoraron al seguimiento, con respecto a la expresión de factores nucleares, citocinas y el índice T-Bet/Gata3 mediante la prueba Wilcoxon.

Se analizó la asociación entre las pruebas de desempeño físico individuales, tales como la velocidad de la marcha, la Bateria Corta de Desempeño físico (SPPB) y la fuerza de prensión a los 4 y 12 meses y diversos marcadores linfocitarios mediante regresión lineal.

La correlación entre las pruebas de función pulmonar así como los marcadores de maduración de los linfocitos CD4+ y de la diferenciación de Th1/Th2 se analizó mediante una matriz de correlación de Pearson o Spearman de acuerdo a su distribución, se consideró como significativa a aquellas correlaciones con un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Características generales y datos demográficos

Se reclutaron 49 pacientes para el presente estudio, después de realizar el cálculo del tamaño de muestra, se decidió elegir a 18 pacientes con fragilidad y 8 pre-frágiles para obtener de estos la muestra de sangre periférica y las mediciones del fenotipo de fragilidad de los 4 y 12 meses.

A 26 pacientes se les logró obtener muestra de sangre periférica y realizar las pruebas de desempeño físico y medición del fenotipo de fragilidad 4 y 12 meses del egreso. Se perdieron 7 muestras por falta de viabilidad de las células obtenidas al conteo después de descongelarse, a 1 paciente solo se pudo evaluar la muestra de la valoración de primera vez y a 6 de ellos la muestra de valoración de 1 año de seguimiento, dado que la muestra de sangre periférica de la primera medición no tuvo suficientes células para medir los marcadores de interés. Por lo anterior, se contó con 26 pacientes, con un total de 52 muestras completas de 4 y 12 meses con su respectiva evaluación del fenotipo de fragilidad.

El 73% de los pacientes fueron mujeres (n=19) y la mediana del grupo fue de 72.4 años (RIC 66.9-83.8). El 61.5% de los pacientes provenían de la Ciudad de México y 38.5% del Estado de México. El 50% de los pacientes tenían una escolaridad de al menos 9 años, mientras que el 20.8% de los pacientes no tenían escolaridad. El 38.5% de los pacientes era viudo y el 34% casado. En cuanto al estado de fragilidad, 18 pacientes lo presentaban en la primera valoración y 16 lo hacían a un año de seguimiento.

Las variables relacionadas a hospitalización de la muestra categorizadas de acuerdo al estado de fragilidad a los 12 meses se distribuyeron de la siguiente forma: la mediana de días de estancia intrahospitalaria fue de 19.5 días para el grupo con sin fragilidad a 1 año y de 17.5 días para el grupo con fragilidad. A 1 año de seguimiento el 60% de los pacientes sin fragilidad y 62.5% de los pacientes frágiles requirieron ventilación mecánica invasiva, con una mediana de 10.5 y 10 días de VMI para cada grupo, respectivamente (**Tabla 1**). Con respecto a las comorbilidades, el 34.6% de los pacientes tenía como factor de riesgo el tabaquismo, 50% tenía antecedente de consumo de alcohol, 30.7% exposición a humo de leña y 15.4% tabaquismo pasivo. Las comorbilidades más frecuentes fueron hipertensión arterial sistémica en 76.92%, diabetes mellitus tipo 2 en 53.8%, osteoartritis en 35%, cardiopatía isquémica en 23%, enfermedad pulmonar obstructiva crónica en 19.2% e hipotiroidismo en 15.4%.

Tabla 1. Características demográficas, variables asociadas a hospitalización y comorbilidades categorizadas de acuerdo al estado de fragilidad a 1 año de seguimiento

	Sin fragilidad n=10	Con fragilidad n=16	p
Sexo femenino (n, %)	7 (70)	12 (75)	0.56
Estado civil casado (n, %)	4 (40)	5 (31.25)	0.61
Edad (mediana, RIC)	68.72 (66.9-72.3)	76.8 (69.3-84.9)	0.03
Ventilación Mecánica Invasiva (n,%)	6 (60)	10 (62.5)	0.61
Días de VMI (mediana, RIC)	10.5 (0-20)	10 (0-16)	0.91
Días de estancia intrahospitalaria (mediana, RIC)	19.5 (12 - 27)	17.5 (6-24)	0.37
Esquema completo de inmunización contra SARS-CoV 2 (n, %)	4 (40)	11 (68.75)	0.14
Traqueostomía (n, %)	1 (10)	1 (6.25)	0.63
Gastrostomía (n, %)	1 (10)	1 (6.25)	0.63
Diabetes Mellitus tipo 2 (n, %)	7 (70)	7 (43.75)	0.25
Hipertensión Arterial Sistémica (n, %)	5 (50)	15 (93.75)	0.018
Cardiopatía isquémica (n, %)	2 (20)	4 (25)	0.58
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (n, %)	2 (20)	3 (18.75)	0.66
Síndrome de Apnea Obstructiva del sueño (n, %)	0	1 (6.25)	0.61
Hipotiroidismo (n, %)	1 (10)	3 (18.75)	0.49
Enfermedad Acido-péptica (n, %)	4 (40)	3 (18.75)	0.23

Síntomas Post-COVID

Los síntomas post-COVID más frecuentes en la primera valoración fueron: disnea en 73%, fatiga en 60% y los síntomas ansiosos y depresivos en 41.7% de los pacientes. En la valoración subsecuente, a 1 año del egreso, los síntomas más frecuentes fueron fatiga moderada (ENA >3) en 66.6%, dolor moderado (ENA>3) en 42.1%, queja de memoria en 47.4%, dolor articular en 52.6%, dolor muscular en 47.4%, síntomas depresivos en 42.1% y tos en 21.05% de los casos. No se observaron diferencias en la presentación de síntomas post-COVID a los 4 meses del egreso (**Tabla 2**). Después de 12 meses del egreso, los pacientes con fragilidad tuvieron una mayor carga de síntomas, principalmente disnea, insomnio, fatiga y dolor muscular (**Tabla 3**).

Tabla 2. Síntomas post COVID de acuerdo al estado de fragilidad a los 4 meses

	Pre-fragilidad n=8	Fragilidad n=18	p
Síntomas depresivos (n, %)	2 (25)	9 (50)	0.23
Síntomas ansiosos (n, %)	2 (25)	9 (50)	0.23
Insomnio (n, %)	2 (25)	5 (27.8)	0.63
Disnea (n, %)	5 (62.5)	13 (72.2)	0.67
Fatiga (n, %)	3 (37.5)	12 (66.7)	0.17
Tos (n, %)	0	4 (22.2)	0.28
Cefalea (n, %)	1 (12.5)	0	0.3
Dolor muscular (n, %)	0	3 (16.7)	0.67

Tabla 3. Síntomas post COVID a los 12 meses de acuerdo al estado de fragilidad basal

	Pre-fragilidad n=8	Con fragilidad n=18	p
Síntomas depresivos (n, %)	3 (37.5)	6 (40)	0.63
Síntomas ansiosos (n, %)	0	5 (33.3)	0.09
Insomnio (n, %)	0	6 (40)	0.05
Disnea (n, %)	2 (20)	14 (87.5)	0.001
Fatiga (n, %)	4 (40)	15 (100)	0.001
Tos (n, %)	1 (12.5)	4 (26.7)	0.62
Cefalea (n, %)	1 (12.5)	4 (26.7)	0.62
Dolor muscular (n, %)	1 (12.5)	10 (66.67)	0.03

Valoración Geriátrica

En cuanto a los dominios geriátricos, el 45.8% de los pacientes tenía déficit auditivo, el 25% déficit visual, el 42.3% tenía dependencia moderada a grave (Barthel <60 puntos) en la primera valoración, recuperándose al un nivel de independencia completa en el 90% de los casos en la valoración de 12 meses. La mediana del puntaje del índice de Barthel a los 4 meses fue de 77.5 (RIC 25-95) y de 100 a los 12 meses (RIC 90-100). El puntaje total del índice de Lawton fue de 3.5 (RIC 1-6) puntos a los 4 meses de seguimiento, recuperando a 7.5 (3.5-8) puntos al año de seguimiento.

La valoración de sarcopenia de acuerdo al tamizaje SARC-F, un 76.9% tenía dificultad para cargar 5 kg en la primera valoración y un 56% en la valoración anual. El 50% de los pacientes tenía dificultad para caminar en la valoración inicial y el 32% lo presentaba en la valoración anual. Un 61.5% de los pacientes refirió dificultad para levantarse de la silla en la valoración inicial y un 36% persistía con esta limitación después de 1 año del egreso. La dificultad para subir un piso de escaleras estaba presente en 65.5% de los pacientes en la primera valoración y en 56% de ellos al año de seguimiento. Un 19.2% de los pacientes refería haber tenido al menos una caída en el último año en la valoración inicial, lo cual incrementó a 40% en la segunda valoración. 53.8% de los pacientes tenía tamizaje positivo para sarcopenia (SARC-F 4 o más puntos) en la primera valoración y 34.6% a un año del egreso.

Con respecto al tamizaje de fragilidad de acuerdo a la escala FRAIL, el 11.5% de los pacientes fue categorizado como robusto (FRAIL=0) en la primera valoración, 38.5% de los pacientes tenía pre fragilidad (FRAIL=1-2 puntos) y 50% fue catalogado como frágil (FRAIL=3-5 puntos) (**Tabla 4**).

Tabla 4. Dominios de la Valoración Geriátrica Integral en la primera y segunda valoración

	Primera valoración n=26	Segunda valoración n=26	p
Puntaje total del índice de Barthel (mediana, RIC)	77.5 (25-95)	100 (90-100)	0.001
Puntaje total de Lawton (mediana, RIC)	3.5 (1-6)	7.5 (3.5-8)	0.002
Puntaje total SARC-F (mediana, RIC)	4 (1-7)	2 (0-5)	0.04
Puntaje total FRAIL (mediana, RIC)	2.5 (1-4)	2 (0-3)	0.11
Sarcopenia (SARC-F \geq 4 puntos) (n, %)	14 (53.8)	9 (34.6)	0.13
Fragilidad (FRAIL \geq 4 puntos) (n, %)	13 (50)	10 (38.5)	0.29

Mediciones de Desempeño Físico

Se realizaron pruebas de desempeño físico en la primera y segunda valoración, en la prueba corta de desempeño físico SPPB, se observó limitación en el equilibrio en 50% de los casos en la primera valoración y en 39.3% en la segunda valoración, mientras que pobre desempeño en la caminata de 4 metros y en la prueba de la silla se encontró en 65.4 y 84.6% respectivamente en la primera valoración y 65.3% y 91.3% en la segunda valoración. En la primera valoración, 50% de los pacientes tenía pobre desempeño físico (0-6 puntos), 19.2% tenía desempeño físico moderado (7-9 puntos) y 31.07% tenía buen desempeño físico (10-12 puntos). Después de 1 año del egreso, el 21.1% tenía pobre desempeño físico, 48.87% desempeño físico moderado y 21.74% buen desempeño físico.

Las medianas y rangos intercuartílicos del resto de pruebas de desempeño físico en la primera valoración fueron: para mujeres, velocidad de la marcha de 0.66 m/seg (0.48-1), prueba de la silla 12.9 seg (11.9-17) y fuerza de prensión de 14.2 (0.1-18.2); para hombres, velocidad de la marcha de 0.7 m/seg (0.4-1.1), prueba de la silla 13.7 seg (10.9-17.5) y fuerza de prensión de 18.4 (13.8-31.5). En la valoración de 1 año de seguimiento, se obtuvieron los siguientes puntajes de las pruebas de desempeño físico: para mujeres, velocidad de la marcha de 0.63 m/seg (0.53-0.8), prueba de la silla 19.85

seg (14.69-28) y fuerza de prensión de 18.5 kg (15.6-19.5); para hombres, velocidad de la marcha de 1 m/seg (0.66-1.08), prueba de la silla 14.2 seg (11-20.4) y fuerza de prensión de 29.83 kg (21.3-34.63) (**Tabla 5**).

Tabla 5. Mediciones de desempeño físico de acuerdo al sexo

	Femenino (n=19)	Masculino (n=7)	p
Velocidad de la marcha a los 4 meses (mediana, RIC)	0.66 (0.48-1)	0.7 (0.4-1.1)	0.75
Velocidad de la marcha a los 12 meses (mediana, RIC)	0.62 (0.57-0.8)	1 (0.66-1.08)	0.048
Fuerza de prensión a los 4 meses (mediana, RIC)	14.2 (9.1-18.2)	18.4 (13.8-31.5)	0.07
Fuerza de prensión a los 12 meses (mediana, RIC)	18.2 (15.2-19.25)	29.8 (21.3-34.63)	0.01
SPPB a los 4 meses (mediana, RIC)	7 (3-11)	5 (4-11)	0.68
SPPB a los 12 meses (mediana, RIC)	7 (6-9)	9 (9-11)	0.06
Prueba de la silla a los 4 meses (mediana, RIC)	12.9 (11.9-17)	13.7 (10.9-17.5)	0.95
Prueba de la silla a los 12 meses (mediana, RIC)	20.2 (14.7-28)	14.2 (11-20.4)	0.14

El desempeño en las pruebas de función respiratoria fue similar entre los pacientes frágiles o no frágiles a un año de seguimiento en cuanto a los niveles de DLCO y el índice VEF1/FVC, se encontró una diferencia significativa entre los litros de VEF1 y CVF, siendo estos mayores en los pacientes no frágiles a un año. No se encontró diferencia en los porcentajes de predicho de la CVF, FEV1 o DLCO entre ambos grupos (**Tabla 6**).

