

OPEN ACCESS

DOI: 10.25040/ntsh2024.02.11

Адреса для листування: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська 69, Львів, Україна, 79010

Е-пошта: iryna.krillim@gmail.com

Надійшла до редакції: 25.10.2024

Взята до друку: 14.11.2024

Опублікована: 27.12.2024

ORCID IDs

Ірина Кріль:

<https://orcid.org/0000-0002-6728-5827>

Валентина Чоп'як:

<https://orcid.org/0000-0003-3127-2028>

Наталія Мельникова:

<https://orcid.org/0000-0002-2114-3436>

Андрій Базилевич:

<https://orcid.org/0000-0001-5053-2548>

Наталія Шаховська:

<https://orcid.org/0000-0002-6875-8534>

Особистий внесок авторів

Концепція: Валентина Чоп'як, Наталія Шаховська;

Написання статті: усі автори однаковою мірою брали участь;

Остаточне затвердження версії для публікації: Ірина Кріль, Валентина Чоп'як, Наталія Шаховська.

Конфлікт інтересів: усі автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Дозвіл комісії з питань біоетики: для цього дослідження не потрібне схвалення комісії з питань біоетики.

Фінансування: Стаття опублікована коштом грантової підтримки НФДУ «Методи та засоби дослідження маркерів старіння та їх впливу на постковідні ефекти для подовження працездатного періоду». Державний обліковий номер: 0224U032663.



© Всі автори, 2024

Постковідні ефекти та імунологічні маркери старіння

Ірина Кріль¹, Валентина Чоп'як¹, Наталія Мельникова², Андрій Базилевич³, Наталія Шаховська²

¹ Кафедра клінічної імунології та алергології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

² Кафедра систем штучного інтелекту Інституту комп'ютерних наук та інформаційних технологій, Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна

³ Кафедра пропедевтики внутрішньої медицини № 1, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

Анотація. Коронавірусна хвороба стала викликом для медицини усього світу. Її поширення спричинило важкі наслідки для здоров'я та життя людей, зумовлюючи довготривале ускладнення після розвитку гострої фази захворювання. Імунна система першою реагувала на потрапляння вірусної інфекції в організм. Легеневі, неврологічні, психічні, серцево-судинні порушення стали першою ланкою у залученому патологічному процесі. Хронічні болі та запалення, які супроводжували розвиток цього інфекційного захворювання, є основними скаргами у пацієнтів старшого віку, оскільки вони щодня стикаються з такими проблемами. Адже психічні розлади, хвороба Альцгеймера, діабет, міалгії та артралгії, на жаль, спричиняють важкі зміни у повсякденному житті старших людей. Оцінка здатності імунокомпетентних клітин, як основних клітин імунної системи, стала важливим джерелом інформації для лікарів. Т-лімфоцити відповідають за клітинні імунні реакції та здійснюють імунологічний моніторинг антигенного гомеостазу в організмі. У пацієнтів з

COVID-19 середня кількість Т-клітин була нижчою, ніж у контролі, і кількість Т-клітин зменшувалася більше, ніж кількість В-клітин і NK-клітин. Лімфопенія в пацієнтів з COVID-19 може вказувати як на гіперактивацію та міграцію лімфоцитів у легені, так і на апоптоз та супресію Т-лімфоцитів. Дослідження засвідчили, що COVID-19 пов'язаний із посиленням запальної реакції, що спричиняє «цитокіновий шторм», який потенційно може призвести до серйозних мультисистемних пошкоджень органів. Відомо, що цитокінова дисрегуляція відіграє руйнівну роль в ослабленні імунної системи людей старшого віку. При старінні зростають рівні прозапальних та знижуються рівні антизапальних цитокінів, що призводить до зниження функції, опосередкованої Т-клітинами. Люди похилого віку стають особливо чутливими до вірусних захворювань, зокрема до COVID-19, їм також частіше притаманні нервово-психічні розлади, такі як когнітивні порушення та ПТСР. Результати досліджень свідчать про те, що зміни досліджуваних біомаркерів, пов'язаних з тяжкістю захворювання, можна використовувати для моніторингу ступенів тяжкості хвороби та прогнозування тривалості реабілітації. Використання штучного інтелекту дало змогу обробити та проаналізувати дані досліджень пацієнтів з COVID-19 для прогнозування прискореного старіння.

Ключові слова: тривалий COVID, старіння, клітинно-опосередкований імунітет, психосоматичні розлади, цитокіновий шторм, машинне навчання.

Post-covid effects and immunological markers of aging

Iryna Kril¹, Valentyna Chopyak¹, Nataliia Melnykova²,
Andriy Bazylevych³, Nataliya Shakhovska²

¹Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

²Department of Artificial Intelligence Systems, Institute of Computer Sciences and Information Technologies, Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

³Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Abstract. The coronavirus disease has challenged the global medical community. Its progression led to severe health and life consequences, resulting in prolonged complications following the onset of the acute phase of the disease. The immune system was the first to respond to the viral infection entering the body. Pulmonary, neurological, psychiatric, and cardiovascular disorders became the initial stage in the pathological process. Elderly patients commonly experience chronic pain and inflammation as the main complaints associated with the development of this infectious disease; it is a daily struggle for them. Unfortunately, mental disorders, Alzheimer's disease, diabetes, myalgias, and arthralgias cause severe changes in the daily lives of senior people. Evaluating the ability of immune-competent cells, which are the main cells of the immune system, has become an essential source of information for doctors. T-lymphocytes are responsible for cellular immune responses and immunologically monitor the antigenic homeostasis in the body. Patients with COVID-19 displayed fewer T cells than the control group, and the decrease in T cells was more significant than in B cells and NK cells. Lymphopenia in COVID-19 patients may suggest the hyperactivation and migration of lymphocytes in the lungs and the apoptosis and suppression of T lymphocytes. Studies have indicated that COVID-19 is linked to an intensified inflammatory response, leading to a "cytokine storm" that may result in multisystem severe organ damage. Cytokine dysregulation is vital in weakening the immune system in older age. Elevated pro-inflammatory cytokines mark aging, reduced anti-inflammatory cytokines, and decreased T-cell-mediated function. Older people are also at high risk for viral illnesses, including COVID-19, as well as mental health disorders like cognitive impairments and PTSD. The findings suggest that alterations in the examined biomarkers associated with disease severity can be utilized to monitor the seriousness of the disease and forecast the duration of rehabilitation. Artificial intelligence made it possible to process and analyze data from the studies of patients with COVID-19 to predict accelerated aging.

