



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

CAMILA SILVA BEZERRA

**IMPACTO DA COVID-19 NAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS: ACHADOS
ULTRASSONOGRÁFICOS EM PACIENTES COM QUADROS GRAVES**

RECIFE
2022

CAMILA SILVA BEZERRA

**IMPACTO DA COVID-19 NAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS: ACHADOS
ULTRASSONOGRÁFICOS EM PACIENTES COM QUADROS GRAVES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia

Área de concentração: Cirurgia Clínica e Experimental.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Cristina Soares Brandão

**RECIFE
2022**

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Rodrigo Leopoldino Cavalcanti I, CRB4-1855

B574i Bezerra, Camila Silva.
Impacto da covid-19 nas artérias carótidas : achados ultrassonográficos em pacientes com quadros graves / Camila Silva Bezerra. – 2022.
105 f. : il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora : Simone Cristina Soares Brandão.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências Médicas. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia.
Recife, 2022.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1.COVID-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Ultrassonografia. 4. Carótidas. 5. EMI. I. Brandão, Simone Cristina Soares (Orientadora). II. Título.

617 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2023-042)

CAMILA SILVA BEZERRA

**“IMPACTO DA COVID-19 NAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS: ACHADOS
ULTRASSONOGRÁFICOS EM PACIENTES COM QUADROS GRAVES”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Médicas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia. Área de concentração: Cirurgia Clínica Experimental.

Aprovada em: 20/06/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a. SIMONE CRISTINA SOARES BRANDÃO (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof.^a Dr.^a. EMMANUELLE TENÓRIO A. GODOI BERENGER DE BARROS E SILVA
(Examinadora Interna) - Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO (Examinador Externo)
Lika/UFPE

Dedico este trabalho aos meus pais, **Solange** e **Gregório**, que desde cedo me incentivaram e me ensinaram o valor da educação. A **Alice**, por todo carinho, paciência e ajuda, possibilitando a realização deste trabalho. A **Eduardo** e **Bianca**, por trazerem café e soluções tecnológicas. A **Leonardo**, que, superando momentos de ausência, sempre me recebeu com sorrisos. A **Carolina** (*in memoriam*) que sempre me inspirou e me orientou ao longo de sua vida.

AGRADECIMENTOS

Os meus sinceros agradecimentos a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste estudo, em especial:

Aos pacientes, que confiaram em nossa equipe e tornaram esse estudo possível.

À minha equipe de pesquisa, em especial Alice Abath e Thaís Ramos, por darem todo o apoio necessário, enveredando nas trilhas do desconhecido e estando lado-a-lado em busca de respostas que pudessem ajudar no enfrentamento de um dos períodos mais críticos da história, durante a pandemia da COVID-19.

À minha orientadora, professora Simone Cristina Soares Brandão, que acreditou nesse e em outros projetos, incentivando e estando ao meu lado, sempre disponível.

Aos professores Esdras Marques e Emmanuelle Godoi, grandes referências da angiologia: muito obrigada por toda atenção.

Aos meus amigos, em especial Fernanda Borba, Illa Rizvi e Flávia Rêgo, por me ajudarem em momentos cruciais para conclusão desse projeto.

A Fátima e Lurdinha, que sempre me incentivaram a trilhar o caminho acadêmico.

RESUMO

Responsável por milhões de infectados e de mortes em todo o mundo, a COVID-19 permanece com lacunas no seu entendimento. O segundo coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2) revelou-se um agente infeccioso complexo, responsável por manifestações extrapulmonares, incluindo alterações cardiovasculares. A enzima conversora da angiotensina 2 (ECA-2), um dos principais alvos do vírus, exibe grande expressão na vasculatura, inferindo que vasos podem ser susceptíveis a dano pela doença e que disfunção endotelial pode ter papel central na sua fisiopatologia. A ultrassonografia (USG) é método de imagem já consagrado para avaliação vascular. O objetivo deste estudo foi investigar alterações vasculares e perivasculares nas artérias carótidas utilizando a USG, e avaliar associação com mortalidade e variáveis clínicas. Para isso, foi realizado estudo prospectivo multicêntrico entre julho de 2020 e fevereiro de 2021. Cinquenta e três pacientes hospitalizados com COVID-19 grave, confirmada por RT-PCR, foram incluídos no estudo. Dados demográficos e clínicos foram coletados nos prontuários, sendo posteriormente analisados em conjunto com dados de imagem. Análise estatística foi conduzida, incluindo testes Qui-quadrado de independência de Pearson, teste de Mann-Whitney e de Fisher, bem como modelos de regressão logística. A USG revelou alterações vasculares em 45 (85%) pacientes. Os principais achados da USG foram irregularidade da superfície endoluminal em 29 pacientes (55%), placas carótídeas em 30 (57%), sinais de infiltração perivascular em 4 (7,5%) e aumento da espessura mediointimal (EMI) em 31 (58%). Dezenove de 31 (61%) pacientes com aumento da EMI morreram, observando-se associação entre aumento da EMI e mortalidade por COVID-19 ($p=0,03$). Através de modelo de regressão logística, a probabilidade de óbito foi de 85% nos pacientes com espessamento mediointimal e histórico de nefropatia crônica ou lesão renal aguda na admissão hospitalar ($p<0,05$). Observou-se, ainda, surgimento de espessamento mediointimal em paciente que se encontrava previamente sem essa alteração, após piora do quadro clínico; também houve sinais de redução do processo inflamatório perivascular em outro paciente, após ultrapassar período de maior atividade inflamatória da doença e pós-manejo terapêutico. Como conclusão, este estudo mostrou alterações vasculares e perivasculares em pacientes com COVID-19 grave que estiveram relacionadas a mortalidade.

Palavras-chave: COVID-19; SARS-CoV-2; ultrassonografia; carótidas; EMI.

ABSTRACT

Responsible for millions of infections and deaths around the world, COVID-19 remains with gaps in its understanding. The second severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) proved to be a complex infectious agent, responsible for extrapulmonary manifestations, including cardiovascular changes. The angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2), one of the main targets of the virus, is abundantly expressed on the surface of the vascular endothelium, implying that vessels may be susceptible to damage by the disease and that endothelial dysfunction may play a central role in its pathophysiology. Ultrasonography is a well-established imaging method for vascular evaluation. The objective of this study was to investigate vascular and perivascular abnormalities in the carotid arteries using ultrasound and evaluate their association with mortality and clinical variables in hospitalized COVID-19 patients. For this, a prospective multicenter study was conducted in three Brazilian hospitals between July 2020 and February 2021. Fifty-three hospitalized patients with severe COVID-19, confirmed by RT-PCR, were enrolled in the study and underwent ultrasound. Demographic, clinical, laboratory, and imaging data of patients were compared using statistical tests such as Pearson's chi-square test for independence, Mann-Whitney test and logistic regression models. Ultrasound revealed vascular changes in 45 (85%) patients. Increased IMT (58%), endoluminal surface irregularity (55%), perivascular infiltration (7.5%) and carotid plaques (57%) were the main findings. Among those with increased IMT, 19 (61%) died, with an association observed between increased IMT and COVID-19 mortality ($p = 0.03$). A logistic regression model showed that the probability of death was 85% in patients with increased IMT and a history of chronic nephropathy or acute kidney injury at hospitalization ($p < 0.05$). It was also observed the onset of increased IMT after a clinical worsening in a patient with a previous normal carotid ultrasound, as well as the demonstration of a decreasing pathologic carotid findings in the follow-up examination of another patient, coinciding with an improved clinical condition post-therapeutic management. Thus, this prospective study reported vascular and perivascular changes in critically ill patients with COVID-19, as well as their associations with mortality.

Keywords: COVID-19; SARS-CoV-2; ultrasonography; carotid arteries; carotid intima-media thickness.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	USG carotídea de paciente que evoluiu com aumento da EMI e irregularidade subendotelial	33
Figura 2 –	USG de paciente que evoluiu com redução dos achados inflamatórios vasculares e perivasculares	34
Figura 3 –	Placa e alterações da EMI similares a síndrome TIPIC	36
Figura 4 –	Alterações inflamatórias e trombóticas nas artérias carótidas e vertebrais	37
Figura 5 –	Achados ecográficos de irregularidade subendotelial em três pacientes	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características demográficas e clínicas dos pacientes	32
Tabela 2 –	Variáveis clinicorradiológicas e suas associações com desfecho	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COVID-19	Doença do novo coronavírus 2019
DAC	Doença arterial coronariana
DM	Diabetes mellitus
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
EMI	Espessura mediointimal
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
RT-PCR	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia de polimerase
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TIPIC	<i>Transient perivascular inflammation of the carotid artery</i>
USG	Ultrassonografia
UTI	Unidade de terapia intensiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA.....	13
1.2	OBJETIVOS.....	14
1.2.1	<i>Objetivo geral.....</i>	<i>14</i>
1.2.2	<i>Objetivos específicos.....</i>	<i>15</i>
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1	VIROLOGIA: SARS-COV-2 E A FAMÍLIA CORONAVIRIDAE.....	16
2.2	SARS-COV-2: TRANSMISSÃO E MECANISMO DE INFECÇÃO VIRAL.....	16
2.3	SARS-COV-2: FASES DA DOENÇA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	18
2.4	SARS-COV-2: IMUNIDADE, INFLAMAÇÃO E TEMPESTADE DE CITOCINAS.....	19
2.5	SARS-COV-2: ALTERAÇÕES NA COAGULAÇÃO.....	20
2.6	SARS-COV-2: MANIFESTAÇÕES NO ENDOTÉLIO.....	22
2.7	SARS-COV-2: DIAGNÓSTICO POR IMAGEM.....	25
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1	LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	26
3.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	26
3.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	26
3.4	DESENHO E PERÍODO DO ESTUDO.....	26
3.5	COLETA DE DADOS.....	26
3.5.1	<i>Ultrassonografia.....</i>	<i>27</i>
3.5.2	<i>Dados clínicos, laboratoriais e demográficos.....</i>	<i>28</i>
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
3.7	PROCEDIMENTOS ÉTICOS.....	29
4	RESULTADOS.....	30
5	DISCUSSÃO.....	40
6	CONCLUSÃO.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44
	APÊNDICE A – FICHA DE COLETA DE DADOS.....	49

APÊNDICE B – FORMULÁRIO DE ULTRASSONOGRAFIA.....	52
APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	55
ANEXO A – ARTIGO ORIGINAL ACEITO NA RADIOLOGIA BRASILEIRA.....	59
ANEXO B – COMPROVANTE DE ACEITE NA REVISTA RB.....	88
ANEXO C – ARTIGO DE REVISÃO OBESIDADE E COVID-19.....	89
ANEXO D – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	100

1 INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

A COVID-19 (do inglês, *Coronavirus Disease 2019*) é a doença causada pelo SARS-CoV-2, o segundo coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), responsável por milhões de infectados e de mortes em todo o mundo ⁽¹⁾. Inicialmente descrito como um vírus de tropismo respiratório, com quadros variando desde sintomas leves de infecção das vias aéreas superiores a quadros graves de SRAG, o SARS-CoV-2 revelou-se um agente infeccioso complexo, responsável por manifestações extrapulmonares, incluindo alterações renais, cutâneas, gastrointestinais, neurológicas e cardiovasculares ⁽²⁻⁷⁾.