Tabla 6. Pruebas de función pulmonar a un año del egreso dependiendo del fenotipo de fragilidad basal

	Sin fragilidad n=7	Con fragilidad n=13	p
CVF en litros (mediana, min-max)	2.9 (1.9-4.2)	2.1 (1.6-3.8)	0.01
CVF % predicho (mediana, min-max)	102 (75-107)	86 (53-116)	0.64
VEF1 en litros (mediana, min-max)	2.6 (1.6-3.7)	1.8 (0.9-2.4)	0.008
VEF 1 % predicho (mediana, min-max)	110 (83-114)	88 (48-137)	0.16
VEF1/CVF (%) (mediana, min-max)	80.9 (77.8-89.7)	82.6 (39.4-91.9)	>0.9
DLCO en litros (mediana, min-max)	4.8 (3.9-5.2)	5.04 (1.3-6.4)	0.82
DLCO % predicho (mediana, min-max)	81 (61-97)	67.5 (41-90)	0.11

Se empleó la prueba U de Mann-Whitney para analizar las diferencias entre grupos.

Fenotipificación de linfocitos T dependiendo del fenotipo de fragilidad en la valoración inicial

Se realizó la fenotipificación de los linfocitos T en los pacientes en su valoración inicial y se realizó comparación de sus proporciones de acuerdo al estado de fragilidad. Se encontró una media de 49.6% de células CD4+ en pacientes frágiles y 52.14% en pacientes no frágiles (p 0.98), mientras que los porcentajes de células CD8+ fueron de 47.6% en pacientes frágiles y 50.2% en pacientes no frágiles (p 0.98) **(Figura 1 a)**. Al analizar las diferencias en los subtipos celulares, se encontró que tanto los pacientes frágiles como los no frágiles tienen una mayor proporción de linfocitos CD4+ de memoria central que de memoria efectora, siendo estas diferencias estadísticamente

significativas (**Figura 1 b**). No se encontraron diferencias en los subtipos de células CD8+ (**Figura 1 c**).

Figura 1. Marcadores de estadio de maduración de linfocitos T CD4+ Th1/Th2 dependiendo del estadio de fragilidad a los 4 meses de seguimiento

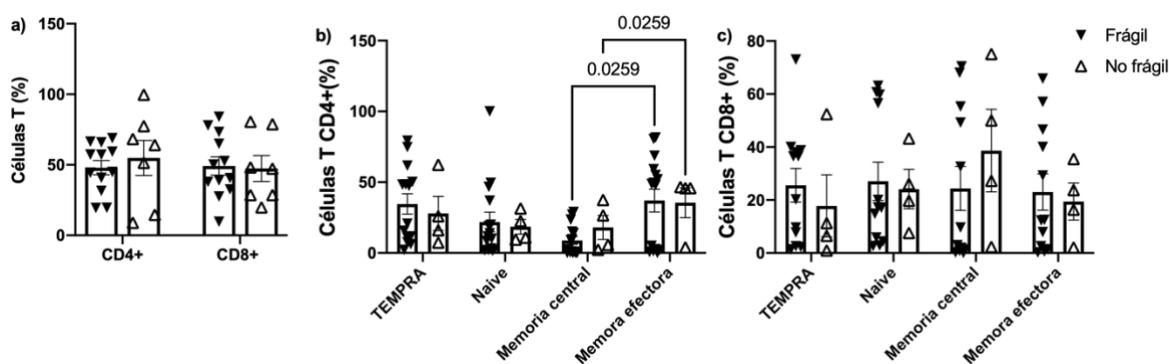


Figura 1. El porcentaje de células CD4 y CD8 no se afecta dependiendo del estado de fragilidad. Tanto los pacientes frágiles como los no frágiles tienen un menor porcentaje de células CD4+ de memoria central en comparación con las de memoria efectora. No se encontró diferencias en los subtipos de las células CD8+ dependiendo del estadio fenotipo de fragilidad.

Asociación entre el fenotipo de fragilidad y los marcadores Th1/Th2 en la valoración inicial

En la valoración inicial, la mediana del porcentaje de células CD4+ T-Bet+ fue de 76.8 (7.4-87.4) en pacientes frágiles y de 71.7 (11.1-94.4) en pacientes no frágiles. La mediana del porcentaje de células CD4+ GATA-3+ fue de 10.4 (0.5-45.6) en pacientes frágiles y de 5.4 (0.2-37.5) en pacientes no frágiles. Se encontró una mayor proporción de linfocitos CD4+ T-Bet+ tanto en pacientes frágiles como en los no frágiles, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (**Figura 2**).

Figura 2. Factores nucleares de linfocitos T CD4+ Th1/Th2 dependiendo del fenotipo de fragilidad en la valoración inicial

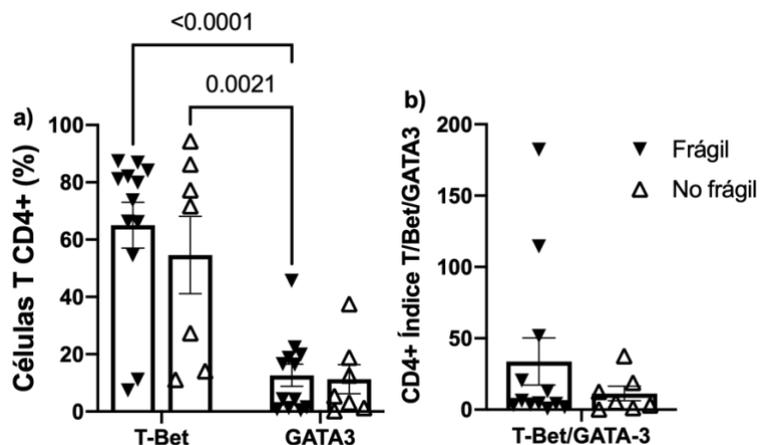


Figura 2. Los pacientes frágiles y no frágiles mostraron una mayor proporción de linfocitos CD4+ T-Bet+ que de CD4+ GATA-3+. No se encontró diferencia significativa en el índice T-Bet/GATA-3 en pacientes frágiles o no frágiles en la valoración inicial.

Con respecto a las citocinas intracelulares en la valoración de cuatro meses, se encontró una mediana de porcentaje de células CD4+ TNF+ de 0.78 (0.06-14.7) en pacientes frágiles y de 4.2 (1.5- 62.2) en pacientes no frágiles. La mediana del porcentaje de CD4+ IFN- γ + fue de 0.1 (0-23.7) en pacientes frágiles y de 0.1 (0-2) en pacientes no frágiles. La mediana de CD4+ IL-10+ en pacientes frágiles fue de 18.9% (0-43.4%) en pacientes frágiles y de 13.2 (0-29.8) en pacientes no frágiles. Se encontró una mayor proporción de linfocitos CD4+ IL-10+ en comparación con células CD4+ IFN- γ + tanto en pacientes frágiles como no frágiles (**Figura 3 a**). La mediana del porcentaje de células T CD4+ TIM3+ fue de 1.9% (0.3-37.4) en pacientes frágiles y de 21.9 (0.9-80.3) en pacientes no frágiles, sin encontrarse una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos (**Figura 3 b**).

Figura 3. Citocinas Th1/Th2 dependiendo del fenotipo de fragilidad en la valoración inicial

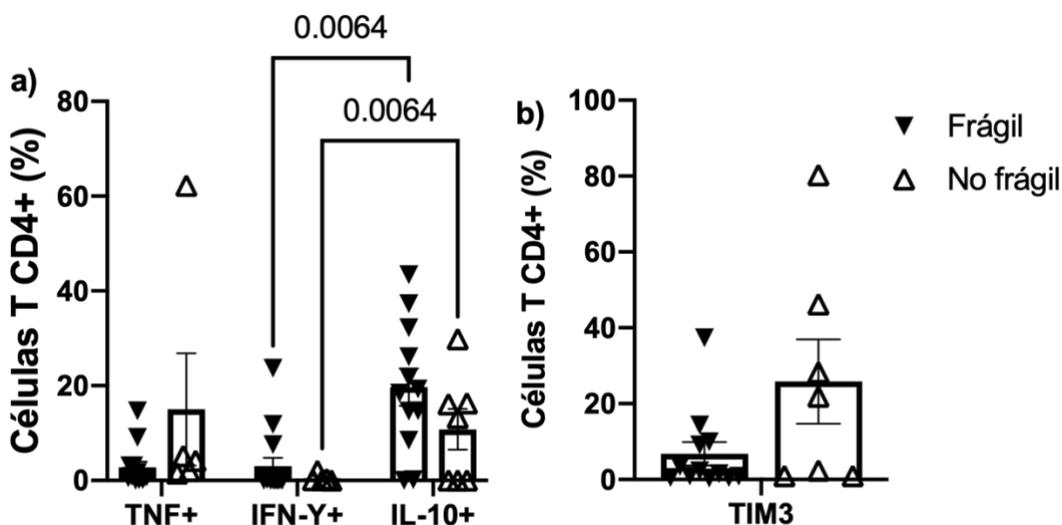


Figura 3. Tanto los pacientes frágiles como los no frágiles expresan una mayor proporción de células CD4+ IL-10+ en comparación con las células T CD4+ IFN-γ+. No se encontró una diferencia en la proporción de células CD4+TIM-3+.

Subtipos de linfocitos T CD4+ dependiendo de la mejoría en el fenotipo de fragilidad al seguimiento

De acuerdo al índice de fragilidad utilizado en la Encuesta Mexicana de Salud y Envejecimiento (ENASEM) un 69% de los pacientes catalogó positivo para fragilidad en la primera valoración y un 61.5% lo hicieron en la valoración de 1 año de seguimiento. Con respecto a los cambios en el estado de fragilidad al seguimiento, un 50% (n=13) de los pacientes mejoró respecto a su estado de fragilidad basal, mientras que un 50% (n=13) no mejoró con respecto a su estado de fragilidad.

En cuanto a los linfocitos CD4+ vírgenes, en la primera valoración, los pacientes que no mejoraron el estado de fragilidad mostraron una mediana de porcentaje de 15.4 (2.2-53) y a los 12 meses de 11.7 (2.7-42.2%). Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad tuvieron una mediana de porcentaje de linfocitos T CD4+ de 11.9% (1.5-2.1) a los 4 meses y de 9.7 (2.1-49.4%) a los 12 meses del seguimiento.

La mediana del porcentaje de células CD4+ de memoria central fue de 28.2% (6.2-64.8) en pacientes que no mejoraron a los 4 meses y de 30.5% (4.8-68.8) a los 12

meses. Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad tuvieron una mediana de porcentaje de 34.5 (7.5-69.3) a los 4 meses y de 28.6 (11.6-52.2) a los 12 meses.

Con respecto a las células CD4+ de memoria efectora, la mediana del porcentaje fue de 45.8% (2.1-61.5) a los 4 meses, en los pacientes que no mejoraron su estado de fragilidad y de 42.1% (2.5-62) a los 12 meses. Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad, tuvieron una mediana de 50.5% (4.3-68.7) de células CD4+ de memoria efectora a los 4 meses y de 51 (5.9-64.4) a los 12 meses.

La mediana del porcentaje de células CD4+ TEMRA fue de 4.1% (0-27.4) a los 4 meses en los pacientes que no mejoraron y de 1.7 (0.3-37.4) a los 12 meses. Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad, tuvieron una mediana de 4.9% (0.04-23.6) a los 4 meses y de 3.7 (0-33.3) a los 12 meses.

No se encontró una diferencia entre los porcentajes de los diferentes subtipos de células CD4+ en pacientes que mejoraron y los que no mejoraron en el estado de fragilidad ni a los 4 o 12 meses de seguimiento (**Figura 4**).

Figura 4. Subtipos de células CD4+ dependiendo de la mejoría en el fenotipo de fragilidad a los 4 y 12 meses de seguimiento

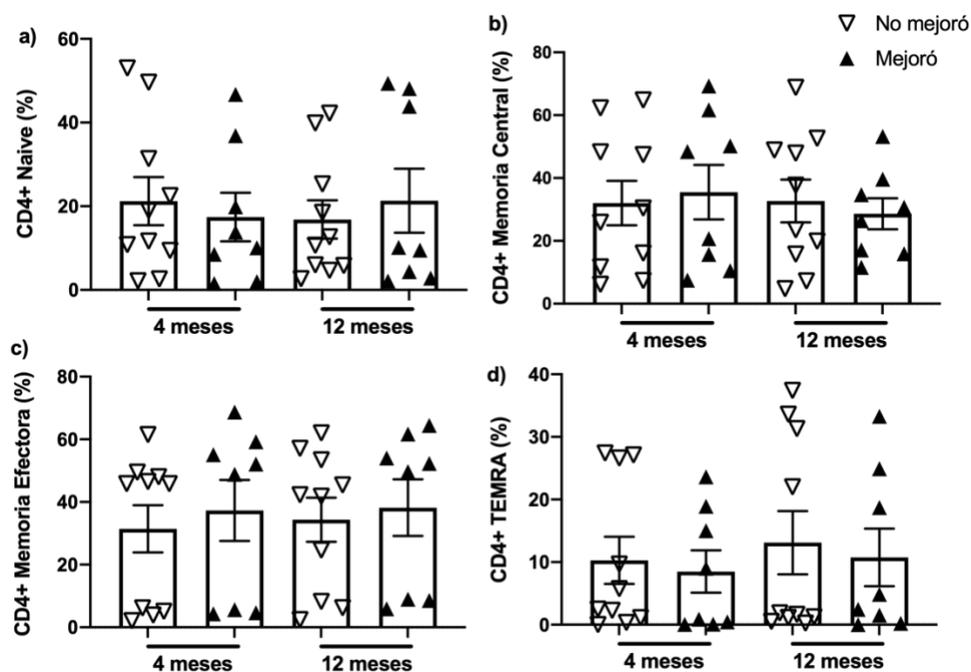


Figura 4. Los pacientes frágiles y no frágiles expresan el mismo porcentaje de subtipos de células T CD4+ independientemente de la mejoría en el estado de fragilidad, tanto a los 4 como a los 12 meses.