Keywords: long-COVID, aging, cell-mediated immunity, psychosomatic disorders, cytokine storm, machine learning

OPEN ACCESS

DOI: 10.25040/ntsh2024.02.11

For correspondence: Danylo Halytsky
Lviv National Medical University, Pekarska
st, 69, Lviv, Ukraine, 79010

E-mail: iryna.kril.im@gmail.com

Received: 25 Oct, 2024

Accepted: 14 Nov, 2024

Published: 27 Dec, 2024

ORCID IDs

Iryna Kril:

<https://orcid.org/0000-0002-6728-5827>

Valentyna Chopyak

<https://orcid.org/0000-0003-3127-2028>

Nataliia Melnykova:

<https://orcid.org/0000-0002-2114-3436>

Andriy Bazylevych:

<https://orcid.org/0000-0001-5053-2548>

Natalya Shakhovska:

<https://orcid.org/0000-0002-6875-8534>

Disclosures: The authors declared no conflict of interest.

Author Contributions:

Conceptualization: Valentyna Chopyak, Nataliya Shakhovska;

Writing: All authors participated equally;

Review & editing: Iryna Kril, Valentyna Chopyak, Nataliya Shakhovska.

Ethical approval: This article did not require ethical approval.

Funding: The article was published with the grant support of the National Research Foundation. "Methods and means of research of markers of aging and their influence on post-Covid effects for prolongation of the working period." State registration number: 0224U032663.



© All authors, 2024

Починаючи з грудня 2019 року, пандемія коронавірусної хвороби 2019 (COVID-19) стала глобальним викликом для світової медицини, спричинивши високий рівень смертності і зростання кількості хронічних захворювань. Хвороба була викликана вірусом SARS-CoV2, який досі є однією з десяти головних причин летальності в усьому світі [1]. COVID-19 є тяжким гострим респіраторним захворюванням [2]. Хоча більшість хворих повністю одужують, іноді затяжні ускладнення не полишають пацієнтів протягом тривалого часу після перенесення гострої фази інфекції SARS-CoV-2. Загально визнано, що тяжкість захворювання SARS-CoV-2 залежить як від супутньої патології, так і від стану імунної системи пацієнта. Швидка і скоординована імунна відповідь є першою лінією оборони проти вірусної інфекції. Однак неадекватна надмірна імунна відповідь може бути причиною імунозалежного пошкодження органів людини. Відомо, що пацієнти, які перенесли тяжку тривалу форму COVID-19, можуть відчувати мультиорганні наслідки після хвороби COVID-19. Вчені визначили дві стадії тривалості постковідних проявів. Ранні наслідки COVID-19 визнавали як стійкі симптоми у пацієнтів протягом трьох місяців від початку захворювання, а хронічний/тривалий COVID-19 (long-COVID) вказує на збереження симптомів понад 12 тижнів [3].

Найпоширенішими проявами довготривалих постковідних ефектів є легеневі, неврологічні, психічні, серцево-судинні порушення, які потенційно можуть призвести до певних збоїв у житті та здоров'ї пацієнтів [4, 5]. Отже, очевидним є зв'язок між COVID-19 і психічними наслідками, що може зумовити розвиток посттравматичного стресового розладу (ПТСР) [6], поширеного серед майже 30 % дорослих, незалежно від ступеня тяжкості гострої фази COVID-19 [7]. З іншого боку, хронічна обструктивна хвороба легень, серцево-судинні захворювання, депресія, психічні розлади, хвороба Альцгеймера, діабет, міальгії та артралгії – хвороби, які найчастіше вражають людей похилого віку, виявлені і у пацієнтів з long-COVID-ом [3, 8]. Між 2015 і 2050 роками частка населення, старшого за 60 років, у світі подвоїться з 12 % до 22 % [9]. І ключовим викликом після пандемії COVID-19 ста-

не керування довгостроковими наслідками цієї пандемії для мільйонів людей, які одужують від хвороби, щоб зменшити навантаження на систему охорони здоров'я, підвищити ефективність лікування та реабілітації пацієнтів із тяжкими формами захворювання, зменшити ризики раннього старіння, які призводять до поліорганної патології.

Інтервенція будь-якого патогенного чинника в організм, зокрема і вірусної інфекції, супроводжується розвитком в організмі хворого системної запальної відповіді, спрямованої на усунення наслідків впливу вірусу, що своєю чергою викликає патофізіологічні та патобіохімічні зміни, які зрештою орієнтовані на відновлення функцій уражених органів та одужання всього організму [10]. Проте, з віком та у імуноскомпрометованих пацієнтів з COVID-19, ці санаційні механізми послаблюються, особливо при long-COVID, тому у них виникають умови для хронізації запалення та його наслідків, що призводить до передчасного старіння організму [11].

Найбільшу захисну роль відіграють клітинні механізми імунної відповіді, а при порушенні захисної функції в організмі виникають умови для розвитку тривалого запального процесу та формування механізмів передчасного старіння у пацієнтів з long-COVID.