O SARS-CoV-2 liga-se aos receptores da enzima conversora da angiotensina-2 (ECA2) e penetra no citoplasma das células do hospedeiro através da glicoproteína *Spike*, que forma a *coroa* em torno do vírus ^(8,9). A ECA2 está amplamente distribuída pelo organismo, tendo expressão abundante na superfície do endotélio vascular ^(5,9,10). Tecidos com grande expressão da ECA2 em sua superfície são considerados susceptíveis à infecção direta pelo vírus ⁽¹⁰⁾.

Estudos *post-mortem* de pacientes com COVID-19 grave revelaram endotelite e outras alterações vasculares como angiogênese intussusceptiva pulmonar, necrose celular e presença de microtrombos ^(11,12). Esses achados reforçam a hipótese de que a COVID-19 é uma doença vascular, tendo o endotélio papel central na sua fisiopatologia ^(11,13-15).

O dano endotelial associado ao estado de hipercoagulabilidade e ao processo inflamatório decorrentes da COVID-19 podem levar a um estado de “*vasculite-like*” ⁽¹⁶⁾. Esse estado inflamatório pró-coagulante pode resultar em aumento da formação de trombina e fibrina, com formação de micro e macrotromboses nos leitos arteriais e venosos. Clinicamente, os pacientes podem desenvolver tromboses arteriais agudas de membros, infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular encefálico (AVE), trombose venosa profunda (TVP), embolia pulmonar (TEP), além de tromboses do leito arterial pulmonar *in situ*, o que pode levar a óbito ⁽¹⁷⁾.

As alterações vasculares decorrentes da COVID-19 tiveram significativo impacto na morbi-mortalidade desses pacientes. Como no início da pandemia não havia ainda muitos dados sobre a doença, iniciou-se uma “corrida” em busca de informações e de possíveis métodos de diagnóstico, tanto laboratoriais como de

imagem, tendo em vista otimização da investigação clínica e do planejamento terapêutico.

A ultrassonografia (USG) das carótidas é uma ferramenta diagnóstica amplamente disponível e não invasiva para avaliação de anormalidades vasculares, incluindo alterações na espessura mediointimal (EMI) e outros achados patológicos da parede vascular ⁽¹⁸⁾. A medida da EMI por meio da USG é um marcador não-invasivo e precoce de aterosclerose e pode refletir o aumento do risco cardiovascular global, sendo associada a maior risco de IAM e/ou de AVE ⁽¹⁹⁻²²⁾.

Além disso, alterações na EMI observadas pela USG já foram referidas em outras infecções virais, incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ^(23, 24). A USG ainda contribui para a detecção de alterações iniciais e complicações de vasculopatias, podendo ser realizada no leito de UTI ⁽²⁵⁻²⁸⁾. Diante do exposto, a USG pode ter grande utilidade na detecção de alterações vasculares em pacientes com COVID-19 grave, tanto na avaliação de possíveis disfunções endoteliais decorrentes da infecção viral como na detecção de processos tromboembólicos.

Considerando que não foram realizados até o momento estudos prospectivos ultrassonográficos para avaliar as alterações carotídeas relacionadas à infecção pelo SARS-CoV-2, a proposta deste estudo foi identificar e caracterizar alterações da EMI e outras anormalidades vasculares em pacientes com quadros graves de COVID-19 através de USG das carótidas, bem como correlacioná-las com mortalidade e variáveis clínicas.

Os resultados deste estudo culminaram com a elaboração do artigo original aceito para publicação na Revista Radiologia Brasileira, intitulado “***Ultrasound findings in severe COVID-19: a deeper look through the carotids***” (ANEXO A e B) e do artigo de revisão “***COVID-19 and obesity: the meeting of two pandemics***” (ANEXO C), já publicado na Revista *Archives of Endocrinology and Metabolism*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 *Objetivo geral*

Avaliar alterações na espessura mediointimal e outras alterações vasculares em pacientes com quadros graves de COVID-19 através de exame de ultrassonografia e correlacioná-las com variáveis clínicas e mortalidade.

1.2.2 *Objetivos específicos*

- Identificar e caracterizar as alterações vasculares encontradas na ultrassonografia de artérias carótidas em pacientes com COVID-19 grave.
- Avaliar se o espessamento mediointimal de carótidas é um fator de risco independente de morte na COVID-19.
- Associar a presença de espessamento e de irregularidade mediointimal de carótidas com desfechos clínicos, tipo morte, necessidade de ventilação mecânica, hemodiálise e eventos tromboembólicos, em pacientes com COVID-19 hospitalizados.
- Avaliar presença e característica de placas de ateroma nas artérias carótidas em pacientes com COVID-19 grave.
- Correlacionar os achados ultrassonográficos com variáveis clínicas, incluindo dados demográficos, comorbidades e exames laboratoriais disponíveis nos prontuários dos pacientes com COVID-19 grave.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 VIROLOGIA: SARS-COV 2 E A FAMÍLIA CORONAVIRIDAE

Os coronavírus são um grupo de vírus envelopados com material genético composto por uma fita simples de RNA, de sentido positivo. Isso significa que podem usar seu próprio RNA como molde na célula infectada pelo vírus, produzindo proteínas necessárias para expressão do conteúdo genético viral e para a sua propagação⁽²⁹⁻³¹⁾.

A COVID-19 é causada pelo SARS-CoV-2 (do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), betacoronavírus pertencente à família *Coronaviridae*, assim chamada devido ao aspecto em formato de coroa que esse grupo apresenta. É o sétimo vírus da família conhecidamente capaz de infectar seres humanos⁽³²⁾. Fazem parte ainda da família *Coronaviridae* outros dois vírus humanos também responsáveis por síndromes respiratórias e que resultaram em duas epidemias com alta taxa de mortalidade: o SARS-CoV-1 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*), agente responsável pelo surto de Síndrome Respiratória Aguda Grave (*Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS*) em 2002, e o MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) identificado como causa da Síndrome Respiratória do Oriente Médio em 2012^(29,30,33,34,35).

SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 exibem similaridades em seu genoma (em torno de 80%), incluindo o mesmo mecanismo de entrada na célula hospedeira: os receptores da ECA2⁽³⁶⁻³⁸⁾.

2.2 SARS-COV-2: TRANSMISSÃO E MECANISMO DE INFECÇÃO VIRAL

O SARS-CoV-2 é transmitido por meio de secreções e gotículas respiratórias, contato com superfícies contaminadas e fômites⁽³⁸⁾. O principal modo de transmissão é de pessoa a pessoa, via contato próximo, acreditando-se ocorrer através de gotículas respiratórias liberadas durante tosse, espirro ou durante conversação. As gotículas infectadas podem se espalhar por até cerca de 2 metros, depositar em superfícies e permanecer nelas por um período de tempo^(38,39). O mecanismo de entrada do vírus na célula humana se dá através da ligação entre a proteína *spike* viral e os receptores da ECA2 do hospedeiro, sendo também necessária a protease TMPRSS2 (*transmembrane protease serine 2*) para infectar as células^(9,38,40). A ECA2 está amplamente distribuída pelo organismo e presente em vários tecidos,

notadamente no pulmão, aparelho gastrointestinal, rins, pâncreas, sistema nervoso, coração e endotélio vascular (6,7,9,10,15,38).

Subsequentemente, ocorre fusão entre as membranas viral e celular, mecanismo conhecido como "endocitose", tendo como resultado a entrada do vírus na célula humana e consequente liberação do RNA viral no citoplasma hospedeiro. Uma vez dentro da célula, o processo de translação viral inicia, utilizando a maquinaria da célula hospedeira para a replicação e disseminação viral, sendo produzidas e liberadas novas partículas virais, terminando por levar à morte a célula hospedeira (6,7,38,41).

É importante salientar que a ECA2 participa da maturação da angiotensina, hormônio que atua no controle da pressão arterial e vasoconstrição corpórea. A angiotensina 2, juntamente com seu receptor AT1R, propicia um ambiente pró-inflamatório, pró-apoptótico, pró-oxidativo e pró-fibrótico, além de contribuir para a retenção de sódio e água através da liberação de aldosterona e vasopressina (42,43). A ECA2 atua degradando a angiotensina 2 (Ang II), a forma ativa da angiotensina, em angiotensina 1-7 (Ang 1-7), servindo como contrapeso ao sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e protegendo endotélio, coração, pulmões, rins e intestino contra danos teciduais (32,42). Quando o SARS-CoV-2 se liga ao receptor da ECA2, ocorre redução na produção de angiotensinas 1-7, podendo culminar com complicações pró-inflamatórias e cardiovasculares (5,42).