Citocinas Th1/Th2 dependiendo de la mejoría del fenotipo de fragilidad

A los 4 meses, la mediana de porcentaje de T-Bet de los pacientes que no mejoraron el fenotipo de fragilidad fue de 74.5% (14.1-94.4) y de 73.7 (17.4-87.4) en los pacientes que mejoraron. A los 12 meses, la mediana de porcentaje de las células positivas para este factor nuclear fue de 74.2 (10.5-87.9) en los pacientes que no mejoraron y de 70.9 (15.2-84.2) en los pacientes que mejoraron.

Con respecto al factor nuclear GATA-3+, la mediana del porcentaje de células positivas fue de 16.2% (7.5-65.6) a los 4 meses en pacientes que no mejoraron y de 4.2 (0.8-18.7) en pacientes que mejoraron. A los 4 meses, la mediana de porcentaje de CD4+ GATA-3+ a los 12 meses fue de 5.8 (1-19.1) en pacientes que no mejoraron y de 10.6 (2.6-44.6) en pacientes que mejoraron.

El índice T-Bet/GATA-3 fue de 3.2 (0.3-12.6) a los 4 meses en los pacientes que no mejoraron y de 14.8 (4-114.3) en pacientes que mejoraron. A los 12 meses, la mediana de este índice fue de 8.5 (3.4-41.8) en pacientes que no mejoraron y de 4.6 (1.7-14.1) en los pacientes que mejoraron.

Los pacientes que no mejoraron el fenotipo de fragilidad tuvieron un menor índice Th1/Th2 en comparación con aquellos que se recuperaron, esto se explica con un mayor porcentaje de linfocitos T CD4+ GATA-3 en aquellos pacientes que no se recuperaron, sugiriendo una mayor proporción de células Th2 a cuatro meses en aquellos que no se recuperaron (**Figura 5**).

Figura 5. Factores nucleares Th1/Th2 dependiendo de la mejoría en el fenotipo de fragilidad

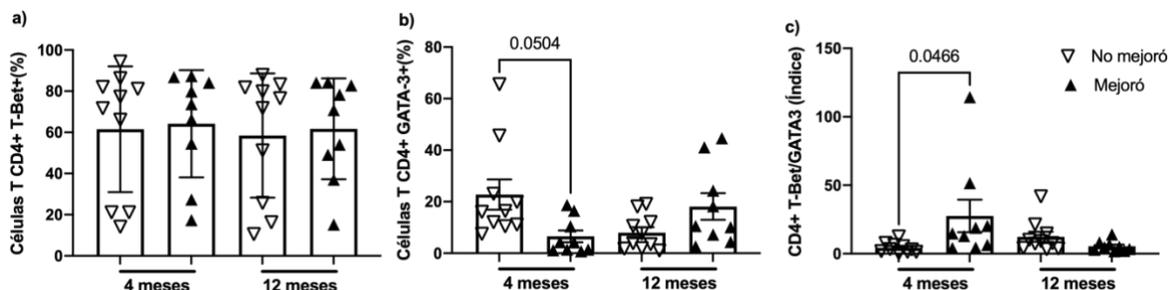


Figura 5. Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad tuvieron un mayor índice T-Bet/GATA-3 en la valoración de 4 meses, corroborado por un menor porcentaje de células T CD4+ GATA-3+ en estos pacientes que mejoraron.

Citocinas Th1/Th2 intracelulares de acuerdo a la mejoría en el estadio de fragilidad

Este estudio evaluó el porcentaje de células positivas para citocinas intracelulares en adultos mayores, analizando su relación con la mejora en el fenotipo de fragilidad a los 4 y 12 meses. A los 4 meses, aquellos que no experimentaron mejoría en fragilidad mostraron mayores niveles de células CD4+TNF+ 1.5% (0.6-5.1) en comparación con los que mejoraron 0.4%, (0.05-3.1). En CD4+IFN- γ +, los adultos mayores mejoradores presentaron un incremento significativo (0.9%, 0-2) en comparación con los que no mejoraron (0.1%, 0-0.3). Asimismo, CD4+IL-10+ mostró un aumento en los que mejoraron (19.3%, 0-32.2) frente a los no mejoradores (15.4%, 0-29.8). En cuanto a las células CD4+TIM-3+, los adultos mayores no mejoradores exhibieron la mediana más alta (11.2%, 0.9-46.2), mientras que los que mejoraron mostraron el mínimo (1.6%, 0.3-14.4) a los 4 meses. A los 12 meses, estas tendencias persistieron, resaltando la asociación entre la mejora en el estado de fragilidad y la expresión específica de citocinas en células CD4+.

Los pacientes que se recuperaron del fenotipo de fragilidad, tuvieron un mayor porcentaje de células T CD4 positivas para IFN- γ a 12 meses de seguimiento, comparados con aquellos que no se recuperaron. Así mismo, los pacientes que se recuperaron mostraron una elevación de células positivas para TNF y TIM-3 intracelular a los 12 meses (**Figura 4**). De igual manera, se observó una elevación de las citocinas proinflamatorias circulantes IFN- γ , TNF y el mediador TIM-3 en aquellos pacientes que mejoraron el estado de fragilidad a 12 meses (**Figura 5**).

Figura 6. Citocinas intracelulares a los 4 y 12 meses dependiendo de la mejoría en el fenotipo de fragilidad

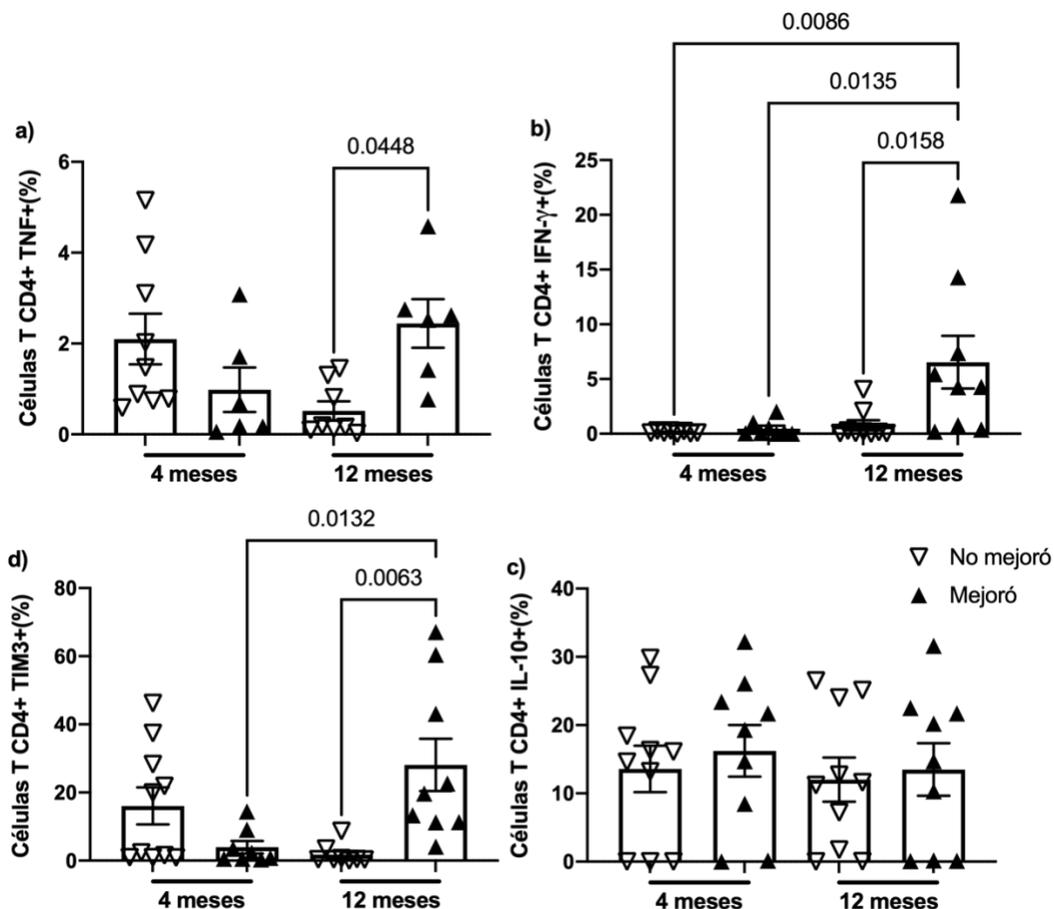


Figura 6. Los pacientes que mejoraron el estado de fragilidad tuvieron una mayor proporción de células CD4+ TNF+, IFN- γ y TIM-3+ a los 12 meses, en comparación con los pacientes que no mejoraron. Los pacientes que mejoraron mostraron una elevación de IFN- γ y TIM-3 comparando la medición de los 4 con la de 12 meses.

Citocinas Th1/Th2 circulantes de acuerdo a la mejoría en el fenotipo de fragilidad

A los 4 meses, aquellos que no mostraron mejoría en fragilidad exhibieron niveles de células CD4+TNF+ y CD4+IFN+ del 0% al 5.9% y del 0% al 105%, respectivamente. En contraste, los que mejoraron no presentaron expresión de CD4+IFN+ y tuvieron un rango del 0 a 55 pg/ml en CD4+TNF+. En CD4+GAL-9+, se observaron niveles más altos en los adultos mayores que mejoraron, con valores que oscilaron entre 3389 y 5585, en comparación con los no mejoradores, cuyos niveles

variaron entre 2237 y 3899. Asimismo, en CD4+TIM-3+, los que mejoraron mostraron niveles más elevados (rango: 1705-9532) en comparación con los no mejoradores (rango: 1371-4912). Estas diferencias persistieron a los 12 meses, destacando la importancia de la expresión diferencial de citocinas en la dinámica de fragilidad en adultos mayores.

Figura 7. Diferencia en los niveles de citocinas circulantes de acuerdo a la mejoría en el fenotipo de fragilidad

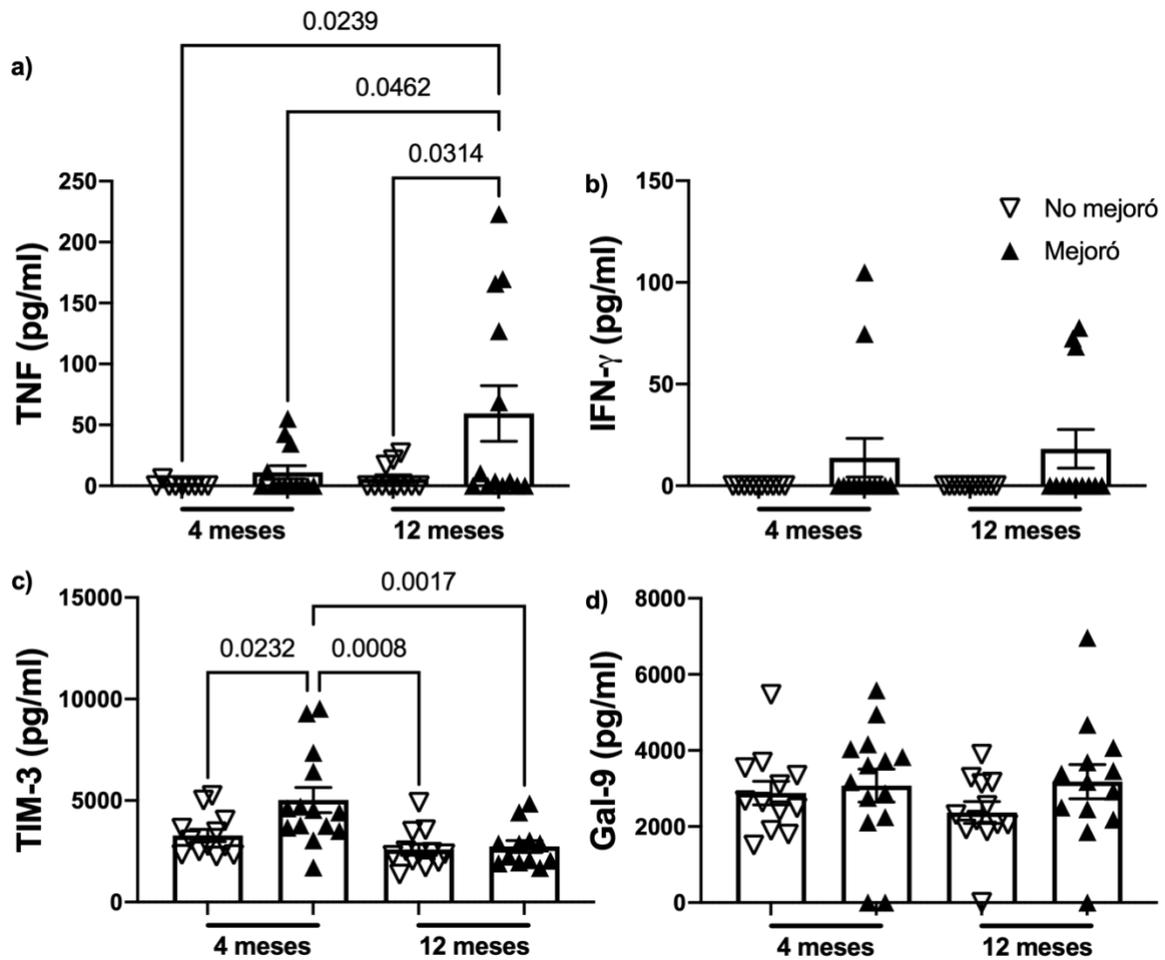


Figura 7. Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad mostraron una mayor concentración de TNF+ circulante a los 12 meses con respecto a los que no mejoraron, así como una elevación de esta citocina con respecto a como se encontraba a los 4 meses. De igual forma, los pacientes que mejoraron el fenotipo de fragilidad tuvieron una mayor concentración de TIM-3 circulante a los 4 meses, al compararlo con los que no mejoraron tanto a los 4 como a los 12 meses.