Дієво протистояти вірусу можуть лише спеціалізовані клітини імунної системи зі збереженими функціями. Антигенпрезентуючі клітини (APC) розпізнають, обробляють та презентують антигени вірусів. Після активації Т-клітин, CD4+ Т-клітини здебільшого диференціюються в ефекторні Т-клітини, продукуючи цитокіни і хемокіни, тоді як CD8+ Т-клітини переважно диференціюються в цитотоксичні Т-клітини для спеціального знищення інфікованої вірусом клітини-мішені. Реакція Т-клітин на SARS-CoV-2 має значний вплив на клінічний результат пацієнта. Згідно з висновками дослідників, серед яких Lian Liua (2020) і Yujie Jianga (2020), середня кількість Т-клітин була нижчою у пацієнтів з COVID-19, ніж у контролі і кількість Т-клітин зменшувалася більше, ніж В-клітини і клітини NK. Так само при тяжкому та середньому ступені тяжкості COVID-19 групи пацієнтів мали нижчу кількість Т-клітин, порівняно з контролем. Лімфопенія на усіх етапах спостережен-

The COVID-19 pandemic has posed a challenge to global medicine and led to a significant increase in mortality and chronic illnesses since December 2019. The disease was caused by the SARS-CoV2 virus, which continues to be among the top ten reasons for mortality globally [1]. COVID-19 is a severe acute respiratory disease [2]. While most patients recover completely, long-lasting complications can persist in patients for an extended period following the acute stage of SARS-CoV-2 infection. The severity of SARS-CoV-2 is widely recognized to be influenced by the patient's underlying pathology and their immune system condition. A fast and coordinated immune reaction is the primary protection from viral infection. An excessive and inadequate immune response may damage human organs due to immune-mediated causes. COVID-19 patients who have suffered a severe and prolonged type of disease may experience multi-organ consequences following the illness. Scientists have identified two stages of the duration of post-COVID manifestations. Persistent symptoms in patients within 3 months of disease onset were recognized as early consequences of COVID-19, and persistent symptoms indicate the persistence of symptoms for more than 12 weeks [3].

The main disorders of long-lasting post-COVID effects include pulmonary, neuropsychological, and cardiovascular disorders, which have the potential to result in specific disorders in the patient's lives and health [4; 5]. Therefore, a link has been observed between COVID-19 and psychological effects, which could result in the onset of post-traumatic stress disorder (PTSD) [6], a condition that affects up to 30% of people, irrespective of the acuteness of COVID-19 [7]. Conversely, chronic obstructive pulmonary disease, cardiovascular disease, depression, mental disorders, Alzheimer's disease, diabetes, myalgias, and arthralgias are some of the conditions that commonly impact elderly individuals and are present in patients with long-term COVID-19 [3; 8; 9]. The share of the global population aged over 60 will double from 12% to 22% from 2015 to 2050 [10]. Managing the long-term effects of COVID-19 for millions of recovering individuals will be a crucial task post-pandemic. The goal is to alleviate strain on the healthcare system, enhance the efficiency of treatment and rehabilitation

for severe cases, and mitigate the risks of premature aging leading to multi-organ pathology.

Any pathogenic factor entering the body, including a viral infection, develops a systemic inflammatory response in the patient. Its goal is to remove the effects of virus exposure, which in turn leads to pathophysiological and pathobiochemical changes, ultimately aimed at restoring the functions of the affected organs and overall body recovery [11]. However, as individuals age and in immunocompromised patients with COVID-19, these restorative mechanisms become less effective, particularly in cases of long COVID, leading to the development of conditions that promote the chronicization of inflammation and its effects, ultimately resulting in premature aging of the body [12].

Cellular mechanisms of the immune response play the most significant protective role, and their disruption creates conditions for the development of prolonged inflammation and the formation of premature aging mechanisms in patients with long-COVID.

Specialized immune system cells with preserved functions are the most effective in fighting the virus. Antigen-presenting cells (APC) recognize, process, and present antigens from viruses. Upon T cell activation, CD4+ T cells primarily transform into effector T cells and generate cytokines and chemokines, whereas CD8+ T cells mainly differentiate into cytotoxic T cells for the specific elimination of virus-infected target cells. The T-cell reaction to SARS-CoV-2 significantly affects the clinical outcome of patients [13]. Researchers, including Lian Liua (2020) and Yujie Jianga (2020), found that the average number of T cells was lower in COVID-19 patients compared to the control group, and the decrease in T cells was more significant than that of B cells and NK cells.

Similarly, severe and moderate COVID-19 patients had fewer T-cells than the control group. Lymphopenia at all stages of observation was a predictor of fatal outcomes for patients with COVID-19 [14; 15]. Other research has demonstrated that the adaptive immune response, specifically T-cells, is crucial in preventing severe disease progression in both

ня була провісником летального результату для пацієнтів з COVID-19 [12, 13]. Інші дослідження показали, що адаптивний імунітет, зокрема Т-клітини, мають вирішальне значення для запобігання тяжкому прогресуванню захворювання у легких і важких формах COVID-19 [14–16]. Щодо субпопуляцій Т-хелперів, то вони також були знижені, особливо у групі з важким перебігом COVID-19. У дослідженні Lombardi et al співвідношення Th1 / Th2 було змінене у пацієнтів з важкою формою захворювання, що вказує на те, що лімфоцити CD4+ пацієнтів з COVID-19 частіше диференціювалися в бік субпопуляцій Th2 [17]. Виявлення лімфопенії в пацієнтів з COVID-19 може свідчити як про гіперактивацію та міграцію лімфоцитів у легені, так і про апоптоз і дизрегуляцію Т-лімфоцитів [18, 19]. Проте досі невідомо, чи є згадані відмінності природним наслідком тяжкої інфекції, чи у цих конкретних пацієнтів було порушено рівновагу між вродженою імунною відповіддю та механізмами контролю [20].