A proteína *spike* do SARS-CoV-2 possui uma grande afinidade pela ECA2 (42). A utilização dos receptores da ECA2 como mecanismo de entrada para o vírus resulta em uma menor disponibilidade desses receptores celulares e consequente redução da expressão da ECA2, fenômeno chamado de *downregulation* ou hiporregulação da enzima, contribuindo para uma maior susceptibilidade do hospedeiro a danos teciduais sistêmicos e para a patogênese da SRAG, uma vez que esse evento estimula o aumento de complexos Ang II/AT1R e reduz a produção de angiotensinas 1-7 (5,42,43).

A ECA2 também limita a expressão de várias citocinas pró-inflamatórias *in vitro*, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-6 (IL-6), moléculas que participam do recrutamento de células fagocitárias (42,44). Dessa maneira, acredita-se que na COVID-19 pode haver uma elevação do número de macrófagos e uma maior expressão das citocinas pró-inflamatórias, uma vez que o vírus SARS-CoV-2 tende a reduzir a disponibilidade de ECA2 no organismo (42).

Os sistemas imunes inato e adaptativo reconhecem as células humanas infectadas pelos vírus, iniciando a produção de diversas citocinas. Dentre as principais citocinas, estão o TNF- α (responsável pela ativação neutrofilica, promoção de coagulação e produção de febre) e o interferon-gama ou IFN- γ (responsável pela indução de atividade macrófagica e por ampliar a liberação de citocinas pró-inflamatórias, pró-fibróticas e responsáveis pela regulação da resposta imune)⁽⁵⁾. Devido à liberação de grandes quantidades de citocinas pro-inflamatórias, pode-se atingir um estado de hiperinflamação sistêmica chamado de "tempestade de citocinas"⁽⁴⁵⁾.

O período de incubação da COVID-19 é estimado em menos de 14 dias, com a maior parte dos casos se manifestando em torno de 4-5 dias após exposição^(6,7,37,47).

2.3 SARS-COV-2: FASES DA DOENÇA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A COVID-19 é classificada em três fases de acordo com a apresentação clínica, as quais parecem estar associadas à intensidade da resposta imune e inflamatória⁽⁵⁾. O espectro de apresentações clínicas é variável, desde pacientes assintomáticos a pacientes graves. A forma leve (fase I) geralmente se caracteriza pela presença de sintomas gripais: febre, cefaléia, coriza, tosse e fadiga. Outras manifestações são diarreia, anosmia, ageusia, mialgia e odinofagia. Sinais de pneumonia leve podem ser vistos nos exames de imagem do tórax. Acredita-se que a fase I corresponda a uma resposta inflamatória adequada^(5,6,7,37). Já a forma grave, também chamada de fase II ou fase hiperinflamatória, é decorrente de uma provável resposta imune exacerbada, caracterizada por dispneia, taquipneia, queda na saturação de oxigênio e hipóxia, podendo ser encontrado infiltrado pulmonar na tomografia computadorizada de tórax ou no estudo radiográfico, com acometimento inflamatório pulmonar superior a 50%. Os casos críticos (fase III) também são decorrentes da exacerbação da resposta imune, sendo caracterizados por um estado de hipercitocinemia pró-inflamatória chamado de "tempestade de citocinas"; pacientes na fase III podem apresentar sinais de falência respiratória, choque circulatório e disfunção de múltiplos órgãos^(5,6,7,15,37,47). Antes da vacinação, estimava-se que cerca de 80% dos casos de COVID-19 apresentavam sintomas leves a moderados, 14-15% exibiam quadros graves e 5% evoluíam com estado crítico^(5,6,7,15,45).

Definir a fase da doença é de grande importância para o manejo de cada paciente, uma vez que quadros da doença na fase I são geralmente auto-limitados e

benignos, enquanto as fases II e III da COVID-19 evoluem com manifestações graves, necessitando de suporte ventilatório e terapia intensiva, decorrentes do estado hiperinflamatório ^(15,48).

2.4 SARS-COV-2: IMUNIDADE, INFLAMAÇÃO E TEMPESTADE DE CITOCINAS

Uma resposta imune modulada contra o vírus pode ser fundamental para a resolução da doença pelo SARS-CoV-2 ⁽⁵⁾. Uma vez dentro da célula, o patógeno ativa a imunidade inata e adaptativa. Células epiteliais, células linfóides inatas (incluindo as células *Natural Killer* ou NK) e outras células da linhagem mielóide são ativadas, determinando a liberação de citocinas pró-inflamatórias e fatores quimiotáticos. Interferon tipo I (IFN1), IFN- γ , TNF- α e interleucinas (IL) -1, -6, -8, -12, -15 e -18 atuam para impedir a replicação viral, permitir a ativação de células específicas (incluindo macrófagos, células dendríticas e NK) e induzir a atividade inflamatória, promovendo a citotoxicidade da resposta imunológica e um estado catabólico. Além disso, as células epiteliais liberam ainda IL-33 (estimulando a regeneração tecidual parácrina) e os pneumócitos tipo II produzem surfactante (o qual se liga aos vírus, favorecendo a atuação dos macrófagos) ^(15,38,49).

Também há o recrutamento de linfócitos T, os quais se diferenciam em células efectoras ou em células de memória imunológica após serem ativados pelo reconhecimento dos antígenos virais; o resultado é um ataque mais específico ao vírus. Os linfócitos T CD4⁺ (chamados de "auxiliares") recrutam células fagocitárias através da liberação de citocinas, enquanto os linfócitos T CD8⁺ (chamados de "citotóxicos") são capazes de reconhecer células infectadas pelo vírus, eliminando-as. Os linfócitos B, que também fazem parte da imunidade adaptativa, são responsáveis pela memória imunológica (células B de memória) e pela produção de anticorpos. Esses anticorpos sofrem processo de troca do isótipo ao longo da infecção, diminuindo a produção de IgM e aumentando a de IgG com o decorrer do tempo ^(5,38,50).

Para uma resposta imune bem articulada, é necessária a coordenada produção de citocinas pró-inflamatórias (exemplo: TNF- α e IFN- γ) e anti-inflamatórias (exemplo: IL-10), atuando em conjunto com a imunidade celular e as imunoglobulinas, tendo como meta potencializar o ataque ao patógeno. Após a eliminação do patógeno, o organismo prossegue com mecanismos de reparação tecidual e restauração da homeostase ^(5,15,38,45).

Entretanto, o SARS-CoV-2 pode induzir a uma excessiva e prolongada resposta imunológica, levando ao aumento excessivo de citocinas em alguns indivíduos, culminando com quadros graves ⁽³²⁾.

Na COVID-19 grave, ocorre disfunção das células NK e redução na produção de IFN1, que é o principal indutor da resposta antiviral ^(38,42). Também há recrutamento excessivo e ativação descontrolada de células pró-inflamatórias (neutrófilos e monócitos-macrófagos). Esse conjunto de eventos proporciona uma maior replicação viral e uma hipersensibilidade do sistema imune específico, levando à liberação descontrolada de citocinas com subsequente dano tecidual, podendo evoluir com disfunção de múltiplos órgãos e morte ^(32,45). McGonagle *et. al.* sugerem que esse estado de hipercitonemia pró-inflamatória (intitulado "tempestade de citocinas") seja provocado pela alta viremia de SARS-CoV-2, decorrente de uma resposta imune fraca no início da doença ⁽⁴⁵⁾.

Esse estado pró-inflamatório exacerbado é similar à Síndrome de Ativação Macrofágica (SAM). A SAM é caracterizada por hiperativação imunológica secundária à eliminação inadequada de macrófagos ativados pelas células NK e pelos linfócitos T citotóxicos, resultando em produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias ^(5,45). A SAM é caracterizada por citopenias, febre persistente, disfunção hepática e coagulação intravascular disseminada (CIVD), podendo ser fatal. Entretanto, diferentemente da SAM, na COVID-19 a insuficiência respiratória e a pneumonia atípica são mais comuns, bem como hipercoagulabilidade, disfunção de múltiplos órgãos e sepse ⁽⁴⁵⁾.

Importante salientar que a disfunção hepática na COVID-19 também contribui para a exacerbação da coagulopatia, à medida em que diminui a produção de fatores da coagulação ⁽¹⁷⁾.

Diante do exposto, fica evidente o vínculo entre sistema imune, inflamação e coagulação nos pacientes com quadro grave de COVID-19, os quais devem ser rastreados para possíveis alterações nessa tríade ⁽⁵⁾.

2.5 SARS-COV-2: ALTERAÇÕES NA COAGULAÇÃO

Os processos inflamatórios contribuem para a disfunção endotelial e o aumento dos níveis séricos de fatores pró-coagulantes (a exemplo do fator tissular e do fator de von Willebrand), além de reduzir anticoagulantes naturais como proteína C, proteína S, anti-trombina III e inibidor do fator tissular. Estados hiperinflamatórios

também levam à ativação plaquetária e estase sanguínea, condições que aumentam o risco de trombose vascular ^(14,17).

O sistema de coagulação pode ser ativado por uma variedade de vírus, incluindo o vírus da Dengue, do Ebola e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ⁽⁵¹⁾. O estado hipercoagulante relacionado à COVID-19 já está bem estabelecido, o qual pode predispor a trombose venosa e arterial, embolia pulmonar, isquemia de membros, lesão renal aguda, IAM e AVE ^(6,7,14,17,51).

Alguns dados sugerem que a coagulopatia na infecção grave por COVID-19 exibe manifestações semelhantes à coagulopatia induzida por sepse, caracterizadas por coagulação intravascular disseminada (CIVD) e microangiopatia trombótica ^(5,6,7,17). Embora a patogênese e a incidência das complicações trombóticas ainda não tenham sido completamente elucidadas, a coagulopatia na infecção por COVID-19 está associada a indicadores de mau prognóstico e a aumento da mortalidade ^(6,7,36).

As principais alterações laboratoriais relacionadas à coagulação observadas em pacientes hospitalizados por COVID-19 foram: elevação dos níveis de D-dímero e fibrinogênio, aumento na produção de trombina, elevação do tempo de protrombina (TP), redução na fibrinólise e redução na contagem de plaquetas ⁽⁵⁾. Aumento dos marcadores inflamatórios como proteína C reativa, TNF-alfa e várias interleucinas também podem ser observados em concomitância ^(6,7).