Correlación entre el estadio de maduración de linfocitos CD4 y marcadores Th1/Th2 con las función musculoesquelética determinada por pruebas de desempeño físico

Se realizó una regresión lineal para analizar la asociación entre el índice T-Bet/GATA3+ y las diferentes mediciones de desempeño físico, encontrando una asociación negativa significativa entre el índice T-Bet/GATA3+ en la primera valoración y la fuerza de prensión, velocidad de la marcha y el SPPB al año de seguimiento (**Tabla 7**).

Tabla 7. Regresión lineal del índice T-Bet/GATA 3 en la primera valoración y las variables de desempeño físico

Variable	Coef	Error estándar	p	IC 95%	
FP 4 m	-2.97	1.78	0.113	-6.7	0.78
FP 12 m	-2.84	1.52	0.078	-6.05	0.36
VM 4 meses	-75.87	44.48	0.105	-169	17.75
VM 12 meses	-108.015	46.22	0.031	-205.13	-10.9
SPPB 4 meses	-5.31	3.82	0.181	-13.34	2.71
SPPB 12 meses	-10.79	4.65	0.032	-20.57	-1.01

FP= fuerza de prensión

VM= Velocidad de la marcha

Con respecto a los estadios de maduración de los linfocitos T CD4+ el tener un mayor porcentaje de linfocitos T de memoria central (CD4+ CD54RA-CCR7+) se correlacionó de forma negativa a la velocidad de la marcha y el SPPB a los 12 meses (**Tabla 8**), mientras que el tener una mayor proporción de linfocitos T efectores en la primera valoración (CD4+ CD54RA+CCR7-) se asoció positivamente a un mejor desempeño en la prueba SPPB al año de seguimiento (**Tabla 9**).

Tabla 8. Regresión lineal del conteo de Linfocitos CD4+ memoria central (CD45-CCR7 +) en la primera valoración y las variables de desempeño físico

Variable	Coef	Error estándar	p	IC 95%	
FP 4 m	-1.12	0.68	0.12	-2.57	0.32
FP 12 m	-0.62	0.62	0.33	-1.94	0.69
VM 4 meses	-14.68	18.04	0.427	-52.75	23.38
VM 12 meses	-39.49	17.8	0.041	-77.11	-1.86
SPPB 4 meses	-2.12	1.48	0.18	-5.25	1.01
SPPB 12 meses	-5.27	1.60	0.004	-8.64	-1.89

FP= fuerza de prensión

VM= Velocidad de la marcha

Tabla 9. Regresión lineal del conteo de linfocitos CD4+ efectores- RA (CD45+ CCR7 -) en la primera valoración y las variables de desempeño físico

Variable	Coef	Error estándar	p	IC 95%	
FP 4 m	0.48	0.32	0.158	-0.204	1.163
FP 12 m	0.19	0.29	0.52	-0.433	0.823
VM 4 meses	0.414	8.57	0.962	-17.68	18.51
VM 12 meses	9.89	9.13	0.294	-9.37	29.16
SPPB 4 meses	0.529	0.72	0.473	-0.99	2.05
SPPB 12 meses	1.82	0.847	0.046	0.038	3.612

FP= fuerza de prensión

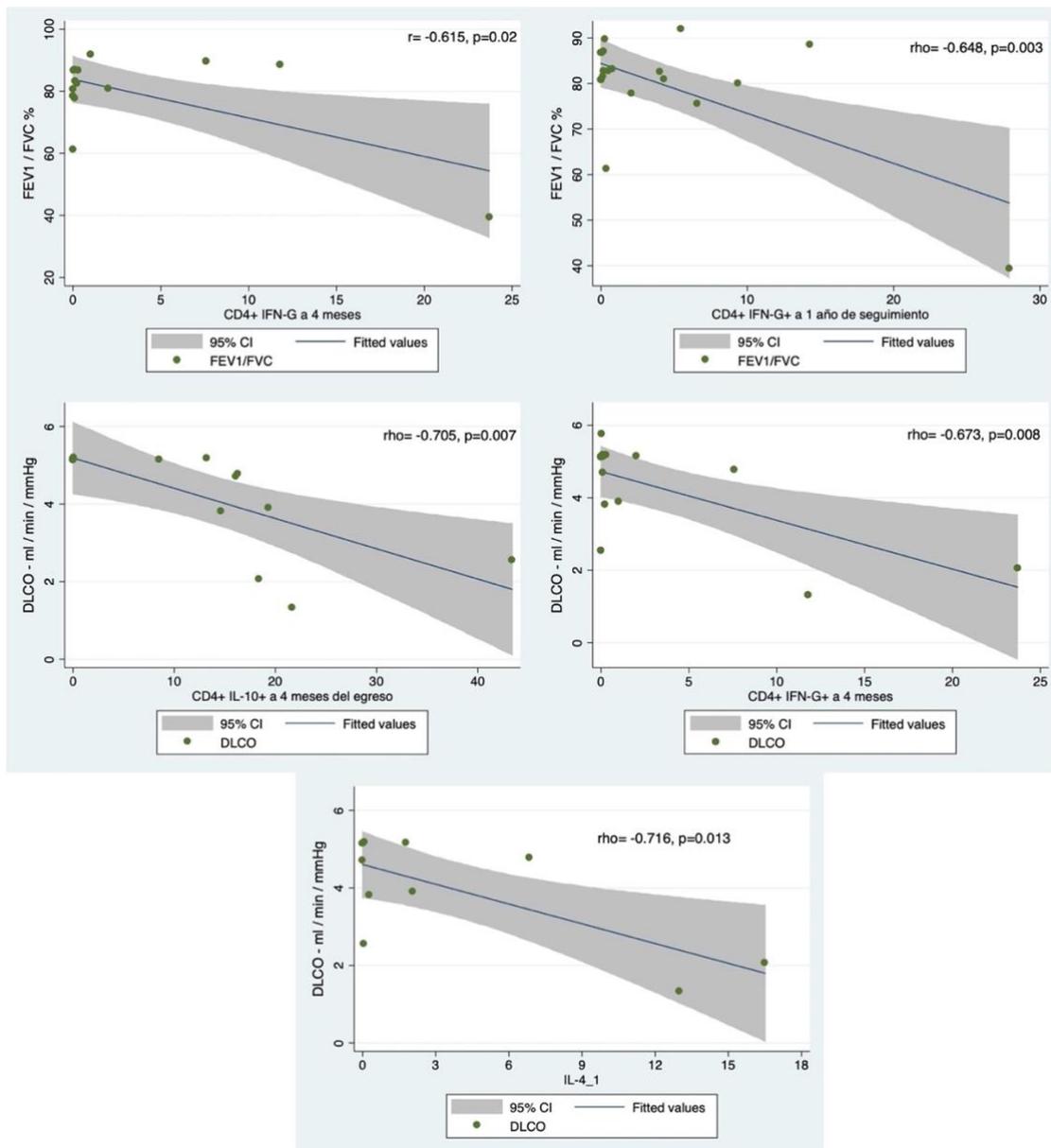
VM= Velocidad de la marcha

Correlación entre el estadio de maduración de linfocitos CD4 y marcadores Th1/Th2 con la función pulmonar

Mediante el análisis de correlación de los marcadores inflamatorios con el desempeño de las pruebas de función pulmonar a un año de seguimiento, utilizando el método de Pearson o Spearman de acuerdo a la distribución de la variable dependiente, se observó una correlación significativa entre la citocina proinflamatoria INF- γ + y una menor función pulmonar medida mediante el índice FEV1/FVC y menor difusión de monóxido de carbono a un año de seguimiento (Figura 6).

El índice FEV1/FVC mostró una correlación negativa con las células CD4 positivas a interferón gama intracelular tanto a 4 meses del egreso de hospitalización por COVID (rho -0.615, p 0.02), como al año de seguimiento (rho -0.648, p 0.003). La difusión del monóxido de carbono tuvo una correlación negativa con el porcentaje de células CD4+ positivas a diversas citocinas inflamatorias presentes a los 4 meses del egreso, tales como interleucina 10 (rho -0.705, p 0.007), interferón gamma (rho -0.673, p 0.008) e interleucina 4 (rho -0.716, p 0.013).

Figura 6. Correlación entre las mediciones de función pulmonar y las citocinas proinflamatorias



Discusión

En este estudio describimos la trayectoria del fenotipo de fragilidad después de un año de seguimiento posterior a la infección por SARS-CoV2, así como los mecanismos inflamatorios relacionados a la presencia de esta condición y su recuperación. La prevalencia de fragilidad se asoció de forma significativa a factores previamente descritos, como son una mayor edad[39], y el tener hipertensión arterial sistémica[40]. A pesar de que el envejecimiento no es sinónimo de fragilidad, parte del sustrato de este fenómeno conlleva mecanismos relacionados con el envejecimiento, y explica la progresión de la fragilidad[41]. De igual manera, la hipertensión incrementa el riesgo de enfermedad cardiovascular, enfermedad arterial periférica y deterioro cognitivo, todos estos predisponiendo a un mayor riesgo de fragilidad[42]. Además de asociarse a una mayor prevalencia de hipertensión, el tener fragilidad se asocia también a un peor control de esta[43].

Los individuos que presentaban fragilidad en la valoración basal, tuvieron también una mayor prevalencia de síntomas a un año de seguimiento, tales como disnea, fatiga y dolor muscular. Si bien, algunos de los componentes del fenotipo de fragilidad comparten también aquellos del síndrome postCOVID, tal como la fatiga, otros marcadores de desempeño físico, como la disminución en la velocidad de la marcha y la pobre fuerza de prensión, pueden ser predictores de una mayor prevalencia de secuelas a largo plazo, como se muestra en las pruebas de función pulmonar. Los pacientes frágiles en la primera valoración tuvieron una mediana más baja de capacidad vital forzada, así como de volumen espiratorio forzado a un año de seguimiento. En otros contextos, como sería la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fragilidad se asocia a un peor desempeño en las pruebas de función pulmonar[44]. A pesar de que un menor volumen espiratorio forzado o una menor capacidad vital forzada se asocian a una mayor incidencia de fragilidad en el seguimiento, en nuestro caso, encontramos que, en enfermedades agudas inflamatorias, tales como la COVID-19, el tener fragilidad se asocia a una peor función al seguimiento, sugiriendo un mecanismo causal entre estas condiciones.

A pesar de que el envejecimiento se ha descrito como un proceso azaroso de acumulación de daño, se sabe también no ocurre así en todos los individuos por igual, es un proceso heterogéneo, que conlleva cambios moleculares los cuales varían dependiendo del individuo, en parte determinado por las exposiciones a las que el individuo ha estado expuesto a lo largo de la vida[45]. Estos estresores pueden ir desde factores ambientales y socioeconómicos[46], hasta la exposición a procesos inflamatorios, como lo sería la infección por SARS-CoV 2 abordada en este estudio. La complejidad e integración del sistema inmune nos ofrece un panorama de la función de un organismo en general y cómo se ha afectado con el envejecimiento[47], por lo que el estudio de cómo se asocia al fenotipo de fragilidad y las características de este, asociadas a una recuperación de este estado, nos ayudan a entender los mecanismos de respuesta a estresores que deben ser considerados para considerar a un adulto mayor como resiliente.

La afección del SARS-CoV 2 sobre el sistema inmune produce efectos a corto plazo, los cuales han sido descritos previamente[48], sin embargo, los efectos a mediano o largo plazo no están completamente dilucidados. El estrés agudo que produjo esta enfermedad inflamatoria, podría desembocar en una adaptación o deterioro progresivo, y esto a su vez, llevar al desarrollo de fenotipos sistémicos, como el de la fragilidad.