Також було виявлено, що при COVID-19 тенденцію до зниження кількості лімфоцитів мали CD8+ Т- і NK-клітин. Щодо імунологічних функцій CD8+ Т- і NK-клітин, то у хворих на COVID-19 було виявлено стан активації та підвищену цитотоксичність CD8+ Т- і NK-клітин. [21]. Результати показали, що CD8+ Т-клітини пацієнтів з COVID-19 були помітно активовані та могли мати високий цитотоксичний потенціал із посиленою експресією перфоринів та гранзимів (GrA/B), особливо в групі з важким перебігом хвороби. Ці результати свідчать про те, що хоча кількість CD8+ Т-клітин зменшується під час прогресування COVID-19, їхній функціональний стан може мати компенсаторну активацію, особливо в критичний період [19]. Існують суперечливі дані щодо продукування цитокінів CD8+ Т-лімфоцитами, адже відомо що вони секретують інтерферон (IFN)- γ , фактор некрозу пухлини альфа (ФНП- α) і інтерлейкін (IL)-2. Скажімо, у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19, знижувалось продукування цитокінів CD8+ Т-лімфоцитами після стимуляції [22]. Інші дані свідчать, що CD8+ Т-клітини можуть зазнавати гіперактивації, зокрема, мати високий рівень експресії природних маркерів клітин-кілерів і підвищену цитотоксичність [22; 23].

У разі недостатності захисних імунних механізмів та запального процесу у пацієнтів з COVID-19, основну роль перебирає на себе гострофазна багатокомпонентна пірогенна цитокинова реакція з формуванням чітко окресленого системного запалення і зазвичай із серйозними порушеннями, зокрема в системі гомеостазу [24]. За умов хронізації наслідків COVID-19 особливо активними стають різні види цитокінів. Відомо, що вони відіграють важливу роль в імунопатології вірусних інфекцій та її наслідків і можуть прискорювати старіння.

Клітини імунного захисту продукують прозапальні та антизапальні медіатори. До прозапальних медіаторів належать: ФНП- α , IL-1, -2, -6, -8, -15, компоненти комплементу C3a, C5a, еластаза нейтрофілів, вільні кисневі радикали та інші. Дослідження виявили, що COVID-19 пов'язаний із посиленням запальної реакції, викликаючи «цитокиновий шторм», який потенційно може призвести до серйозних мультисистемних пошкоджень органів. Відомо, що цитокинова дисрегуляція має руйнівний вплив на імунну систему у пацієнтів старшого віку [3]. У разі COVID-19 інфекції, плазмоцитоїдні дендритні клітини та активовані В-лімфоцити секретують високі рівні інтерферонів. Продукування IFN- γ або IFN- α і - β є ключовими імунними складовими захисту проти вірусної інфекції. В експерименті на культурі клітин було показано, що на ранніх стадіях розвитку COVID-19 очевидна затримка продукування цитокінів епітеліальними клітинами дихальних шляхів, дендритними клітинами і макрофагами, що клінічно проявляється невираженими проявами вірусного запалення / інфекції на ранніх стадіях захворювання [25]. Пізніше ці клітини секретують низькі рівні антивірусних факторів (інтерферонів) і високі рівні прозапальних цитокінів, таких як IL-1- β , IL-6, ФНП- α , і хемокінів — CCL-2, CCL-3, CCL-5, які активують хемотаксис макрофагів, що своєю чергою сприяє їх виходу із судинного русла в тканини [26]. Надмірне неконтрольоване гіперпродукування прозапальних цитокінів і хемокінів відіграло вагомую роль у патогенезі SARS (тяжкого гострого респіраторного синдрому) і MERS (близькосхідного респіраторного синдрому) у старших пацієнтів та інших імуноскомпрометованих пацієнтів та розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС). Прозапальний «цитокиновий шторм»

mild and severe cases of COVID-19 [16-18]. T-helper subpopulations were also decreased, particularly in the severe COVID-19 group. The investigations by Lombardi et al. showed that the Th1/Th2 balance was altered in severe patients, indicating that CD4+ lymphocytes of COVID-19 patients more commonly differentiated towards Th2 subpopulations [19]. Lymphopenia in COVID-19 patients may suggest a hyperactivation and migration of lymphocytes in the lungs, as well as apoptosis and dysregulation of T lymphocytes. [20, 21]. However, whether these differences are a fundamental consequence of complicated infection is still unknown, just as whether the balance between the innate immune reaction and control mechanisms was disturbed in these patients [22].

There was also a tendency for a decrease in CD8+ T- and NK-cell lymphocytes in case of COVID-19. Regarding the immune function of CD8+ T- and NK-cells, an activation state and increased cytotoxicity of CD8+ T- and NK-cells were found in patients with COVID-19 [23]. The findings indicated that CD8+ T cells in COVID-19 patients were markedly activated and may possess a heightened cytotoxic potential due to increased expression of perforins and granzymes (GrA/B), particularly in the severe disease group. These results suggest that although the number of CD8+ T cells decreases during the progression of COVID-19, their functional state may have compensatory activation, especially during the critical period [21]. There were conflicting data on the production of cytokines by CD8+ T-lymphocytes because it is known that they secrete interferon (IFN)- γ , tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), and interleukin (IL)-2. In patients with complicated COVID-19, the production of cytokines by CD8+ T-lymphocytes decreased after stimulation [24]. Other evidence suggests that CD8+ T-cells can undergo hyperactivation, particularly with a high level of expression of natural killer cell markers and increased cytotoxicity [24; 25].