Acredita-se que múltiplos fatores podem contribuir para o estado pró-coagulante observado na COVID-19, incluindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias, ativação de plaquetas, lesão endotelial, bem como ativação das cascatas do sistema complemento por sua via alternativa e pela via da lecitina. Além disso, acometimento respiratório é a manifestação mais comum da COVID-19, contribuindo para um estado de hipoxemia. A hipóxia é um conhecido fator de risco para trombose e pode estimular a coagulação através do aumento da viscosidade sanguínea e da via de sinalização pelo fator induzível por hipóxia-1 α (HIF-1 α) ^(5,17,52).

Embora o dano alveolar difuso associado à infiltração perivascular por células T seja o padrão histológico comum em várias pneumonias virais graves e SRAG, na COVID-19 foram também observadas características vasculares distintas, consistentes com lesão endotelial acentuada associada à presença de partículas virais intracelulares e ruptura de membranas celulares ⁽¹²⁾. Análise histológica dos vasos pulmonares em pacientes com COVID-19 demonstraram trombose difusa e microangiopatia; oclusão de pequenos vasos pulmonares e microtrombos em

capilares alveolares foram nove vezes mais prevalentes em pacientes com o SARS-CoV-2 do que em pacientes com o vírus influenza ^(11,12,53).

É importante ressaltar que a microangiopatia trombótica alveolar da COVID-19 é uma trombose primária, diferindo da trombose arterial pulmonar secundária ao tromboembolismo venoso clássico. No TEP clássico, o trombo usualmente origina-se de um êmbolo que teve sua origem nas veias profundas dos membros inferiores, decorrente de quadro de trombose venosa profunda. Por sua vez, na embolia pulmonar da COVID-19, há prevalência de trombose primária dos capilares pulmonares ^(5,12).

Anteriormente à vacinação, estudos reportavam que cerca de 23% a 30% dos pacientes com COVID-19 que foram submetidos a estudos angiotomográficos (angioTC) apresentaram achados compatíveis com TEP ⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾. Em relação ao padrão de distribuição dos trombos na angioTC, um estudo estadunidense evidenciou que a embolia pulmonar na COVID-19 foi mais comumente caracterizada em ramos segmentares (51% dos pacientes) e lobares (31%), sendo individualizada com menor frequência em artérias pulmonares centrais (13%) ⁽⁵⁶⁾. Além das alterações na hemostasia, outros fatores podem contribuir para o risco de trombose: comorbidades pré-existentes (doenças cardiovasculares, obesidade, câncer, entre outras), imobilidade, uso de ventilação mecânica, cateter venoso central, circulação extracorpórea e interação medicamentosa são exemplos ⁽⁵⁷⁾.

Diante do exposto, pode-se observar que a fisiopatologia do estado de hipercoagulação na COVID-19 é bastante complexa e multifatorial. A identificação de complicações trombóticas emerge como questão importante, uma vez que pode contribuir para otimização do manejo clínico e consequente redução da morbimortalidade pela doença.

2.6 SARS-COV-2: MANIFESTAÇÕES NO ENDOTÉLIO

O endotélio é uma monocamada celular que reveste a superfície luminal de vasos sanguíneos e linfáticos distribuídos por todo o corpo humano. Entretanto, sua função não está limitada a apenas invólucro inerte de artérias, veias e microvasos, com atuação passiva entre os elementos do sangue circulante e o tecido intersticial. O endotélio é na verdade um órgão ativo, responsável por funções de síntese e de metabolismo de diversas substâncias, atuando diretamente na resposta imune e na cascata de coagulação ^(58,59).

Interposto entre o fluxo sanguíneo ou linfático, o endotélio regula a interação entre as paredes vasculares com as células circulantes, plaquetas, fatores humorais e diversas moléculas. O endotélio controla a dilatação e contração vascular, seja em resposta a alterações do fluxo sanguíneo ou a agentes vasoativos. Também contribui para a formação e remoção de coágulos no intuito de reparar uma lesão vascular, quando necessário; ainda promove o crescimento de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e a dilatação de ramos colaterais quando o sangue deve ser desviado para áreas isquêmicas. Direciona ainda o sangue de capilares ou promove o fechamento destes quando não estão perfundidos ^(58,59).

O endotélio sadio exerce funções anticoagulante, vasodilatadora e anti-inflamatória, as quais são essenciais para regulação do tônus e a manutenção da homeostase vascular. O endotélio normal tem função protetora contra o desenvolvimento de lesões vasculares, mantendo a vasodilatação, inibindo a agregação plaquetária, a adesão leucocitária e a proliferação das células musculares lisas. Essas ações são exercidas pelos fatores relaxantes derivados do endotélio, sendo os principais: óxido nítrico, prostaciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). O endotélio pode também gerar fatores contráteis: a angiotensina II, prostaglandina H₂, a tromboxana A₂, as endotelinas e as espécies reativas de oxigênio. Em condições fisiológicas, existe equilíbrio entre a liberação desses fatores, com controle sob o tônus da musculatura lisa vascular e a produção dos agentes relaxantes sobrepujando o efeito dos agentes contráteis. No entanto, em diversas condições patológicas, ocorre desequilíbrio entre esses mediadores, com uma consequente atenuação dos efeitos vasodilatadores do endotélio, resultando em disfunção endotelial ⁽⁵⁹⁾.

Disfunção endotelial é um marcador biológico de dano cardiovascular já bem reconhecido, ocorrendo em diversas patologias, incluindo síndrome metabólica, obesidade, diabetes, entre outras. Indivíduos com dislipidemia, resistência insulínica, hipertensão e outros fatores de risco cardiovascular podem exibir disfunção do mecanismo vasodilatador endotelial. Também já é amplamente aceito que danos na função endotelial são gatilhos para o início de processo aterogênico e que disfunção endotelial persistente contribui para a progressão da aterosclerose e de eventos cardiovasculares adversos ^(59,60).

A ECA2 exibe significativa expressão nas células endoteliais. Tendo em vista que os receptores da ECA2 são utilizados como mecanismo de entrada para o vírus

SARS-CoV-2, a expressão da ECA2 nas células do endotélio vascular contribui para a fisiopatologia das alterações da microcirculação observadas na COVID-19. Estudos histológicos *post mortem* revelaram evidências de infecção direta das células endoteliais pelo SARS-CoV-2, levando a inflamação endotelial difusa, semelhante a achados previamente descritos em pacientes infectados pelo SARS-CoV^(8,12). O recrutamento de células de resposta imunológica pode resultar em disfunção endotelial generalizada associada a apoptose, seja pela agressão direta viral ao endotélio ou imunomediada. Esses aspectos podem estar relacionados ao fato de os casos graves de COVID-19 evoluírem frequentemente com coagulopatia e lesão microvascular, as quais podem acarretar disfunção de múltiplos órgãos^(8,12,61).

Disfunção endotelial já foi sugerida como processo fisiopatológico crucial em infecções virais, incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e outros coronavírus^(23,24,61). Há evidências de efeito direto de agressão endotelial na infecção pelo HIV, similar ao do SARS-CoV-2⁽²³⁾. Casarna *et al* reportaram achados sugestivos de que o vírus SARS-CoV-2 pode permanecer no tecido pulmonar por vários dias, servindo como gatilho para dano e progressão da doença⁽¹¹⁾. Adicionalmente ao impacto na imunidade, a disfunção endotelial causada pelo SARS-CoV-2 justificaria porque pacientes com comorbidades relacionadas aos vasos sanguíneos possuam maior risco de evolução para COVID-19 grave^(5,62).

A COVID-19 está associada a manifestações em múltiplos órgãos: dano pulmonar, cardíaco, encefálico, hepático, renal e vascular estão entre os mais relatados. Em casos de maior gravidade, o óbito acontece por falência de múltiplos órgãos. Estudos de autópsia revelaram quadro de endotelite linfocítica nos pulmões, coração, rins e fígado, bem como angiogênese intussusceptiva pulmonar, necrose celular e presença de microtrombos, que, nos pulmões, contribui para a piora da insuficiência respiratória. Diante da pluralidade de manifestações da doença e do acometimento endotelial sistêmico, torna-se evidente que a COVID-19 é uma doença endotelial^(14,15).

O endotélio sob o estímulo do SARS-CoV-2 apresenta uma resposta excessiva, com liberação aberrante de citocinas, culminando com um quadro de hiperinflamação. A resposta inflamatória exagerada desregula a cascata da coagulação, favorecendo o estado de hipercoagulabilidade e contribuindo para a mortalidade^(14,61,63).

2.7 SARS-COV-2: DIAGNÓSTICO POR IMAGEM

Os exames de diagnóstico por imagem têm papel fundamental na detecção, classificação e tratamento da COVID-19. No início da pandemia, considerando que as manifestações pulmonares eram mais frequentes, tanto a radiografia quanto a tomografia computadorizada (TC) de tórax foram ferramentas cruciais para melhor caracterização da doença e estratificação dos pacientes ^(2,6,7). Entretanto, ao longo da pandemia, foi observado que outros órgãos eram também afetados, sendo feitos estudos tomográficos e de ressonância magnética (RM) visando a identificar alterações extrapulmonares e complicações da doença ^(6,7,64).

A USG vem assumindo cada vez mais o seu papel de relevância no diagnóstico e manejo da COVID-19 ⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾. Apesar de sua disponibilidade, baixo custo e portabilidade (sendo muito útil em pacientes acamados e em hospitais de campanha), poucos foram os estudos envolvendo esse método em comparação à pluralidade de publicações relacionadas a TC, RM e radiografia ^(6,7).