Las modificaciones de la respuesta inflamatoria que ocurren con la edad dan pie a una inflamación crónica dinámica, progresiva y sistémica, denominada inflammaging, que se ha descrito como un incremento en los factores pro inflamatorios y disminución en los mecanismos anti inflamatorios[49], y se ha asociado a desenlaces adversos, como una mayor prevalencia de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas[50], musculoesqueléticas y cáncer[51]. En nuestro estudio, observamos un índice mayor T-Bet/Gata3 en aquellos individuos frágiles a los 12 meses comparados con los pacientes frágiles a los 4 meses y con los no frágiles a los 12 meses. Lo anterior sugiere una mayor proporción de células proinflamatorias Th1 en los pacientes frágiles, apoyando el efecto

deletéreo de los mecanismos pro-inflamatorios en desenlaces poco favorables, como la fragilidad.

Una mayor proporción de células Th1 se correlacionó de forma negativa con parámetros de desempeño físico, como la fuerza de prensión, la velocidad de la marcha y el SPPB en la primera valoración, sugiriendo que niveles basales más altos de células proinflamatorias podrían afectar negativamente el desempeño muscular en etapas tempranas posteriores a una infección aguda.

La inmunidad mediada por las células T es una de las que sufre los principales cambios derivados del envejecimiento, caracterizado por involución tímica, observada por una disminución en el volumen tanto de la corteza como de la médula, la desorganización de la arquitectura de las células epiteliales y el reemplazo del estroma por tejido adiposo[52], y derivando en defectos en las células hematopoyéticas, con disminución en la diferenciación del linaje linfoide, disminución en la generación de precursores linfoides y un incremento en la diferenciación mieloide[53]. Con el envejecimiento existe una disminución en el número de linfocitos T así como en la diversidad del repertorio de sus receptores, con pérdida en la diversidad de la respuesta[54]. Otras funciones alteradas en las células T incluyen una reducción en la proliferación, en la función efectora, la formación de sinapsis, deteriora la generación de señales intermediarias, frena la inducción de factores de transcripción y produce diferenciación incompleta de las moléculas efectoras y de su diferenciación[55].

Además de los cambios previamente comentados, en el envejecimiento de los linfocitos T se observan otros cambios que comparten con los pilares del envejecimiento en otros tejidos, tales como la disfunción mitocondrial con la subsecuente adquisición de un fenotipo proinflamatorio, pérdida de la proteostasis y un desequilibrio entre las células T vírgenes y las células T de memoria las cuales se acumulan con el envejecimiento como resultado de estimulación antigénica.[56]

El envejecimiento conlleva un desgaste continuo en sistemas fisiológicos, que convergen en una fatiga de la capacidad intrínseca, y predisponen a mayor

susceptibilidad ante estresores.[57] La recuperación ante estos estresores depende de la reserva biológica[58], la cual disminuye ante la presencia de diversos factores tales comorbilidades o como en este caso, la exposición a enfermedades agudas que simulan un envejecimiento acelerado.

Las consecuencias de enfermedades inflamatorias como la COVID-19 impactan de forma significativa los servicios de salud y pueden ser causantes de discapacidad a largo plazo, por lo que entender las bases biológicas de los pacientes que presentan fragilidad a mediano plazo, después de haber atravesado una enfermedad grave por COVID-19, puede ayudarnos a identificar factores que los predispongan a presentar este estado de fragilidad a largo plazo y guiar terapias efectivas. Siguiendo esta línea en otros países, como Reino Unido[59] y los Estados Unidos Americanos[60], se han establecido comunidades científicas enfocadas a realizar investigación que permita entender el espectro de recuperación del COVID largo y descibir las causas biológicas que pueden estar relacionadas con el desarrollo de COVID largo.

La infección por SARS-CoV 2 puede tener efectos deletéreos en adultos mayores, tales Aunque se conoce que el SARS-CoV 2, así como otras enfermedades como el SARS y MERS (Middle East Respiratory Syndrome) promueven un estado pro inflamatorio, y se asocian a secuelas después de la infección,[61, 62] hasta ahora no se había descrito la proporción de linfocitos T en pacientes que sufrían este tipo de enfermedades, ni cómo la proporción de estos influía en la aparición de secuelas a corto y mediano plazo en adultos mayores, como en este caso, el estado de fragilidad.

La COVID-19 puede tener efectos perjudiciales en pacientes mayores ,como disminución en la capacidad funcional, alteraciones en el desempeño físico, bienestar emocional y un mayor riesgo de fragilidad[63]. Estos efectos están vinculados a alteraciones en el sistema inmunológico, incluida la inflamación crónica y la respuesta inmunitaria alterada [64]. Los patrones de células T en envejecimiento, caracterizados por niveles elevados de células T auxiliares, células T efectoras CD8 +, células B ingenuas y células T de memoria efectoras CD4 +, contribuyen al desarrollo de autoinmunidad latente y fragilidad en individuos post-COVID [65].

Los eventos celulares y moleculares que ocurren posterior a procesos inmunológicos como los ocurridos tras la infección por SARS-CoV 2 podrían definirse como retos inflamatorios. Esta respuesta inflamatoria varía dependiendo del tipo de estímulo generado, ayudando inicialmente a combatir al estresor que lo desencadenó y resolver el daño ocasionado por este. Sin embargo, si la inflamación no termina de forma efectiva, puede dar como resultado inflamación crónica causante de mal funcionamiento de los tejidos y sistemas.[66]

Nuestro estudio se adentra en el equilibrio linfocítico como indicador de una menor resistencia y una disminución de la probabilidad de recuperación de la fragilidad después de una enfermedad viral grave como el COVID-19. Los pacientes que mejoraron su estado de fragilidad mostraron un perfil Th1 elevado durante su evaluación inicial y una mayor producción de citoquinas Th1 en el seguimiento al año. Estos hallazgos sugieren que restablecer una respuesta inmunológica equilibrada, especialmente promoviendo la activación de las células Th1, puede facilitar la recuperación de la fragilidad en individuos afectados por el COVID-19. Lo anterior implica que la respuesta inmunitaria, especialmente el equilibrio entre las células Th1 y Th2, podría desempeñar un papel crucial en la determinación de la recuperación de la fragilidad después de la infección aguda por SARS-CoV-2.

En la etapa aguda de la COVID-19, los adultos mayores presentan elevación predominante de IL-6, sobre todo aquellos con comorbilidades, asociándose esto también a una mayor severidad de la enfermedad. En el estudio de Freitas et al[8], en el cual se evaluaron los niveles de citocinas en pacientes con COVID-19 agudo y con condición post COVID. Los pacientes con síntomas persistentes de COVID-19 mostraron niveles más altos de IL-17 e IL-2 que los pacientes sin secuelas, y aquellos asintomáticos presentaron niveles mayores de IL-10 e IL-4. Los pacientes de 60 años y más aquellos con comorbilidades tuvieron niveles más altos de IL-6, intensificando el proceso inflamatorio a largo plazo. Los pacientes con COVID largo mostraron así, una posible firma molecular caracterizada por un perfil inflamatorio de Th17, con una reducción en la respuesta anti inflamatoria mediada por IL-4 e IL-10. Estos hallazgos se confirman

en nuestro estudio, dado que aquellos pacientes con menor afección a largo plazo, en este caso evaluada mediante el fenotipo de fragilidad, muestran una mayor proporción de células con efecto anti inflamatorio Th2 medido por el factor nuclear GATA-3 que aquellos con mayor fragilidad, que mostraron una mayor proporción de células inflamatorias Th1.

La activación del sistema inmune contra el virus puede activar los mecanismos inflamatorios a largo plazo, causando fatiga de estos sistemas, y contribuyendo a la inmunosenescencia. La inmunosenescencia acelerada por la infección grave por SARS-CoV-2 puede contribuir a la aparición de secuelas a largo plazo, predisponiendo también a una respuesta ineficaz ante las infecciones.[67]

La hiperactivación inflamatoria derivada de la infección aguda por SARS-CoV 2 se ha propuesto como un mecanismo de aceleración de la senescencia de las células inmunes. Las células senescentes están en un estado de parálisis en el ciclo celular, pero se mantienen metabólicamente activas, secretando moléculas bioactivas, con lo denominado el fenotipo secretor asociado al envejecimiento (SASP por sus cifras en inglés “senescence associated secretory phenotype”)[68]. El SASP generalmente se describe como proinflamatorio y sus componentes incluyen factores de señalización como quimiocinas (proteínas quimioatrayentes de monocitos, proteínas inflamatorias de macrófagos y eotaxinas), citocinas (IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-13, IL-15), factores moduladores del crecimiento (IGF, EGF, FGF, VEGF), angiogénicos, proteasas, metaloproteinasas de matriz. El SASP suele describirse como proinflamatorio y tiene un impacto en las células dependiendo de su tipo y de los estímulos que originaron esta senescencia, como podría ser senescencia replicativa[69], inducida por daño en el DNA, inducida por oncogenes[70], por cambios en la estructura telomérica, cambios epigenéticos[71], disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, radiación o privación de nutrientes. El SASP promueve efectos asociados con remodelamiento de los tejidos, modulan la migración celular, inducen a senescencia periférica[72] y activación de las células inmunes[73]. Dependiendo del contexto, el SASP puede tener efectos benéficos o deletéreos, eliminando células dañadas al estimular a las células inmunes pero

también creando un microambiente inflamatorio que puede dañar a los tejidos. El SASP puede contribuir a la inflamación relacionada con el envejecimiento, la disregulación metabólica, enfermedades crónicas y síndromes geriátricas.

Esta hiperactivación, la cual se refuerza por las alteraciones características de la senescencia celular, da como resultado una parálisis células en los linfocitos T. En el estudio de Kalfaoglu y colaboradores[74]se demostró que la infección severa por SARS-CoV 2, las células T CD4 hiperactivadas se diferenciaban a múltiples subtipos celulares, demostrando características multifacéticas entre Th1 y Th2. Los pacientes con infección severa tenían una menor expresión de genes inducidos por interferón y un incremento en genes inmunorreguladores tales como marcadores de activación de células T reguladoras y checkpoints inmunes como CTLA4, TIM-3 y galactina-3. Dependiendo del tiempo de evolución, y de la severidad del cuadro, las células T sobrerregulan la expresión de citocinas atribuibles a Th1 o Th2, principalmente con IL-10 sin cumplir con expresión de otras citocinas atribuibles a Th2 como IL-4, IL-5 e IL-13, concluyendo la existencia de células T efectoras multifacéticas.

Con el propósito de analizar la contribución de un medio senescente en la diferenciación de los linfocitos T en respuesta a un desafío infeccioso; en el estudio de Lorenzo y colaboradores[75], se basaron en un modelo animal al que expusieron a infección por el virus de influenza y analizaron la diferenciación hacia células Th1 o Treg, dependiendo de la expresión de los factores de transcripción T-bet y FoxP3 respectivamente. Observaron que en las células pulmonares de ratones viejos, había una mayor diferenciación hacia células T reguladoras, explicado por mayores niveles de TGF-B, característico del SASP[76], el cual contribuye a la diferenciación hacia este subtipo celular. Además, analizaron el impacto de la administración de los senolíticos dasatinim + quercentin, sin encontrar un impacto de estos sobre la diferenciación de los linfocitos T ni sobre la proporción de linfocitos T de memoria o efectores.

La diferenciación de linfocitos T se ve influenciada por el envejecimiento, ya que hay una pérdida en la quiescencia y se adquiere una fase diferenciada, lo cual puede desviar hacia un tipo específico de linaje y pérdida de la plasticidad celular, lo que

compromete su capacidad para responder a nuevos estímulos antigénicos [77]. En el caso de los pacientes que cursaron con infección por SARS-CoV 2, la expresión del factor pro inflamatorio INF- γ atribuido a Th1 es mayor en pacientes que fallecieron y sobretodo en etapas más tempranas de la enfermedad, mientras que el factor IL-4, quien juega un rol crucial en la vía Th2, a pesar de estar incrementado en etapas finales de la infección, no se asocia a una mayor mortalidad [78].

Al comparar los individuos que mejoraron con aquellos que no lo hicieron, con respecto al fenotipo de fragilidad, encontramos que aquellos pacientes que mejoraron tuvieron en la medición de 4 meses, una menor proporción de células Th2 representadas por un menor porcentaje de linfocitos positivos para el factor nuclear GATA-3, lo que va ligado con un mayor índice T-bet/Gata-3 en la primera valoración en aquellos que mejoraron. A diferencia del paradigma convencional, en donde una mayor proporción de células pro-inflamatorias es considerado deletéreo, en este caso, una mayor proporción de células Th2, caracterizado por la presencia del factor nuclear GATA3, se asoció a una ausencia de mejoría. Esto no es del todo raro, en la etapa aguda, este imbalance hacia TH2 se ha asociado a una peor progresión del COVID-19 agudo, asociandose a mayor mortalidad y necesidad de cuidados críticos[79]. Una mayor proporción de linfocitos Th2, en otros contextos, se ha asociado a una peor función de las células T en enfermedades autoinmunes[80] una mayor proporción de Th2 con una mayor prevalencia de síntomas post-COVID[81],[82], así como fragilidad persistente[83].