In the case of insufficiency of protective immune mechanisms and the inflammatory process in patients with COVID-19, the primary role is played by an acute-phase multicomponent pyrogenic cytokine reaction with the formation of pronounced systemic inflamma-

tion and often with severe disorders, in particular in the homeostasis system [26]. Different types of cytokines are particularly active under chronic COVID-19 consequences. It is known that they play a crucial role in the immunopathology of viral infections and their consequences, and they may contribute to accelerating the aging process.

Immune defense cells generate inflammatory and anti-inflammatory mediators. Pro-inflammatory mediators include TNF- α , IL-1, -2, -6, -8, and -15, complement components C3a, C5a, neutrophil elastase, and free oxygen radicals and others. Studies have indicated that COVID-19 is linked to a heightened inflammatory response, triggering a "cytokine storm" that has the potential to result in multisystem severe organ damage. It is known that cytokine dysregulation plays a vital role in weakening the immune system in older patients [3]. In the case of COVID-19 infection, plasmacytoid dendritic cells and activated B-lymphocytes secreted elevated levels of interferons. Interferon (IFN)- γ or IFN - α and - β production is crucial for immune defense against viral infection. In an experiment on cell culture, it was shown that in the early stages of the development of COVID-19, there is a delay in the production of cytokines by epithelial cells of the respiratory tract, dendritic cells, and macrophages. This delay is clinically manifested by unexpressed manifestations of viral inflammation/infection in the early stages of the disease [27]. Later, these cells produce small amounts of antiviral substances (interferons) and large amounts of pro-inflammatory cytokines, including IL-1- β , IL-6, TNF- α , and chemokines such as CCL-2, CCL-3, CCL-5, which trigger the movement of macrophages out of the blood vessels and into the tissues [28]. The overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines has significantly contributed to the development of SARS (severe acute respiratory syndrome) and MERS (Middle East respiratory syndrome) in elderly and other immunocompromised patients, as well as the onset of acute respiratory distress syndrome (ARDS). The immune system's response to inflammation can lead to pathological lung changes. Patients with COVID-19 were found to have elevated levels of IL-1- β , IFN- γ , γ -interferon-induced

спричиняє імунопатологічні зміни в легенях. У пацієнтів з COVID-19 були виявлені високі рівні IL-1- β , IFN- γ , γ -інтерферон-індукованого протеїну-10, моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1. Ці прозапальні цитокини здатні активувати Т-лімфоцити-хелпери першого типу, який продукує IL-2. На відміну від SARS пацієнти з COVID-19 ще мають високий рівень Т-лімфоцитів-хелперів другого типу, які секретують антизапальні цитокини IL-4 та IL-10. Плазматична концентрація IL-2R і IL-6 у пацієнтів з COVID-19 на пряму корелює з тяжкістю перебігу захворювання [24]. У пацієнтів було виявлено підвищення рівня цитокинів і прояв психіатричних симптомів, що також пов'язані з тяжкістю симптомів інфекції SARS-CoV-2 і є проявом «цитокинового шторму». У пацієнтів також можна спостерігати підвищення рівня різних цитокинів та деякі психіатричні розлади, як імунну реакцію на інфекцію SARS-CoV-2, що дає змогу діагностувати їм ПТСР. Розчинні прозапальні цитокини впливають на синтез нейромедіаторів. Зміни в метаболізмі цих нейромедіаторів беруть участь у патофізіології різних психічних розладів, таких як депресія, тривога, ПТСР та ін. При захворюваннях периферичної і центральної нервової системи у пацієнтів з COVID-19 виявлено підвищені рівні IL-1 β та IL-6, які активно впливають на процеси старіння [27].

Біомаркери, що вказують на старіння, були обрані як підмножина ознак, і регресійний аналіз був застосований до цієї моделі. Основними клінічними ознаками передчасного старіння вважають хронічні болі та запальні процеси, які також супроводжують наслідки long-COVID. Важливо зауважити, що деякі індивідуальні біологічні характеристики, пов'язані з порушенням імунітету, можуть змінюватися не лише через вплив COVID-19. У цьому контексті ожиріння, яке пов'язане з системним запаленням і порушенням імунітету, може підвищити вразливість до COVID-19 [28], сприяти нейрозапаленню і є важливим фактором ризику для розвитку та прискорення процесів старіння [29]. Іншим важливим фактором є старіння, пов'язане з дисбалансом рівнів прозапальних (високі рівні) та антизапальних (низькі рівні) цитокинів і зниження функцій, опосередкованих Т-клітинами [30]. У дослідженні був продемонстрований зв'язок між старінням і симптомами тривоги, депресії у пацієнтів,

інфікованих SARS-CoV-2 під час гострої фази, а проявів ПТСР – при хронічній фазі [1, 29, 30]. Отже, як ожиріння, так і літній вік підвищують ризик нейропсихічних симптомів у пацієнтів з COVID-19. Біомаркери, пов'язані зі старінням, а саме: CD3, -4, -8, -22, досліджували для математичного аналізу прогнозування прискореного старіння у пацієнтів, які перенесли тяжкий COVID 19 та long-COVID. Найвища точність була досягнута при використанні опорної векторної машини з лінійним ядром (MAPE = 0.0787) і класифікатора Random forest (випадковий ліс) (RMSE = 1.822).

COVID-19 посвідчив уразливість старіючого населення до нових захворювань і універсальну небезпеку процесів запалення, яке може стати головним фактором спричинення тяжких наслідків COVID 19 серед літніх пацієнтів та посилення процесів старіння серед людей молодого та середнього віку [31]. Попередні дослідження виявили, що різні сигнальні шляхи, активовані запаленням і стресом, з'єднуються з ядерним фактором транскрипції (NF)- κ B, який є головним контролером імунної відповіді і запального каскаду [32]. Використання клітинних маркерів поряд з аналізом низки про- та антизапальних цитокинів сприятиме точнішій оцінці стану імунної системи людини. Старіння пов'язане з порушенням імунного гомеостазу та нерегульованим передаванням сигналів NF κ B [33]. Тому старіння та вікові захворювання після пандемії потребують особливої уваги галузі охорони здоров'я в усьому світі.