Uma das justificativas para esse número reduzido de publicações pode estar relacionada aos importantes e rigorosos protocolos para proteção das equipes de saúde e para limpeza do equipamento ^(2,66). O fato de ser um método operador-dependente também pode contribuir para isso. Entretanto, a subutilização desse método é um equívoco, uma vez que já está consagrado como ferramenta de triagem, diagnóstico e controle de diversas patologias, além de ser considerado em alguns estudos como parte fundamental do exame físico estendido (*point of care ultrasonography*) ⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾.

Na pandemia da COVID-19, complicações decorrentes de macro- ou microtromboses venosa e arterial foram flagradas pelos diversos métodos de imagem ^(4,6,7,67). Embolia pulmonar, AVE e alterações cardíacas foram descritas em diversos estudos, principalmente através de métodos seccionais como TC e RM. Os estudos ultrassonográficos em pacientes com quadro grave foram principalmente direcionados para avaliação de complicações como TVP, pesquisa de alterações pulmonares e avaliação de possíveis complicações congestivas ^(6,7).

Embora a COVID-19 seja considerada uma doença endotelial ⁽¹⁴⁾, poucos estudos de imagem abrangeram a avaliação vascular através de um dos métodos mais utilizados: a ultrassonografia. Até o momento da elaboração desta dissertação, não há outros estudos prospectivos que caracterizem os achados vasculares e perivasculares das artérias carótidas em pacientes com COVID-19 grave.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO

Este estudo foi realizado em em três hospitais brasileiros na cidade de Recife, Pernambuco, referenciados pelo Governo Local para o atendimento de pacientes com COVID-19: Hospital das Clínicas (HC-UFPE), Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) e Hospital Barão de Lucena (HBL). Foram avaliados pacientes adultos admitidos nas UTIs e enfermarias dos hospitais participantes com diagnóstico de COVID-19.

3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos pacientes adultos com mais de 18 anos, com RT-PCR positivo para o SARS-CoV-2.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo pacientes com quadro comprovado de outras doenças inflamatórias ou infecciosas pulmonares não associados a pneumonia viral por SARS-CoV-2, bem como gestantes, pacientes com idade inferior a 18 anos e pacientes com prontuários incompletos.

3.4 DESENHO E PERÍODO DO ESTUDO

Estudo prospectivo, transversal e multicêntrico, realizado no período de julho de 2020 a fevereiro de 2021.

3.5 COLETA DE DADOS

Foram criados formulários específicos para coleta de dados (APÊNDICES A e B), onde foram registrados dados de identificação, sinais e sintomas clínicos, exames laboratoriais, exames de imagem, tratamento e desfecho.

As informações clínicas e os exames complementares foram coletados em prontuários eletrônicos e/ou prontuários físicos das respectivas instituições, bem como através do aplicativo *UTI control*.

Os pacientes foram avaliados através de estudo ultrassonográfico dirigido das artérias carótidas, realizado à beira do leito, sendo selecionados por conveniência.

3.5.1 Ultrassonografia

Todas as ultrassonografias foram realizadas à beira do leito através de aparelhos GE Logic e, com transdutores lineares 12L-RS da General Electric®, por três médicas radiologistas (com 4-10 anos de experiência), sendo os pacientes examinados por pelo menos duas radiologistas no momento do exame. As médicas estavam cientes da positividade do RT-PCR para SARS-CoV-2 dos participantes avaliados, porém cegas em relação aos demais dados clínicos e laboratoriais.

O protocolo de USG das carótidas incluiu a avaliação da artéria carótida comum, da bifurcação carotídea e de pelo menos 2 cm das carótidas internas e externas. A avaliação desses vasos foi realizada através de escala de cinzas e estudo color Doppler, sendo feitas varreduras à procura das seguintes alterações: espessamento do complexo mediointimal, irregularidade da superfície endoluminal, placas e suas características, bem como trombos.

Os dados ultrassonográficos foram armazenados em dispositivos eletrônicos locais dos pesquisadores e avaliados posteriormente em ambiente clinicorradiológico com os demais membros da equipe de pesquisa. As imagens foram revisadas pelas três médicas radiologistas e os achados só foram incluídos no estudo quando observados comumente por pelo menos duas destas três pesquisadoras. Todas as discrepâncias em relação à interpretação inicial dos dados foram resolvidas em consenso, em consulta com médica especialista em ecografia vascular, com médico cirurgião especialista em angiologia e com médica cardiologista.

Tendo em vista que alguns aspectos do estudo ultrassonográfico podem ser subjetivos, critérios específicos foram utilizados durante a realização da USG e a revisão das imagens visando à redução de observações falso-positivas, levando ainda em consideração que a população estudada tinha variação de idade, predominando idade < 65 anos: (a) EMI foi mensurada na parede posterior da carótida comum em segmento livre de placa, sendo definida como a distância entre duas linhas hiperecóticas correspondentes às interfaces lúmen-íntima e média-adventícia da parede arterial^(16,17), e foi considerada espessada se o valor médio entre três aferições manuais fosse maior que o percentil 75 da população brasileira, de acordo com o estudo ELSA-Brasil⁽¹⁶⁻¹⁸⁾; (b) a irregularidade da superfície endoluminal carotídea foi avaliada na escala de cinza, comparando-se os achados nos eixos longitudinais e axiais para evitar possíveis artefatos ultrassonográficos; (c) placa carotídea ateromatosa foi definida como estrutura focal estendendo-se no mínimo 0,5 mm para

a luz do vaso, e/ou medindo mais do que 50% do valor da medida da EMI adjacente, e/ou ainda uma medida de EMI maior que 1,5 mm^(16,19); (d) as placas carotídeas foram divididas em três subgrupos e caracterizadas como hipoeecóicas quando sua ecogenicidade era similar à do sangue, isoecóicas quando ecogenicidade similar a do músculo esternocleidomastóideo e hiperecóicas quando mais "brancas" que o músculo adjacente. Este trabalho incluiu, neste último subgrupo, também as placas hiperecóicas produtoras de sombras acústicas posteriores, correspondendo a calcificações.

Controle ecográfico poderia ser realizado em pacientes que apresentassem indicação clínica.

3.5.2 *Dados clínicos, laboratoriais e demográficos*

Após revisão dos dados de imagem, foram coletados dados clínicos, laboratoriais e demográficos em prontuários eletrônicos e em prontuários físicos, de forma cega aos achados de imagem, sendo posteriormente revisados pelas três radiologistas.

As seguintes comorbidades foram avaliadas: hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), doença arterial coronariana (DAC), pneumopatias crônicas (DPOC/asma), história de acidente vascular encefálico (AVE) ou trombose venosa profunda (TVP), doença hepática crônica, doença linfoproliferativa, outras neoplasias, HIV positivo ou SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida), doenças autoimunes e história de nefropatia crônica ou lesão renal aguda no momento da admissão. Lesão renal foi definida quando os valores de creatinina estavam acima dos valores de referência (1,2 mg/dl) ou quando o paciente já possuía o diagnóstico clínico de doença renal.

Marcadores de função renal e hemograma completo (com contagem diferencial de leucócitos, linfócitos, hemácias e plaquetas) fizeram parte da coleta.

Foram coletados dados sobre medidas de suporte: necessidade de suporte de hemodiálise, de ECMO (Circulação Extracorpórea) e de ventilação mecânica. Também foram avaliados os desfechos dos pacientes durante a hospitalização, sendo categorizados como alta hospitalar ou óbito por COVID-19.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados demográficos, clínicos, laboratoriais e de imagem dos pacientes foram comparados entre si utilizando-se testes estatísticos, como os testes Qui-quadrado de independência de Pearson e teste de Mann-Whitney.

Modelos de regressão logística foram utilizados para avaliar conjuntamente as variáveis de parâmetros de imagem (EMI, placas, irregularidade da superfície endoluminal) e dados clínicos (idade, sexo, internamento em UTI e comorbidades) para explicar o desfecho. Utilizou-se $p < 0,05$ como índice de significância. Todas as análises estatísticas foram avaliadas utilizando software SPSS (versão 20.0).

3.7 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O presente estudo faz parte do projeto de pesquisa "Impacto da obesidade na evolução da COVID-19 grave", o qual foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, CAAE: 34736620.6.0000.8807 (ANEXO D). Antes de serem submetidos à USG, os pacientes que se encontravam conscientes e orientados receberam explicações sobre a pesquisa, sendo lido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (APÊNDICE C), solicitando-se a confirmação por áudio, com nome ditado pelo paciente e pergunta sobre se aceitava ou não participar da pesquisa. Após aceitarem, esses pacientes eram submetidos ao estudo ultrassonográfico. Pacientes entubados ou inconscientes foram submetidos ao estudo após autorização de familiar responsável, via áudio através de mídia social, tendo em vista o cenário de pandemia COVID-19, onde foram necessárias medidas para a prevenção de contaminação, com quarentena e restrição de acesso dos familiares dos doentes aos serviços de saúde, bem como tendo em vista preservar a integridade e assistência dos participantes e dos pesquisadores.

4 RESULTADOS

Duzentos e dez pacientes com RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 foram admitidos nos setores avaliados dos três hospitais, entre os meses de julho de 2020 a fevereiro de 2021, dos quais 166 (79%) foram admitidos na UTI. Entre esses pacientes, 122 (58%) eram homens, com idade média de 60 anos +/-17 anos (variação, 19-99 anos). Dentre estes, 62 pacientes foram selecionados, porém 9 foram excluídos (1 paciente não-COVID e 8 pacientes sem acesso ecográfico devido a curativos cervicais, equipamento de monitoração e instabilidade clínica). Este estudo incluiu 53 pacientes, os quais foram submetidos a USG das carótidas. As características dos participantes estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1: Características demográficas e clínicas dos pacientes.