Por otro lado Los pacientes que mejoraron tenían niveles más bajos de citocinas circulantes IFN- γ y TNF, así como de TIM-3 en la valoración inicial, y estos se elevaron al año de seguimiento, resultando en niveles significativamente mayores que aquellos pacientes que no se recuperaron.

A pesar de no haber una diferencia significativa entre los niveles de citocinas proinflamatorias circulantes entre la primera y segunda valoración en pacientes que no se recuperaron, se puede observar niveles basales más altos de citocinas inflamatorias en esa población, y una incapacidad para la elevación de estos marcadores al año de

seguimiento. Esto sugiere un mecanismo diferente al inflammaging, en el que una inflamación exacerbada basal predisone a enfermedades crónicas y a desenlaces adversos. En este caso, los niveles basales eran más bajos, sin embargo, observamos una adecuada función de los linfocitos T, con una capacidad conservada para producir estas citocinas. A pesar de que en otros estudios, la elevación de la producción de citocinas pro inflamatorias se considera un efecto deletéreo y persistente del COVID-19[65], en nuestro caso, el incremento en la producción de citocinas entre la primera y segunda valoración, se asoció con mejoría significativa.

Esta elevación de citocinas inflamatorias entre la primera y la segunda valoración, nos podría estar mostrando características inmunes de un organismo resiliente, capaz de recuperar su estado físico, en este caso, medido por el fenotipo de fragilidad, después de una enfermedad aguda. Esto podría ser contradictorio con el concepto actual del inflammaging, en donde estas citocinas pro-inflamatorias son considerados predictores de discapacidad o enfermedad. En este caso, esta respuesta destinada a lograr un nuevo equilibrio[84], podría ser considerada como hormesis, la cual se define como los efectos benéficos que favorecen la recuperación y surgen como resultado de respuestas celulares a uno o múltiples estresores celulares[85].

El hecho de encontrar mayores niveles de citocinas proinflamatorias circulantes a un año en los pacientes que mejoraron, podría explicarse como una respuesta adaptativa o de remodelado inmunológico[86]. Esta modulación podría en parte, explicarse por la modulación mediada por TIM-3. En nuestros resultados, observamos una elevación de las células positivas a TIM-3 intracelular así como en los niveles de TIM-3 periférico a un año de seguimiento en aquellos pacientes que mejoraron. TIM-3 es una proteína de membrana que se expresa y regula la función de células Th1 activadas[87], así como células presentadoras de antígeno[88], linfocitos T reguladores y células T Natural Killer[89]. En el caso de los linfocitos Th1, una vez que la respuesta adaptativa de estos linfocitos se ha alcanzado, TIM-3 se expresa y se liga a Galectina-9 para terminar la inmunidad mediada por estas células, terminando con la respuesta inflamatoria[90]. TIM-3 forma parte de un módulo que incluye múltiples receptores co-

inhibidores, expresados en células T exhaustas[91], lo que podría indicar una regulación a la baja de estas células una vez que han cumplido con su función, evitando perpetuar la respuesta inflamatoria.

Nuestros resultados indican un posible vínculo entre la mejora del estado de fragilidad en pacientes que presentan niveles elevados de IFN- γ y TNF en el seguimiento al año. Esto sugiere que una inflamación controlada mediada por una mayor respuesta inmunológica de tipo Th1 podría tener efectos benéficos en la mejoría de la fragilidad. Estas citocinas desempeñan un papel fundamental en la modulación de las respuestas de las células T y, en la autoinmunidad, el interferón- γ y el TNF disminuyen la producción de anticuerpos al influir en la citocina Th-2 IL-4 [92]. El interferón- γ , vinculado a una respuesta Th1, regula los anticuerpos IgG2a asociados con respuestas autoanticuerpos y ayuda a modular la autoinmunidad, sugiriendo una función protectora en el desarrollo de respuestas autoinmunes[93]. El papel del interferón- γ en la fisiopatología de la fragilidad aún no está claro, y sus mecanismos relacionados con la resistencia necesitan una mayor elucidación[94]. Un estudio de Arosio et al. [95] descubrió una correlación inversa entre los niveles de fragilidad, indicados por un índice de fragilidad más alto, y los niveles de interferón- γ . Esto sugiere que los pacientes más frágiles pueden presentar mecanismos senescentes que dificultan la producción de esta citocina por parte de las células Th1.

La alteración de los patrones de células T y la presencia de elementos autoinmunes después de una infección grave por COVID-19 podrían contribuir al desarrollo y persistencia de la fragilidad en individuos afectados[96]. Existen diversos mecanismos que podrían contribuir a una mejor función de las células Th1, dentro de estas se encuentra el ejercicio físico. En un estudio que comparaba intensidades de ejercicio en pacientes mayores post-COVID[97], el entrenamiento aeróbico de baja intensidad demostró mayores mejoras en marcadores de sarcopenia, fuerza de agarre y calidad de vida. La consistencia en el régimen de ejercicio es crucial para mejorar la respuesta inmunológica, como enfatizan Zamani et al[98]. Un período de dos meses de ejercicio moderado, que incluye un programa de carrera (30 minutos al día, cinco días

a la semana), aumentó significativamente la proporción IFN- γ /IL-4. Esto sugiere que el ejercicio regular podría ayudar a reequilibrar el sistema inmunológico y promover una respuesta inmunológica más favorable en pacientes post-COVID, mejorando potencialmente su estado de fragilidad.

Nuestro estudio tiene ciertas limitaciones. Aunque trabajamos con un tamaño de muestra relativamente pequeño, utilizamos técnicas de laboratorio especializadas como la citometría de flujo para detectar diferencias significativas en las células T y la producción de citocinas entre pacientes resilientes y no resilientes. Nuestros hallazgos ofrecen información valiosa sobre los resultados a un año en adultos mayores después de una COVID-19 grave. Sin embargo, es esencial reconocer que se necesita un seguimiento a más largo plazo para comprender completamente cualquier alteración duradera en esta población. En última instancia, se requiere una investigación adicional para dilucidar los mecanismos subyacentes a la asociación entre los patrones de células T en envejecimiento y la recuperación de la fragilidad en sobrevivientes de la COVID-19.

Conclusiones

Los adultos mayores sobrevivientes de una infección inflamatoria aguda, tal como la ocasionada por SARS-CoV 2, presentan características linfocitarias e inflamatorias que se asocian a la presencia de fragilidad, a las secuelas musculoesqueléticas evidenciadas mediante las pruebas de desempeño físico y a la función pulmonar, específicamente sobre el índice FEV1/FVC y la difusión de monóxido de carbono.

La prevalencia de fragilidad es alta en los adultos mayores sobrevivientes de COVID-19 grave, presente en más del 60% de los pacientes tanto a los 4 como a los 12 meses del egreso.

Los pacientes que mejoraron el fenotipo de fragilidad a un año de seguimiento, tuvieron un mayor porcentaje de células positivas para TNF+ e INF- γ a los 12 meses de

seguimiento, sugiriendo un papel mediador en la recuperación entre los pacientes capaces de producir estas citocinas y montar una adecuada respuesta inflamatoria a un año de la infección aguda.

Por otra parte, los pacientes que tenían una mayor proporción de células Th2, manifestado por un índice T-Bet/GATA 3 menor, tuvieron peor desempeño físico tanto en la primera valoración, como al año de seguimiento, sugiriendo un efecto deletéreo de las células Th2 en el estado musculoesquelético.

A pesar de que una mayor proporción de células positivas a citocinas como TNF e INF se asoció a una mayor recuperación del estado de fragilidad, esto se asoció a un peor desempeño en las pruebas de función respiratoria a un año del egreso, siendo las citocinas inflamatorias presentes en la primera valoración, las que se correlacionaron negativamente con el desempeño de las pruebas de función respiratoria.

Estos hallazgos nos ayudan a darle un nuevo sentido al concepto de inflammaging, no considerando toda elevación de citocinas inflamatorias como un evento deletéreo, sino como un mecanismo de recuperación que podría indicar una adecuada reserva fisiológica, capaz de revertir el estado de fragilidad. Los mecanismos relacionados entre esta elevación de citocinas y la recuperación física y funcional deberán estudiarse posteriormente.

Implicaciones a futuro

El conocer que los pacientes frágiles y aquellos que presentan peor función pulmonar a un año de la recuperación de una infección inflamatoria aguda, son aquellos que a nivel basal tienen niveles de células proinflamatorias y las citocinas producidas por estas, más elevados, orienta a la necesidad de explorar intervenciones tempranas que contrarresten el efecto inflamatorio y promuevan la recuperación de estas secuelas. Estas intervenciones, como por ejemplo el ejercicio físico, deberán ser exploradas más adelante.

Anexos

Anexo 1. Medición del fenotipo de fragilidad

Apartado	Medición	Puntaje
Fatiga	¿En los últimos dos años, ha sentido fatiga o cansancio intensos?	Respuesta positiva= 1
Lentitud	Por algún problema de salud, ¿tiene dificultad para caminar una cuadra? y, por algún problema de salud, ¿tiene dificultad para subir escaleras sin descansar?	Respuesta positiva a alguna de las dos preguntas= 1
Debilidad	Por algún problema de salud, ¿tiene dificultad para cargar objetos de 5 kg o más, como una bolsa de mandado?	Respuesta positiva= 1
Pérdida de peso	Peso actual con respecto al peso en el último año.	Autorreporte de pérdida de peso de 5 kg o más en los últimos dos años o IMC menor a 22 kg/m ²
Inactividad	En los últimos dos años, ha realizado ejercicio o trabajo físico pesado en promedio de al menos tres veces a la semana.	Respuesta negativa= 1

Anexo 2. Puntos de corte de las pruebas de desempeño físico

Velocidad de la marcha

	Hombres	Mujeres
Estatura por encima de la media	≤ 0.66 m/s	≤ 0.5 m/s
Estatura promedio o por debajo de esta	≤ 0.57 m/s	≤ 0.5 m/s

Estatura promedio: Hombres 1.62 m, mujeres 1.47 m, m/s= metros por segundo.

Fuerza de prensión

Mujeres	Punto de corte para fragilidad (kg)	Hombres	Punto de corte para fragilidad (kg)
IMC <23	<17	IMC <24	<29
IMC 23.1-26	<17.3	IMC 24.1-26	<30
IMC 26.1 - 29	<18	IMC 26.1 - 28	<30
IMC >28	<21	IMC >28	<32

Anexo 3. Anticuerpos utilizados en citometría de flujo y ELISA

Producto	Catálogo	Compañía
Human TIM-3 DuoSet ELISA	DY2365	RD
Human Galectin-9 DuoSet ELISA	DY2045	RD
ELISA MAX™ Deluxe Set Human IFN- γ	430104	Biolegend
ELISA MAX™ Standard Set Human TNF- α	430201	Biolegend
PE/Cyanine7 anti-human CD279 (PD-1) Antibody	329918	Biolegend
PE/Cyanine5 anti-human/mouse Granzyme B Recombinant Antibody	372226	Biolegend
PE anti-human CD3	981004	Biolegend
FITC anti-human CD8a Antibody	301050	Biolegend
APC/Cyanine7 anti-human CD273 (B7-DC, PD-L2) Antibody	345516	Biolegend
APC anti-human Perforin Antibody	353312	Biolegend
Brilliant Violet 510™ anti-human CD4 Antibody	300546	Biolegend
Brilliant Violet 421™ anti-human CD274 (B7-H1, PD-L1) Antibody	329714	Biolegend

Anexo 4. Consentimiento informado otorgado a los pacientes para la participación en el protocolo



INER

Consentimiento Bajo Información. Documento de 1 hoja, 2 páginas.
Comité de Evaluación del Expediente Clínico. Marzo 2012

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN DE INVESTIGACIÓN

Autorización para acceder a estudios clínicos, de investigación o ensayos clínicos con participación de seres humanos)

De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de prestación de servicios de atención médica, Capítulo IV, Art. 80, 81, 82 y 83.
NOM-168-SSA-1-1998, numerales 4.2 Y 10.1

Tlalpan, México, D.F., Fecha: _____



SECCIÓN A REGISTRAR POR EL MÉDICO/INVESTIGADOR

Nombre completo del paciente	Fecha de nacimiento del paciente		
	Año:	Mes:	Día:

El (la) que suscribe: _____ en mi carácter de _____ de _____ años de edad, manifiesto que el Dr. _____ me informó en forma verbal, sin presión alguna, de manera clara, sencilla y completa sobre mi participación en el protocolo de investigación: **C15-22 ADULTOS MAYORES, SOBREVIVIENTES DE COVID 19, PRESENTAN ALTERACIONES LINFOCITARIAS QUE SE ASOCIAN A FRAGILIDAD, SECUELAS MUSCULOESQUELÉTICAS Y PULMONARES.**

Se me han explicado las alternativas que quizá me sean de ayuda, procedimientos a seguir para la atención y la forma de acceso a estudios, investigaciones o ensayos clínicos relevantes para las necesidades de tratamiento, así como la posibilidad de rehusarme a participar o dejar de participar, sin que mi acceso a los servicios del INER se encuentren comprometidos por esta decisión, por lo que libremente acepto mi participación. Así mismo se me explicaron los riesgos y posibles complicaciones de mi participación, y estoy enterado (a) de que cualquier procedimiento o la administración de medicamentos representan riesgos de complicaciones, pero que el beneficio de dichos procedimientos redundará en un diagnóstico y tratamiento adecuado de mi padecimiento o de la población en general.