Це дослідження було спрямоване на розроблення та перевірку моделі комплексного машинного навчання на основі клінічних та імунологічних характеристик для оцінки ризику тяжкості та тривалості реабілітації після COVID-19 для пацієнтів з SARS-CoV-2. Набір даних, що аналізувалися, містив імунологічні маркери, використовувані для прогнозування зв'язку між тривалістю захворювання та біомаркерами за допомогою підходу машинного навчання. Результати свідчать про те, що зміни досліджуваних біомаркерів, пов'язаних із тяжкістю захворювання, можна використовувати для моніторингу стану тяжкості пацієнта та прогнозування тривалості його реабілітації.

protein-10, and monocyte chemoattractant protein-1. These pro-inflammatory cytokines activate type 1 helper T lymphocytes, producing IL-2.

In contrast to SARS, COVID-19 patients still exhibit elevated levels of type 2 helper T lymphocytes, which produce the anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10. The plasma concentration of IL-2R and IL-6 in patients with COVID-19 directly correlates with the severity of the disease course [26]. Patients exhibited elevated cytokine levels and psychiatric symptoms, which are also linked to the severity of SARS-CoV-2 infection symptoms and represent a "cytokine storm." Patients may also experience increased levels of various cytokines and certain psychiatric disorders as an immune reaction to SARS-CoV-2 infection, leading to PTSD. Soluble anti-inflammatory cytokines impact the production of neurotransmitters. Alterations in the metabolism of these chemical messengers play a role in the physiopathology of different mental problems, including agitation and restlessness, PTSD, and others. Elevated levels of IL-1 β and IL-6, which actively impact the aging process, were observed in patients with COVID-19 who had diseases of the peripheral and central nervous system [29].

Biomarkers indicative of aging were selected as a subset of traits, and regression analysis was applied to this model. Chronic pain and inflammatory processes accompanying the effects of long COVID-19 are considered the primary clinical indicators of premature aging. It is important to note that certain individual biological traits related to immune system impairment can change not only due to COVID-19. In this context, adiposity, associated with general inflammation and weakened immunity, may increase susceptibility to COVID-19 [30], promote neuroinflammation, and be an essential developmental risk factor for accelerated aging processes. [31]. Another crucial factor is senescence, associated with a disproportion of levels between the high pro-inflammatory and low anti-inflammatory cytokines and a decline in T-cell functions [32]. A study demonstrated an association between senescence and mental disorders in patients

infected with SARS-CoV-2 and PTSD symptoms during the chronic phase [1, 31, 32]. Both adiposity and senescence can elevate the possibility of neuropsychiatric symptoms in COVID-19 patients. Biomarkers associated with aging, namely CD3, -4, -8, and -22, were researched for mathematical analysis to predict accelerated aging in patients who experienced severe COVID-19 and long COVID-19. The support vector machine with a linear kernel achieved the highest accuracy (MARE = 0.0787) and a root mean squared error (RMSE = 1.822).

COVID-19 has demonstrated the susceptibility of the elderly population to new illnesses and emphasized the significance of inflammatory processes, which could have a primary role in causing severe consequences of COVID-19 in older patients and accelerating the aging process in young and middle-aged people. [33]. Previous research has indicated that different signaling pathways activated by inflammation and stress are linked to the nuclear transcription factor (NF)- κ B, a vital regulator of the immune response and the inflammatory cascade. [34]. Employing cell markers in conjunction with analyzing various pro- and anti-inflammatory cytokines will aid in evaluating the condition of the human immune system. Aging is linked to the disruption of immune homeostasis and uncontrolled NF κ B signaling. [35]. Therefore, post-pandemic aging and age-related diseases demand particular attention in the global healthcare sector.

Finally, this research-validated a comprehensive machine-learning model using clinical and immunological characteristics to evaluate the severity of risk and recovery duration for patients with SARS-CoV-2 after COVID-19. The analyzed dataset included immunological markers used to predict the association between disease duration and biomarkers through a machine-learning approach. The findings suggest that alterations in the examined biomarkers associated with disease severity can be utilized to monitor the seriousness of the disease and forecast the duration of rehabilitation.