Características	UTI	Não-UTI	<i>P</i>
No. de pacientes	43	10	
Idade, média ± DP	59 ± 15	61 ± 15	.90 (1)
Sexo			
Masculino	25 (82%)	6 (18%)	
Feminino	18 (81%)	4 (19%)	>.99 (2)
Admissão ao desfecho (dias), média ± DP	22.8 ± 15.1	27.7 ± 22.4	.65 (1)
Comorbidades			
Hipertensão	28 (65%)	6 (60%)	>.99 (2)
Diabetes	26 (60%)	5 (50%)	.71 (2)
Asma/DPOC	9 (21%)	2 (20%)	>.99 (2)
Doença coronariana	4 (9%)	1 (10%)	>.99 (2)
História de neoplasia	9 (21%)	2 (20%)	>.99 (2)
Doença autoimune	1 (2%)	0 (0%)	>.99 (2)
Nefropatia	22(51%)	2 (20%)	.09 (2)
HIV+	1 (2%)	2 (20%)	.08 (2)
Complicações trombóticas			
História de AVE	4 (9%)	0 (0%)	>.99 (2)
AVE no internamento	2 (5%)	0 (0%)	>.99 (2)
TVP	17 (50%)	2 (20%)	.41 (2)
Uso de ventilação mecânica	33 (77%)	2 (22%)	.003 (2)
Desfecho			
Alta hospitalar	19 (44%)	8 (80%)	
Óbito	24 (56%)	2 (20%)	.07 (2)

(1) teste de Mann-Whitney (2) Teste exato de Fisher

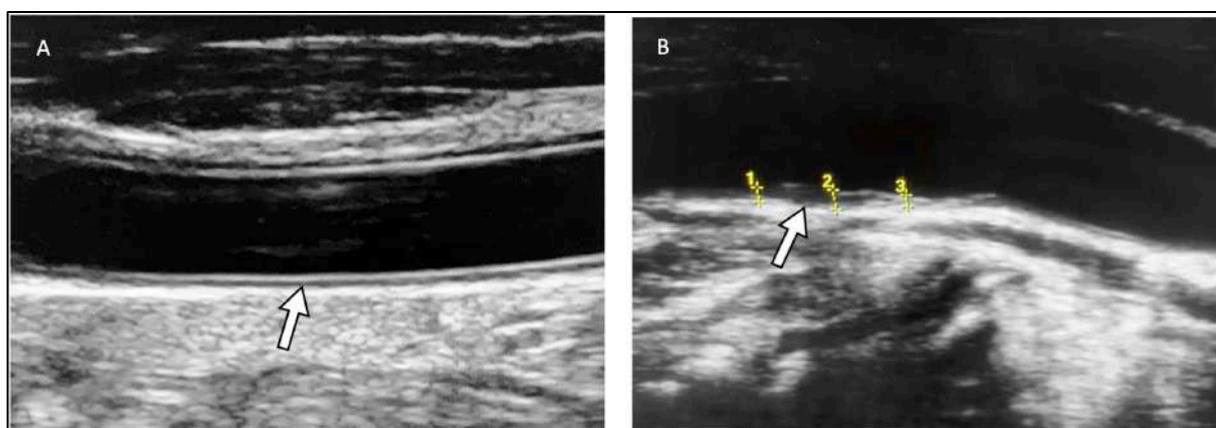
Ultrassom das carótidas foi realizado em um período médio de 8,4 dias (DP=8) em relação à admissão no respectivo setor. A média de idade destes pacientes foi de 60 anos (variação, 24-89 anos), dos quais 58% eram homens e 81% estavam internados na UTI.

Em 45 (85%) pacientes, a USG carotídea revelou alterações. Os achados ultrassonográficos mais comuns foram: espessamento mediointimal (58%), irregularidade difusa da superfície endoluminal (55%) e presença de placas (57%). Controle ecográfico foi realizado em nove pacientes por indicação clínica.

Espessamento mediointimal foi observado em 31 (58%) pacientes. O percentual de pacientes que foram a óbito foi maior naqueles com EMI aumentada (61% x 32%, respectivamente; $p=0,03$). A espessura média foi de 0,82 mm (variação: 0,5-2,1 mm).

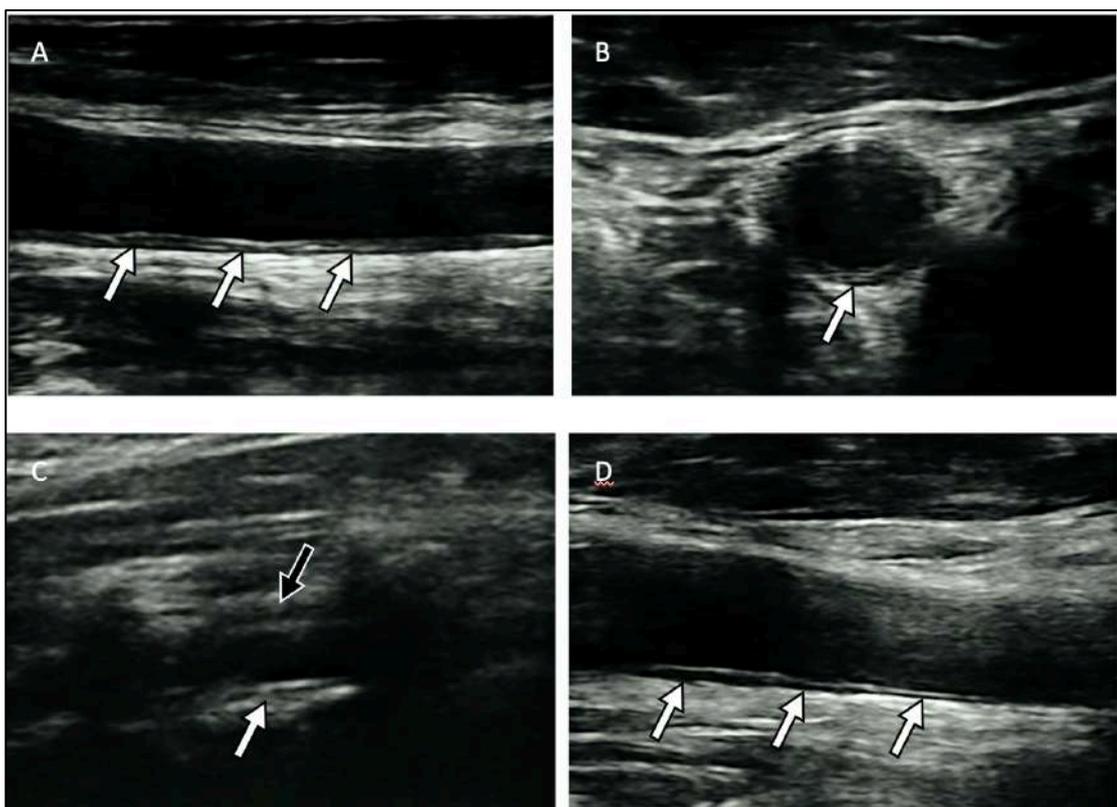
Um paciente admitido na enfermaria que se encontrava com ultrassonografia inicialmente normal (EMI=0,5 mm) foi submetido a controle ecográfico devido a piora do quadro clínico. O controle evolutivo demonstrou surgimento de espessamento mediointimal (EMI=1,2 mm) e de irregularidade da superfície endoluminal (Figura 1). Após piora do quadro clínico, ele foi transferido para a UTI, evoluindo a óbito.

Figura 1 – Ultrassonografia Doppler de carótidas em homem de 52 anos, internado com COVID-19 grave e HIV positivo. Em (A), imagem em escala de cinza sem evidências de alterações ecográficas da EMI (seta). Em (B), estudo controle por piora clínica, realizado doze dias após o primeiro exame, observando-se EMI espessada e irregularidade da superfície endoluminal (seta).



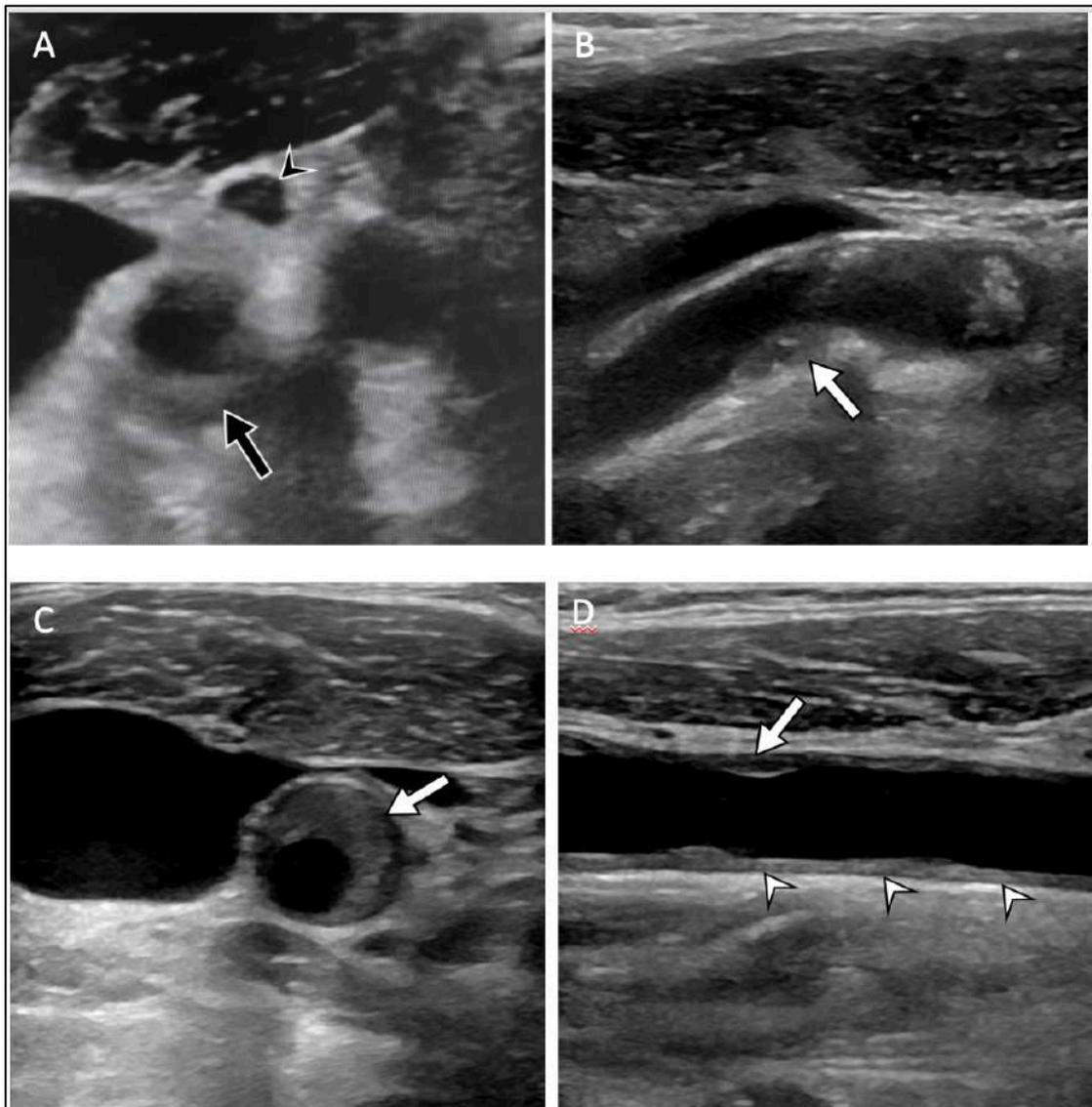
Outro paciente internado na UTI foi submetido a USG no terceiro dia de internamento, observando-se edema perivascular e espessamento mediointimal (EMI=1,03 mm); no controle ultrassonográfico, realizado após 7 dias (no décimo dia de tratamento), foi observada redução do edema perivascular e do espessamento mediointimal, coincidindo com melhora do quadro clínico (Figura 2).