Acepto los riesgos mencionados en razón de ser mayor el beneficio esperado. Por consiguiente, en pleno uso de mis facultades y de acuerdo al contenido del presente documento, autorizo al equipo de salud del INER, a integrarme en el protocolo de estudio antes señalado, en el cual el Dr. _____ funge como investigador responsable y puede ser localizado en los teléfono 54 87 17 00 extensión _____ o al celular _____, en caso de una emergencia.

SECCIÓN DE FIRMA DEL PACIENTE, FAMILIAR, RESPONSABLE O REPRESENTANTE LEGAL DEL PACIENTE O PERSONA QUE FIRMA

Nombre completo: _____

Domicilio: _____

Identificación: _____ Parentesco: _____

Firma y/o huella digital

En caso de cambiar de opinión, podrá ser revocado el consentimiento en cualquier momento.

TESTIGOS		TESTIGOS	
Nombre _____		Nombre _____	
Domicilio _____		Domicilio _____	
Identificación _____ Parentesco: _____		Identificación _____ Parentesco: _____	
Firma y/o huella digital		Firma y/o huella digital	

En caso de que el paciente, persona responsable o tutor legal del mismo no sepan leer o escribir, deberán plasmar su huella digital.

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Nombre completo: _____

Firma

Calzada de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, C.P. 14080, México, D.F. Teléfono 54.87.17.00

REVOCACIÓN

En caso de revocación, libero al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Ismael Cosío Villegas de las consecuencias de mi acto de revocación.

En caso de revocación: revoco el consentimiento de _____

Por lo anterior firmo como constancia y efectos legales a que haya lugar.

SECCIÓN DE FIRMA DEL PACIENTE, FAMILIAR, RESPONSABLE O REPRESENTANTE LEGAL DEL PACIENTE Ó PERSONA QUE REVOCA
SECCIÓN DE FIRMA DEL PACIENTE, FAMILIAR, RESPONSABLE O REPRESENTANTE LEGAL DEL PACIENTE Ó PERSONA QUE REVOCA

Nombre completo: _____
Domicilio: _____
Identificación: _____ Parentesco: _____ Firma y/o huella digital

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Nombre completo: _____ Firma

FUNDAMENTO LEGAL

REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE ATENCIÓN MÉDICA, CAPITULO IV, ARTÍCULOS 80, 81, 82 y 83

ART. 80.- En todo hospital y siempre que el estado del paciente lo permita, deberá recabarse a su ingreso autorización escrita y firmada para practicarle, con fines de diagnóstico o terapéuticos, los procedimientos médico-quirúrgicos necesarios de acuerdo al padecimiento de que se trate, debiendo informarle claramente el tipo de documento que se le presenta para su firma.

Esta autorización inicial no excluye la necesidad de recabar después la correspondiente a cada procedimiento que entrañe un alto riesgo para el paciente.

Art 81.- En caso de urgencia o cuando el paciente se encuentre en estado de incapacidad transitoria o permanente, el documento a que se refiere el artículo anterior, será suscrito por el familiar más cercano en vínculo que lo acompañe, o en su caso, por su tutor o representante legal, una vez informado del carácter de la autorización.

Cuando no sea posible obtener la autorización por incapacidad del paciente y ausencia de las personas a que se refiere el párrafo que antecede, los médicos autorizados del hospital de que se trate previa valoración del caso y de acuerdo de cuando menos dos de ellos, llevarán a cabo el procedimiento terapéutico que el caso requiera, dejando constancia por escrito en el expediente clínico.

Art. 82.- El documento en que conste la autorización a que refieren los artículos 80 y 81 de este reglamento, deberá contener:

- I. Nombre de la institución a la que pertenezca el hospital.
- II. Nombre, razón o denominación social del hospital.
- III. Título del documento.
- IV. Lugar y fecha.
- V. Nombre y firma de la persona que otorgue la autorización, y
- VI. Nombre y firma de los testigos.

El documento deberá ser impreso, redactado en forma clara, sin abreviaturas, enmendaduras o tachaduras.

Art. 83.- En caso que deba realizarse alguna amputación, mutilación o extirpación orgánica que produzca deformación física permanente en el paciente o en la condición fisiológica o mental del mismo, el documento a que se refiere el artículo anterior, deberá ser suscrito además por dos testigos idóneos designados por el interesado o por la persona que lo suscriba.

Estas autorizaciones se ajustarán a los modelos que señalen las Normas Técnicas.



LEY GENERAL DE SALUD, REGLAMENTO EN MATERIA DE CONTROL SANITARIO DE LA DISPOSICIÓN DE SUS ÓRGANOS, TEJIDOS Y CADAVERES DE SERES HUMANOS

Art. 12 El disponente originario podrá en cualquier tiempo revocar el consentimiento que haya otorgado para fines de disposición de sus órganos, tejidos o productos de su propio cadáver sin que exista responsabilidad alguna por su parte.

En caso de que el disponente originario no haya revocado su consentimiento en vida, no tendrá validez la revocación que, en su caso, hagan los disponentes secundarios.

Se entiende por necropsia o estudios post-mortem el estudio exhaustivo de los órganos del paciente, que se obtienen cuando éste fallece ya que permite establecer en lo posible, las causas definitivas de la muerte.

Calzada de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, C.P. 14080, México, D.F. Teléfono 54.87.17.00

Referencias

1. Lebrasseur A, Fortin-Bédard N, Lettre J, Raymond E, Bussi eres E-L, Lapierre N, et al. Impact of the COVID-19 Pandemic on Older Adults: Rapid Review. *JMIR Aging* [Internet] JMIR Publications Inc.; 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8043147/>.
2. Singhal S, Kumar P, Singh S, Saha S, Dey AB. Clinical features and outcomes of COVID-19 in older adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatr. BioMed Central*; 2021; 21: 1–9.
3. Hou Y, Zhou Y, Jehi L, Luo Y, Gack MU, et al. Aging-related cell type-specific pathophysiologic immune responses that exacerbate disease severity in aged COVID-19 patients. *Aging Cell*. 2022 Feb;21(2):e13544. doi: 10.1111/ace1.13544.
4. Shaw AC, Goldstein DR, Montgomery RR. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol*. 2013; 13: 875–887.
5. Panda A, Arjona A, Sapey E, Bai F, Fikrig E, Montgomery RR, Lord JM, Shaw AC. Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age. *Trends Immunol*. 2009; 30: 325–333.
6. Zhang Z-L, Hou Y-L, Li D-T, Li F-Z. Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest*. 2020; 80: 441–447.
7. Yan L, Zhang H-T, Goncalves J, Xiao Y, Wang M, Guo Y, Sun C, et al. An interpretable mortality prediction model for COVID-19 patients. *Nat. Mach. Intell. Nature Publishing Group*; 2020; 2: 283–288.
8. Queiroz MAF, Neves PFM das, Lima SS, Lopes J da C, Torres MK da S, Vallinoto IMVC, Bichara CDA, et al. Cytokine Profiles Associated With Acute COVID-19 and Long COVID-19 Syndrome. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2022; 12: 922422.
9. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* 2020; 584: 430–436.
10. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020; 323: 1061–1069.
11. Abul Y, Leeder C, Gravenstein S. Epidemiology and Clinical Presentation of COVID-19 in Older Adults. *Infect. Dis. Clin. North Am*. 2023; 37: 1–26.

12. Campisi J, Kapahi P, Lithgow GJ, Melov S, Newman JC, Verdin E. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. *Nature* Nature Publishing Group; 2019; 571: 183–192.
13. Tizazu AM, Mengist HM, Demeke G. Aging, inflammaging and immunosenescence as risk factors of severe COVID-19. *Immun Ageing*. 2022 Nov 11;19(1):53. doi: 10.1186/s12979-022-00309-5.
14. Watanabe S, Kawamoto S, Ohtani N, Hara E. Impact of senescence-associated secretory phenotype and its potential as a therapeutic target for senescence-associated diseases. *Cancer Sci*. 2017 Apr;108(4):563-569. doi: 10.1111/cas.13184.
15. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, Kirkland JL, van Deursen JM. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*. 2011 Nov 2;479(7372):232-6. doi: 10.1038/nature10600.
16. Lacas A, Rockwood K. Frailty in primary care: a review of its conceptualization and implications for practice. *BMC Med*. 2012 Jan 11;10:4. doi: 10.1186/1741-7015-10-4.
17. Lang P-O, Michel J-P, Zekry D. Frailty syndrome: a transitional state in a dynamic process. *Gerontology* 2009; 55: 539–549.
18. Li Q, Wang S, Milot E, Bergeron P, Ferrucci L, Fried LP, Cohen AA. Homeostatic dysregulation proceeds in parallel in multiple physiological systems. *Aging Cell* 2015; 14: 1103–1112.
19. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, McBurnie MA; Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001 Mar;56(3):M146-56. doi: 10.1093/gerona/56.3.m146.
20. To TL, Doan TN, Ho WC, Liao WC. Prevalence of Frailty among Community-Dwelling Older Adults in Asian Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Healthcare (Basel)*. 2022 May 12;10(5):895. doi: 10.3390/healthcare10050895.
21. Sourial N, Bergman H, Karunanathan S, Wolfson C, Payette H, Gutierrez-Robledo LM, Béland F, Fletcher JD, Guralnik J. Implementing frailty into clinical practice: a cautionary tale. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013 Dec;68(12):1505-11. doi: 10.1093/gerona/glt053.
22. Collerton J, Martin-Ruiz C, Davies K, Hilkens CM, Isaacs J, Kolenda C, Parker C, Dunn M, Catt M, Jagger C, von Zglinicki T, Kirkwood TBL. Frailty and the role of inflammation, immunosenescence and cellular ageing in the very old: Cross-sectional findings from the Newcastle 85+ Study. *Mech. Ageing Dev*. 2012; 133: 456–466.

23. Bandeen-Roche K, Walston JD, Huang Y, Semba RD, Ferrucci L. Measuring systemic inflammatory regulation in older adults: evidence and utility. *Rejuvenation Res.* 2009 Dec;12(6):403-10. doi: 10.1089/rej.2009.0883.
24. O'Garra A, Murphy K. Role of cytokines in determining T-lymphocyte function. *Curr Opin Immunol.* 1994 Jun;6(3):458-66. doi: 10.1016/0952-7915(94)90128-7.
25. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T Cell Activation. *Annu. Rev. Immunol.* 2009; 27: 591–619.
26. Okeke EB, Uzonna JE. The Pivotal Role of Regulatory T Cells in the Regulation of Innate Immune Cells. *Front. Immunol.* 2019; 10: 680.
27. Sakata-Kaneko S, Wakatsuki Y, Matsunaga Y, Usui T, Kita T. Altered Th1/Th2 commitment in human CD4+ T cells with ageing. *Clin. Exp. Immunol.* 2000; 120: 267–273.
28. Pavel AB, Glickman JW, Michels JR, Kim-Schulze S, Miller RL, Guttman-Yassky E. Th2/Th1 Cytokine Imbalance Is Associated With Higher COVID-19 Risk Mortality. *Front Genet.* 2021 Jul 16;12:706902. doi: 10.3389/fgene.2021.706902.
29. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* 1996 Oct 31;383(6603):787-93. doi: 10.1038/383787a0.
30. Santana MA, Esquivel-Guadarrama F. Cell biology of T cell activation and differentiation. *Int Rev Cytol.* 2006;250:217-74. doi: 10.1016/S0074-7696(06)50006-3.
31. Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell.* 2000 Mar 17;100(6):655-69. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80702-3.
32. Ouyang W, Ranganath SH, Weindel K, Bhattacharya D, Murphy TL, Sha WC, Murphy KM. Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4-independent mechanism. *Immunity.* 1998 Nov;9(5):745-55. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80671-8.
33. Chakir H, Wang H, Lefebvre DE, Webb J, Scott FW. T-bet/GATA-3 ratio as a measure of the Th1/Th2 cytokine profile in mixed cell populations: predominant role of GATA-3. *J Immunol Methods.* 2003 Jul;278(1-2):157-69. doi: 10.1016/S0022-1759(03)00200-x..
34. Tagarro A, Cobos-Carrascosa E, Villaverde S, Sanz-Santaefemia FJ, Grasa C, Soriano-Arandes A, et al. Clinical spectrum of COVID-19 and risk factors associated with severity in Spanish children. *Eur J Pediatr.* 2022 Mar;181(3):1105-1115. doi: 10.1007/s00431-021-04306-6.