Список літератури

1. Hansen N. Psychiatric Symptoms in Acute and Persisting Forms of COVID-19 Associated with Neural Autoantibodies. *Antibodies* 2023;12,49. <https://doi.org/10.3390/antib12030049>
2. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends Immunol.* 2020; 41(12):1100-1115. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.00450,51>
3. Tayeri K, Asadollahi K, Madani N, Haghjooy Javanmard S. Does COVID-19 escalate aging process? A possible concern. *Adv Biomed Res* 2022;11:106. https://doi.org/10.4103/abr.abr_350_21
4. Dennis A, Wamil M, Alberts J, et al. Multi-organ impairment in low-risk individuals with post-COVID-19 syndrome: a prospective, community-based study *BMJ Open.* 2021;11 e048391 <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-048391>
5. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, et al. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. *Rheumatol Int.* 2022;42:1523-1530 <https://doi.org/10.1007/s00296-022-05146-9>
6. Raony Í, de Figueiredo CS, Pandolfo P, Giestal-de-Araujo E, Oliveira-Silva Bomfim P and Savino W. Psycho- Neuroendocrine-Immune Interactions in COVID-19: Potential Impacts on Mental Health. *Front. Immunol.* 2020;11:1170. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01170>
7. Yelin D, Moschopoulos CD, Margalit I, Gkrania-Klotsas E, Landi F, Stahl JP, Yahav D. ESCMID rapid guidelines for assessment and management of long COVID. *Clin Microbiol Infect.* 2022 Jul;28(7):955-972. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.02.018>.
8. Badenoch, James B Et al. Persistent neuropsychiatric symptoms after COVID-19: a systematic review and meta- analysis. *Brain communications;* 2021;4,1 <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab297>
9. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
10. Graw F. Deciphering the triad of infection, immunity and pathology. *Elife.* 2021;10: e72379. <https://doi.org/10.7554/eLife.72379>
11. Qin C., Zhou L., Hu Z. et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Inf Dis.* 2020;71,15:762-768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
12. Liua L., Xua L., Linb Ch. T cell response in patients with COVID-19. *Blood Sci.* 2020;2:76-78. <https://doi.org/10.1097/BS9.0000000000000050>
13. Jiang Y, Wei X, Guan J, Qin S, Wang Z, Lu H, et al. COVID-19 pneumonia: CD8+ T and NK cells are decreased in number but compensatory increased in cytotoxic potential. *Clin Immunol.* 2020;218:108516. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108516>
14. Matthay M.A., Aldrich J.M. & Gotts J.E. Treatment for severe acute respiratory distress syndrome from COVID 19. *Lancet Resp. Med.* 2020;8:433-434. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30127-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30127-2)
15. Laing A, Del Barrio G, Das A, Fish M, Monin L, Muñoz-Ruiz M, et al. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat Med.* 2020;26:1623-1635. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1038-6>
16. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang YQ, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID- 19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):33. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0148-4>
17. Lombardi A, Trombetta E, Cattaneo A, Castelli V, Palomba E, Tirone M. et al. Early Phases of COVID-19 are characterized by a reduction in lymphocyte populations and the presence of atypical monocytes. *Front Immunol.* 2020;9; 11:560330. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.560330>
18. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, Greenplate AR, Wu JE et al. Deep immune profiling of COVID- 19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science.* 2020; 4;369(6508):eabc8511 <https://doi.org/10.1126/science.abc8511>
19. Neidleman, J., Luo, X., Frouard, J., Xie, G., Gill, G., Stein, E. S. et al. SARS-CoV-2-Specific T cells exhibit phenotypic features of helper function, lack of terminal differentiation, and high proliferation potential. *Cell Rep Med.* 2020;1(6):100081. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100081>
20. Budziło O, Irga-Jaworska N, Myszyńska M, Malanowska M, Niedzwiecki M. The Impact of Past COVID-19 infection on selected lymphocyte subsets in pediatric patients. *Vaccines.* 2023;11:659. <https://doi.org/10.3390/vaccines11030659>
21. van Eeden C, Khan L, Osman MS, Cohen Tervaert JW. Natural Killer Cell Dysfunction and Its Role in COVID-19. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6351. <https://doi.org/10.3390/ijms21176351>
22. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, Zhang N, Wang XC, Yang XP, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol.* 2020;17(5):541-543. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>
23. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol.* 2020; 5(49):eabd7114. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd7114>

References

1. Hansen N. Psychiatric Symptoms in Acute and Persisting Forms of COVID-19 Associated with Neural Autoantibodies. *Antibodies* 2023;12,49. <https://doi.org/10.3390/antib12030049>
2. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends Immunol.* 2020; 41(12):1100-1115. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.00450,51>
3. Tayeri K, Asadollahi K, Madani N, Haghjooy Javanmard S. Does COVID-19 escalate aging process? A possible concern. *Adv Biomed Res* 2022;11:106. https://doi.org/10.4103/abr.abr_350_21
4. Dennis A, Wamil M, Alberts J, et al. Multi-organ impairment in low-risk individuals with post-COVID-19 syndrome: a prospective, community-based study *BMJ Open.* 2021;11 e048391 <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-048391>
5. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, et al. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. *Rheumatol Int.* 2022;42:1523-1530 <https://doi.org/10.1007/s00296-022-05146-9>
6. Raony Í, de Figueiredo CS, Pandolfo P, Giestal-de-Araujo E, Oliveira-Silva Bomfim P and Savino W. Psycho-Neuroendocrine-Immune Interactions in COVID-19: Potential Impacts on Mental Health. *Front. Immunol.* 2020;11:1170. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01170>
7. Yelin D, Moschopoulos CD, Margalit I, Gkrania-Klotsas E, Landi F, Stahl JP, Yahav D. ESCMID rapid guidelines for assessment and management of long COVID. *Clin Microbiol Infect.* 2022 Jul;28(7):955-972. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.02.018>.
8. Badenoch, James B Et al. Persistent neuropsychiatric symptoms after COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Brain communications;* 2021;4,1 <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab297>
9. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
10. Graw F. Deciphering the triad of infection, immunity and pathology. *Elife.* 2021;10: e72379. <https://doi.org/10.7554/eLife.72379>
11. Qin C., Zhou L., Hu Z. et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Inf Dis.* 2020;71,15:762-768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
12. Liua L., Xua L., Linb Ch. T cell response in patients with COVID-19. *Blood Sci.* 2020;2:76-78. <https://doi.org/10.1097/BS9.0000000000000050>
13. Jiang Y, Wei X, Guan J, Qin S, Wang Z, Lu H, et al. COVID-19 pneumonia: CD8+ T and NK cells are decreased in number but compensatory increased in cytotoxic potential. *Clin Immunol.* 2020;218:108516. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108516>
14. Matthay M.A., Aldrich J.M. & Gotts J.E. Treatment for severe acute respiratory distress syndrome from COVID 19. *Lancet Resp. Med.* 2020;8:433-434. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30127-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30127-2)
15. Laing A, Del Barrio G, Das A, Fish M, Monin L, Muñoz-Ruiz M, et al. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat Med.* 2020;26:1623-1635. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1038-6>
16. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang YQ, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):33. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0148-4>
17. Lombardi A, Trombetta E, Cattaneo A, Castelli V, Palomba E, Tirone M. et al. Early Phases of COVID-19 are characterized by a reduction in lymphocyte populations and the presence of atypical monocytes. *Front Immunol.* 2020;9; 11:560330. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.560330>
18. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, Greenplate AR, Wu JE et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science.* 2020; 4;369(6508):eabc8511 <https://doi.org/10.1126/science.abc8511>
19. Neidleman, J., Luo, X., Frouard, J., Xie, G., Gill, G., Stein, E. S. et al. SARS-CoV-2-Specific T cells exhibit phenotypic features of helper function, lack of terminal differentiation, and high proliferation potential. *Cell Rep Med.* 2020;1(6):100081. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100081>
20. Budziło O, Irga-Jaworska N, Myszyńska M, Malanowska M, Niedzwiecki M. The Impact of Past COVID-19 infection on selected lymphocyte subsets in pediatric patients. *Vaccines.* 2023;11:659. <https://doi.org/10.3390/vaccines11030659>
21. van Eeden C, Khan L, Osman MS, Cohen Tervaert JW. Natural Killer Cell Dysfunction and Its Role in COVID-19. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6351. <https://doi.org/10.3390/ijms21176351>
22. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, Zhang N, Wang XC, Yang XP, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol.* 2020;17(5):541-543. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>
23. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol.* 2020; 5(49):eabd7114. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd7114>

24. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
25. Davidson S, Maini MK, Wack A. Disease-promoting effects of Type 1 Interferons in viral, bacterial and coinfection. *J. Interf. Cytokine Res*. 2015;35(4):352-64. <https://doi.org/10.1089/jir.2014.0227>
26. Montazersaheb S, Hosseiniyan Khatibi S.M, Hejazi, M.S, Tarhiz V, Farjami A, Sorbensi FG. et al. COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions. *Virol J*. 2022;19:92. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01814-1>
27. Bajaj V, Gadi N, Spihlman AP, Wu SC, Choi CH, Moulton VR. Aging, Immunity, and COVID-19: How Age Influences the Host Immune Response to Coronavirus Infections? *Front Physiol*. 2021;11:571416. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.571416>
28. Goumenou M, Sarigiannis D, Tsatsakis A, Anesti O, Docea AO, Petrakis D. et al. COVID-19 in Northern Italy: An integrative overview of factors possibly influencing the sharp increase of the outbreak (Review). *Mol Med Rep*. 2020;22:20-32. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11079>
29. Petrakis D, Margină D, Tsarouhas K, Tekos F, Stan M, Nikitovic D. Et al. Obesity a risk factor for increased COVID-19 prevalence, severity and lethality (Review). *Mol Med Rep*. 2020;22(1):9-19. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11127>
30. Cao X, Li W, Wang T, Ran D, Davalos V, Planas-Serra L. et al. Accelerated biological aging in COVID-19 patients. *Nat Commun*. 2022;13(1):2135. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29801-8>
31. Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala NM. et al. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res Rev* 2021;65:101205. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101205>
32. Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: Causes and consequences. *Trends Mol Med* 2010;16:238-46. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.03.003>
33. Zhou Q., Zhang L., Dong Y., Wang Y., Zhang B., Zhou Sh. et al. The role of SARS-CoV-2-mediated NF-κB activation in COVID-19 patients. *Hypertens Res*. 2024;47:375-384. <https://doi.org/10.1038/s41440-023-01460-2>

24. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
25. Davidson S, Maini MK, Wack A. Disease-promoting effects of Type 1 Interferons in viral, bacterial and coinfection. *J. Interf. Cytokine Res*. 2015;35(4):352-64. <https://doi.org/10.1089/jir.2014.0227>
26. Montazersaheb S, Hosseiniyan Khatibi S.M, Hejazi, M.S, Tarhiz V, Farjami A, Sorbensi FG. et al. COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions. *Virology*. 2022;19:92. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01814-1>
27. Bajaj V, Gadi N, Spihlman AP, Wu SC, Choi CH, Moulton VR. Aging, Immunity, and COVID-19: How Age Influences the Host Immune Response to Coronavirus Infections? *Front Physiol*. 2021;11:571416. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.571416>
28. Goumenou M, Sarigiannis D, Tsatsakis A, Anesti O, Docea AO, Petrakis D. et al. COVID-19 in Northern Italy: An integrative overview of factors possibly influencing the sharp increase of the outbreak (Review). *Mol Med Rep*. 2020;22:20-32. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11079>
29. Petrakis D, Margină D, Tsarouhas K, Tekos F, Stan M, Nikitovic D. Et al. Obesity a risk factor for increased COVID-19 prevalence, severity and lethality (Review). *Mol Med Rep*. 2020;22(1):9-19. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11127>
30. Cao X, Li W, Wang T, Ran D, Davalos V, Planas-Serra L. et al. Accelerated biological aging in COVID-19 patients. *Nat Commun*. 2022;13(1):2135. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29801-8>
31. Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala NM. et al. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res Rev* 2021;65:101205. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101205>
32. Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: Causes and consequences. *Trends Mol Med* 2010;16:238-46. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.03.003>
33. Zhou Q., Zhang L., Dong Y., Wang Y., Zhang B., Zhou Sh. et al. The role of SARS-CoV-2-mediated NF-κB activation in COVID-19 patients. *Hypertens Res*. 2024;47:375-384. <https://doi.org/10.1038/s41440-023-01460-2>