Figura 2 – Homem de 50 anos com COVID-19. Imagens ultrassonográficas em escala de cinza mostram carótida comum espessada e irregular (setas brancas) no eixo longitudinal (**A**) e no eixo transverso (**B**) no terceiro dia da doença. Em (**C**), a artéria vertebral também se encontra espessada difusamente (seta branca) e com sinais de infiltração perivascular (seta preta). Em (**D**), observa-se leve redução das alterações inflamatórias perivascular no décimo dia da doença, coincidindo com melhora clínica.



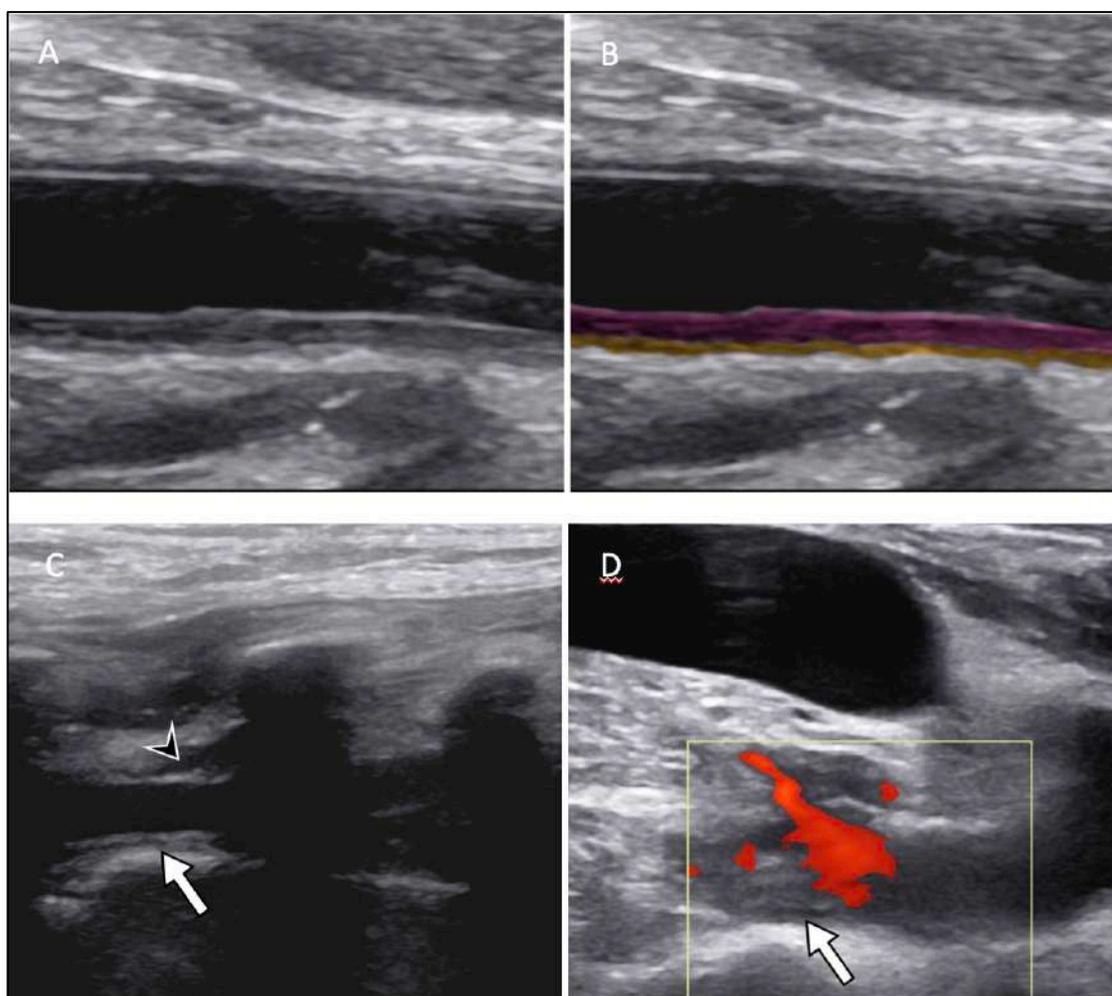
Em quatro pacientes, concomitantemente ao espessamento mediointimal, foram evidenciados sinais de infiltração perivascular determinando um aspecto "nebuloso" na gordura adjacente ao vaso. Um dos pacientes apresentou infiltrado perivascular excêntrico em proximidade à bifurcação carotídea, acompanhada por espessamento mediointimal difuso, estreitamento do lúmen e placas iso e hipoecóicas, aspecto usualmente encontrado em *Transient perivascular inflammation of the carotid artery (TIPIIC) syndrome* (Figura 3).

Figura 3 – Imagem em escala de cinza de ultrassonografia carotídea em homem de 67 anos com COVID-19. Em **(A)**, observa-se infiltrado perivascular próximo à bifurcação carotídea, mais proeminente em planos circunjacentes à carótida interna (seta preta). Há, ainda, pequeno linfonodo com características reacionais (cabeça de seta preta). Em **(B)**, **(C)** e **(D)**, presença de placas de diferentes dimensões e ecogenicidades (setas brancas), predominantemente hipo- e isoecóicas, estendendo-se desde carótida interna e bifurcação carotídea **(B)** até carótida comum **(D)**, a qual exibe espessamento mediointimal difuso e irregular (cabeça de seta branca).



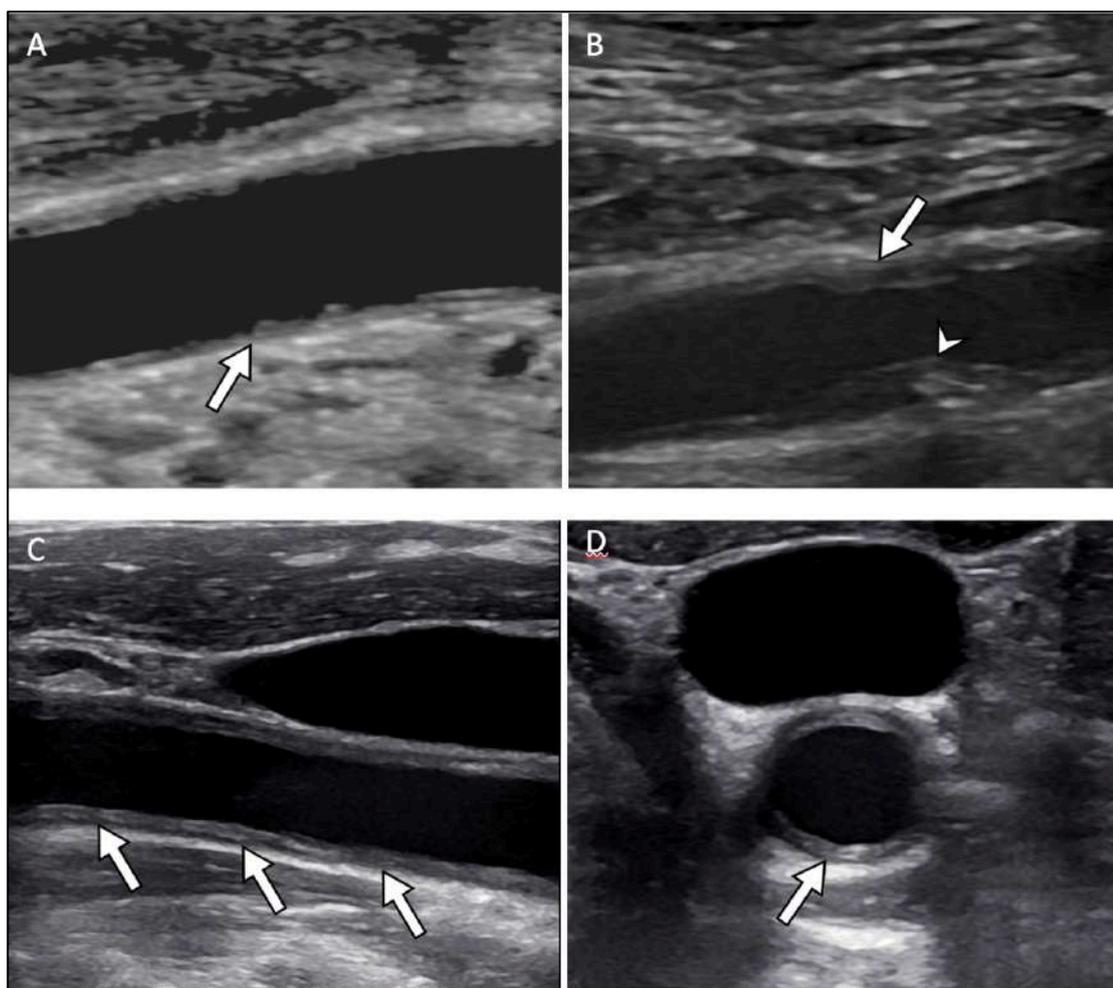
Foi realizado estudo adicional das artérias vertebrais em três participantes, sendo evidenciado espessamento parietal difuso desses vasos e das carótidas, bem como sinais de inflamação perivascular (Figura 4).