35. Schlemmer F, Valentin S, Boyer L, Guillaumot A, Chabot F, Dupin C, et al. Respiratory recovery trajectories after severe-to-critical COVID-19: a 1-year prospective multicentre study. *Eur Respir J.* 2023 Apr 1;61(4):2201532. doi: 10.1183/13993003.01532-2022.
36. Aguilar-Navarro SG, Amieva H, Gutiérrez-Robledo LM, Avila-Funes JA. Frailty among Mexican community-dwelling elderly: a story told 11 years later. *The Mexican Health and Aging Study. Salud Pública México Instituto Nacional de Salud Pública;* 2015; 57: s62–s69.
37. Perracini MR, Mello M, de Oliveira Máximo R, Bilton TL, Ferriolli E, Lustosa LP, da Silva Alexandre T. Diagnostic Accuracy of the Short Physical Performance Battery for Detecting Frailty in Older People. *Phys. Ther.* 2020; 100: 90–98.
38. Pansarasa O, Mimmi MC, Davin A, Giannini M, Guaita A, Cereda C. Inflammation and cell-to-cell communication, two related aspects in frailty. *Immun. Ageing* 2022; 19: 49.
39. Walsh B, Fogg C, Harris S, Roderick P, de Lusignan S, England T, Clegg A, Brailsford S, Fraser SDS. Frailty transitions and prevalence in an ageing population: longitudinal analysis of primary care data from an open cohort of adults aged 50 and over in England, 2006–2017. *Age Ageing* 2023; 52: afad058.
40. Toba A, Ishikawa J. Current topics of frailty in association with hypertension and other medical conditions. *Hypertens. Res. Nature Publishing Group;* 2023; 46: 1188–1194.
41. Stolz E, Mayerl H, Freidl W. Fluctuations in frailty among older adults. *Age Ageing* 2019; 48: 547–552.
42. Bastos-Barbosa RG, Ferriolli E, Coelho EB, Moriguti JC, Nobre F, Lima NKC. Association of frailty syndrome in the elderly with higher blood pressure and other cardiovascular risk factors. *Am. J. Hypertens.* 2012; 25: 1156–1161.
43. Kang M, Kim S, Yoon S-J, Choi J-Y, Kim K, Kim C-H. Association between Frailty and Hypertension Prevalence, Treatment, and Control in the Elderly Korean Population. *Sci. Rep.* 2017; 7: 7542.
44. Weng S-C, Hsu C-Y, Wu M-F, Lee W-H, Lin S-Y. The Impact of Frailty Status on Pulmonary Function and Mortality in Older Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J. Nutr. Health Aging* 2023; 27: 987–995.
45. Pandics T, Major D, Fazekas-Pongor V, Szarvas Z, Peterfi A, Mukli P, Gulej R, et al. Exposome and unhealthy aging: environmental drivers from air pollution to occupational exposures. *Geroscience.* 2023 Dec;45(6):3381-3408. doi: 10.1007/s11357-023-00913-3.

46. Steptoe A, Zaninotto P. Lower socioeconomic status and the acceleration of aging: An outcome-wide analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. Proceedings of the National Academy of Sciences*; 2020; 117: 14911–14917.
47. Wang Y, Dong C, Han Y, Gu Z, Sun C. Immunosenesescence, aging and successful aging. *Front. Immunol.* [Internet] 2022 [cited 2024 Jan 20]; 13 Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.942796>.
48. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat. Immunol.* Nature Publishing Group; 2022; 23: 186–193.
49. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenesescence. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000; 908: 244–254.
50. Calabrese V, Santoro A, Monti D, Crupi R, Di Paola R, Latteri S, et al. Aging and Parkinson’s Disease: Inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 2018; 115: 80–91.
51. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med.* 2019 Dec;25(12):1822-1832. doi: 10.1038/s41591-019-0675-0.
52. Chinn IK, Blackburn CC, Manley NR, Sempowski GD. Changes in primary lymphoid organs with aging. *Semin. Immunol.* 2012; 24: 309–320.
53. Dixit VD. Impact of immune-metabolic interactions on age-related thymic demise and T cell senescence. *Semin. Immunol.* 2012; 24: 321–330.
54. Britanova OV, Putintseva EV, Shugay M, Merzlyak EM, Turchaninova MA, Staroverov DB, et al. Age-related decrease in TCR repertoire diversity measured with deep and normalized sequence profiling. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 2014; 192: 2689–2698.
55. Haynes L, Swain SL. Aged-related shifts in T cell homeostasis lead to intrinsic T cell defects. *Semin. Immunol.* 2012; 24: 350–355.
56. Mittelbrunn M, Kroemer G. Hallmarks of T cell aging. *Nat. Immunol.* Nature Publishing Group; 2021; 22: 687–698.
57. Fulop T, McElhaney J, Pawelec G, Cohen AA, Morais JA, Dupuis G, Baehl S, Camous X, Witkowski JM, Larbi A. Frailty, Inflammation and Immunosenesescence. *Interdiscip. Top. Gerontol. Geriatr.* 2015; 41: 26–40.
58. Rockwood K, Theou O. Frailty in Aging. Biological, Clinical and Social Implications. Introduction. *Interdiscip Top Gerontol Geriatr.* 2015;41:VII-X. PMID: 26524773.

59. REACT Long COVID | Faculty of Medicine | Imperial College London [Internet]. [cited 2023 Jun 2]. Available from: <https://www.imperial.ac.uk/medicine/research-and-impact/groups/react-study/studies/react-long-covid/>.
60. NIH launches new initiative to study “Long COVID” [Internet]. Natl. Inst. Health NIH 2021 [cited 2023 Jun 2]. Available from: <https://www.nih.gov/about-nih/who-we-are/nih-director/statements/nih-launches-new-initiative-study-long-covid>.
61. Inoue S, Hatakeyama J, Kondo Y, Hifumi T, Sakuramoto H, Kawasaki T, Taito S, Nakamura K, Unoki T, Kawai Y, Kenmotsu Y, Saito M, Yamakawa K, Nishida O. Post-intensive care syndrome: its pathophysiology, prevention, and future directions. *Acute Med. Surg.* 2019; 6: 233–246.
62. Min C-K, Cheon S, Ha N-Y, Sohn KM, Kim Y, Aigerim A, et al. Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity. *Sci. Rep. Nature Publishing Group*; 2016; 6: 25359.
63. Lippke S, Rinn R, Derksen C, Dahmen A. Patients’ Post-/Long-COVID Symptoms, Vaccination and Functional Status-Findings from a State-Wide Online Screening Study. *Vaccines* 2023; 11: 691.
64. Wiech M, Chroscicki P, Swatler J, Stepnik D, De Biasi S, Hampel M, et al. Remodeling of T Cell Dynamics During Long COVID Is Dependent on Severity of SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol.* 2022 Jun 10;13:886431. doi: 10.3389/fimmu.2022.886431.
65. Taeschler P, Adamo S, Deng Y, Cervia C, Zurbuchen Y, Chevrier S, et al. T-cell recovery and evidence of persistent immune activation 12 months after severe COVID-19. *Allergy* 2022; 77: 2468–2481.
66. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, Witkowski JM, Franceschi C. Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? *Front Immunol.* 2018 Jan 10;8:1960. doi: 10.3389/fimmu.2017.01960.
67. Bektas A, Schurman SH, Sen R, Ferrucci L. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. *J. Leukoc. Biol.* 2017; 102: 977–988.
68. Lopes-Paciencia S, Saint-Germain E, Rowell M-C, Ruiz AF, Kalegari P, Ferbeyre G. The senescence-associated secretory phenotype and its regulation. *Cytokine* 2019; 117: 15–22.
69. Webley K, Bond JA, Jones CJ, Blaydes JP, Craig A, Hupp T, Wynford-Thomas D. Posttranslational modifications of p53 in replicative senescence overlapping but distinct from those induced by DNA damage. *Mol Cell Biol.* 2000 Apr;20(8):2803-8. doi: 10.1128/MCB.20.8.2803-2808.2000.

70. Di Micco R, Fumagalli M, Cicalese A, Piccinin S, Gasparini P, et al. Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature*. 2006 Nov 30;444(7119):638-42. doi: 10.1038/nature05327.
71. Pazolli E, Alspach E, Milczarek A, Prior J, Piwnica-Worms D, Stewart SA. Chromatin remodeling underlies the senescence-associated secretory phenotype of tumor stromal fibroblasts that supports cancer progression. *Cancer Res*. 2012; 72: 2251–2261.
72. Kortlever RM, Higgins PJ, Bernards R. Plasminogen activator inhibitor-1 is a critical downstream target of p53 in the induction of replicative senescence. *Nat. Cell Biol*. 2006; 8: 877–884.
73. Acosta JC, Banito A, Wuestefeld T, Georgilis A, Janich P, Morton JP, et al. A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence. *Nat. Cell Biol*. 2013; 15: 978–990.
74. Kalfaoglu B, Almeida-Santos J, Tye CA, Satou Y, Ono M. T-Cell Hyperactivation and Paralysis in Severe COVID-19 Infection Revealed by Single-Cell Analysis. *Front. Immunol*. 2020; 11: 589380.
75. Lorenzo EC, Torrance BL, Keilich SR, Al-Naggar I, Harrison A, Xu M, Bartley JM, Haynes L. Senescence-induced changes in CD4 T cell differentiation can be alleviated by treatment with senolytics. *Aging Cell* 2022; 21: e13525.
76. Hubackova S, Krejcikova K, Bartek J, Hodny Z. IL1- and TGFβ-Nox4 signaling, oxidative stress and DNA damage response are shared features of replicative, oncogene-induced, and drug-induced paracrine 'Bystander senescence.' *Aging* 2012; 4: 932–951.
77. van Beek JJP, Rescigno M, Lugli E. A fresh look at the T helper subset dogma. *Nat. Immunol*. 2021; 22: 104–105.
78. Gadotti AC, de Castro Deus M, Telles JP, Wind R, Goes M, Garcia Charello Ossoski R, de Padua AM, et al. IFN-γ is an independent risk factor associated with mortality in patients with moderate and severe COVID-19 infection. *Virus Res*. 2020; 289: 198171.
79. Pavel AB, Glickman JW, Michels JR, Kim-Schulze S, Miller RL, Guttman-Yassky E. Th2/Th1 Cytokine Imbalance Is Associated With Higher COVID-19 Risk Mortality. *Front. Genet*. 2021; 12: 706902.
80. Kiaz B, Bode K, Schuster C, Kissler S. Gata3 is detrimental to regulatory T cell function in autoimmune diabetes. *bioRxiv* 2023; : 2023.03.18.533297.
81. Su Y, Yuan D, Chen DG, Ng RH, Wang K, Choi J, et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell* 2022; 185: 881-895.e20.

82. Galeotti C, Bayry J. Autoimmune and inflammatory diseases following COVID-19. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2020; 16: 413–414.
83. Frailty, Inflammation, and Immunity - PMC [Internet]. [cited 2023 Dec 4]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3295062/>.
84. Santoro A, Martucci M, Conte M, Capri M, Franceschi C, Salvioli S. Inflammaging, hormesis and the rationale for anti-aging strategies. *Ageing Res. Rev.* 2020; 64: 101142.
85. Mattson MP. Hormesis defined. *Ageing Res. Rev.* 2008; 7: 1–7.
86. Fulop T, Larbi A, Hirokawa K, Cohen AA, Witkowski JM. Immunosenescence is both functional/adaptive and dysfunctional/maladaptive. *Semin. Immunopathol.* 2020; 42: 521–536.
87. Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, Manning S, Greenfield EA, Coyle AJ, Sobel RA, Freeman GJ, Kuchroo VK. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature* 2002; 415: 536–541.
88. Nakayama M, Akiba H, Takeda K, Kojima Y, Hashiguchi M, Azuma M, Yagita H, Okumura K. Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation. *Blood* 2009; 113: 3821–3830.
89. Hastings WD, Anderson DE, Kassam N, Koguchi K, Greenfield EA, Kent SC, et al. TIM-3 is Expressed on Activated Human CD4+ T Cells and Regulates Th1 and Th17 Cytokines. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39: 2492–2501.
90. Anderson AC, Anderson DE, Bregoli L, Hastings WD, Kassam N, Lei C, et al. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed on innate immune cells. *Science* 2007; 318: 1141–1143.
91. Wolf Y, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM3 comes of age as an inhibitory receptor. *Nat. Rev. Immunol.* Nature Publishing Group; 2020; 20: 173–185.
92. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 1989; 7: 145–173.
93. Theofilopoulos AN, Koundouris S, Kono DH, Lawson BR. The role of IFN-gamma in systemic lupus erythematosus: a challenge to the Th1/Th2 paradigm in autoimmunity. *Arthritis Res. Ther.* 2001; 3: 136.
94. Heinze-Milne SD, Banga S, Howlett SE. Frailty and cytokines in preclinical models: Comparisons with humans. *Mech. Ageing Dev.* 2022; 206: 111706.

95. Arosio B, Ferri E, Mari D, Tobaldini E, Vitale G, Montano N. The influence of inflammation and frailty in the aging continuum. *Mech. Ageing Dev.* 2023; 215: 111872.
96. Jiang M, Corna L, Amati R, Piumatti G, Franscella G, Crivelli L, Albanese E. Prevalence and association of frailty with SARS-CoV-2 infection in older adults in Southern Switzerland-Findings from the Corona Immunitas Ticino Study. *BMC Geriatr.* 2023; 23: 18.
97. Nambi G, Abdelbasset WK, Alrawaili SM, Elsayed SH, Verma A, Vellaiyan A, et al. Comparative effectiveness study of low versus high-intensity aerobic training with resistance training in community-dwelling older men with post-COVID 19 sarcopenia: A randomized controlled trial. *Clin Rehabil.* 2022 Jan;36(1):59-68. doi: 10.1177/02692155211036956.
98. Zamani A, Salehi I, Alahgholi-Hajjibehzad M. Moderate Exercise Enhances the Production of Interferon- γ and Interleukin-12 in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Immune Netw.* 2017; 17: 186–191.