Figura 4 – Mulher de 50 anos com COVID-19. Na imagem em escala de cinza de ultrassom **(A)** e na sua respectiva imagem anotada **(B)**, observa-se carótida comum com espessamento difuso mediointimal destacado em rosa e infiltração perivascular destacada em laranja. Em **(C)**, a artéria vertebral está espessada (seta branca) e há sinais de infiltração perivascular (cabeça de seta preta). Ao estudo Doppler colorido **(D)**, foi flagrado trombo na artéria subclávia (seta).



Ultrassonografia evidenciou irregularidade difusa da superfície endoluminal em 29 (55%) pacientes (Figura 5). Desses, 45% (13 de 29) foram a óbito.

Figura 5 – Ultrassonografia de carótidas em três pacientes hospitalizados por COVID-19. Em **(A)**, observa-se acentuada irregularidade difusa da superfície endoluminal (seta) em paciente de 59 anos. Em **(B)**, irregularidade da superfície endoluminal (seta) acompanhada por placa de contorno irregular (cabeça de seta) em mulher de 64 anos. **(C)** e **(D)**: Espessamento mediointimal irregular em paciente de 72 anos nos eixos longitudinal e transverso.



Foram observadas placas carotídeas em 57% (30 de 53). Nove pacientes apresentaram placas hipoecóicas na carótida direita e oito na carótida esquerda; três pacientes apresentavam placas isoecóicas à direita e um apresentava à esquerda. Placas hiperecóicas/calcificadas foram observadas na carótida direita de dez pacientes e na carótida esquerda de 16 pacientes. É importante salientar que um mesmo paciente poderia apresentar mais de um tipo de placa.

Alterações ecográficas relacionadas à coagulação foram também identificadas, incluindo trombose arterial da subclávia em um paciente (Figura 4D), trombo em tronco venoso braquiocefálico em um paciente, trombo em veia jugular em outro paciente, trombos em cateteres venosos centrais em dois pacientes.

Ventilação mecânica foi necessária em 66% (35 de 53) dos pacientes, dos quais 60% (21 de 35) eram homens. Vinte e dois pacientes foram submetidos a hemodiálise, dos quais 14 (64%) eram homens. Quanto ao desfecho, 26 (49%) pacientes faleceram, sendo que 16 (61%) eram do sexo masculino.

Análises conjuntas foram ainda ajustadas através de modelo de regressão logística, estimando que a probabilidade de óbito foi maior em pacientes com EMI aumentada (*odds ratio* [OR]: 4,1; IC 95%: 1,1; 15,8; $p=0.04$) e histórico de nefropatia crônica ou lesão renal aguda na admissão hospitalar (OR: 8,9; IC 95%: 2,4; 33,7; $p=0,001$). Pacientes com essa associação tiveram 85% de chance de evoluir a óbito. Sem esses fatores, a chance de óbito foi estimada em 13%.

Os principais resultados e suas associações com o desfecho encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2: Variáveis clinicorradiológicas e suas associações com desfecho.

Variáveis		Desfecho		Total	P
		Alta	Óbito		
Sexo	Homem	12 (55)	10 (45)	22 (100)	.19*
	Mulher	15 (48)	16 (52)	31 (100)	
Idade, média (DP)		57 (17)	63 (11)	60 (15)	.33**
Setor de Hospitalização	UTI	19 (44)	24 (56)	43 (100)	.04*
	Enfermaria	8 (80)	2 (20)	10 (100)	
Dias no Hospital, média (DP)		24.4 (20.4)	22.8 (11.4)	23.6 (16.3)	.33**
Espessamento Mediointimal	Sim	12 (39)	19 (61)	31 (100)	.03*
	Não	15 (68)	7 (32)	22 (100)	
Irregularidade Subendotelial	Sim	16 (55)	13 (45)	29 (100)	.73*
	Não	9 (50)	9 (50)	18 (100)	
Presença de placa	Sim	16 (53)	14 (47)	30 (100)	.69
	Não	11 (48)	12 (52)	23 (100)	

Valores em parênteses referem-se a porcentagens.

*p-valor usando teste qui-quadrado de independência de Pearson.

**p-valor usando o teste de the Mann-Whitney.

5 DISCUSSÃO

Em pacientes com COVID-19 grave, a USG de carótidas mostrou que o espessamento mediointimal foi o achado mais comum. Adicionalmente, essa alteração esteve associada a um aumento do risco de morte nesses pacientes, principalmente naqueles com nefropatia. Dos pacientes com COVID-19 grave que apresentavam lesão renal e espessamento mediointimal, oitenta e cinco por cento foram a óbito neste estudo.

Foi ainda observado o surgimento de espessamento mediointimal após piora clínica em um paciente com USG prévia normal (Figura 1), assim como a redução dos achados patológicos carotídeos em outro paciente no seu estudo-controle (Figura 2) após melhora clínica. Esses resultados parecem refletir o impacto clínico da COVID-19 e podem servir de marcador prognóstico da doença.

Embora a natureza desses achados não esteja ainda bem definida, algumas hipóteses podem ser consideradas. Possíveis explicações incluiriam infecção direta pelo vírus, tendo em vista que a expressão da ECA2 é abundante no endotélio vascular, com estudos de autópsia evidenciando efeito inflamatório direto do SARS-CoV-2 ⁽⁸⁾, além de lesão endotelial associada à presença de partículas virais intracelulares e ruptura de membranas celulares ⁽¹²⁾. Essa viremia endotelial pode ainda ser um possível fator contribuinte para o pior prognóstico em pacientes com nefropatia e EMI aumentada, evidenciado na nossa pesquisa, em associação à desregulação do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona e da resposta imune ⁽²⁰⁾.

Espessamento mediointimal também é visto em processos inflamatórios como TIPIC síndrome ^(21,22), vasculites e em outros processos infecciosos, incluindo HIV e outros coronavírus ^(17,23). O estado hiperinflamatório relacionado à “tempestade de citocinas” pode ter vínculo a esse achado em pacientes com COVID-19 grave. Esse mecanismo inflamatório pode ajudar a justificar o fato de o espessamento mediointimal ter surgido em um paciente que se encontrava previamente sem essa alteração; também pode estar associado à melhora clinicorradiológica no paciente que sofreu redução do processo inflamatório perivascular após manejo terapêutico.

Sinais de infiltração perivascular já foram relatados em vasculites e na TIPIC síndrome, sendo aventado que esses achados estejam associados a inflamação ou a expressão de processo autoimune ⁽²¹⁾.

Foram observadas ainda irregularidade da superfície endoluminal e placas. Irregularidade da superfície endoluminal na USG pode estar associada à endotelite

decorrente do vírus ou a possíveis fatores pró-aterogênicos. A presença de placas hipoecóicas, principalmente quando acompanhadas por infiltração perivascular e espessamento mediointimal difuso, é achado usualmente encontrado em vasculites (21,22,24,25). Essas placas hipoecóicas podem também estar relacionadas a ativação da função endotelial pelo SARS-CoV-2 no sentido de promoção de aterosclerose, bem como da participação do processo inflamatório e da contribuição da hematopoiese pós-estímulos estressores, favorecendo a aterogênese (26).

Fatores de risco cardiovasculares tradicionais estão associados ao aumento da EMI e a outras alterações patológicas parietais da carótida (16). Desse modo, surgem os seguintes questionamentos: o espessamento mediointimal na COVID-19 é um achado prévio, transitório ou permanente? Esse espessamento acarretará um risco cardiovascular adicional a esses pacientes? Tendo em vista que nosso estudo foi realizado entre a primeira e segunda onda, um período de grande morbimortalidade hospitalar no Brasil (27), poucos pacientes tiveram condições clínicas de serem submetidos a controle ultrassonográfico. Desse modo, novos estudos são necessários para um melhor esclarecimento desses achados.

Os achados de imagem relacionados a trombose neste estudo corroboram que pacientes hospitalizados com COVID-19 estão frequentemente em estado de hipercoagulação. Estudos prévios com análise histológica dos vasos pulmonares em pacientes com COVID-19 já demonstraram achados como trombose difusa, microangiopatia, oclusão de pequenos vasos pulmonares e microtrombos em capilares alveolares (11,12,29,30).

Em relação à prática clínica, nosso estudo sugere que a avaliação das carótidas pode ajudar no manejo de pacientes com COVID-19 grave e na identificação de possíveis complicações. Aumento da EMI pode ser um preditor de risco para pior evolução da doença, especialmente em associação com nefropatia prévia ou lesão renal aguda. Há ainda a possibilidade de a USG carotídea auxiliar na avaliação de resposta terapêutica através de exames de rastreamento e seguimento.

Este estudo apresentou limitações. As mais importantes foram o tamanho da amostra e o desenho do estudo que não permite estabelecer relação de causa-efeito. Deve ser considerado que realizar USG em pacientes graves com SARS-CoV-2 requer tempo para paramentação e desparamentação, além de utilização de protocolos rigorosos para redução da exposição da equipe. Houve ainda dificuldade de conseguir acesso ecográfico adequado devido a curativos, aparelhos de

monitorização, instabilidade clínica e posição prona. Alguns dados não estavam presentes nos prontuários, o que limitou a correlação clinicorradiológica. Também não houve um grupo controle, uma vez que a pandemia obrigou os serviços de saúde a se adaptarem às novas demandas de saúde pública, causando queda no número de hospitalizações por outras patologias. Apesar dessas limitações, foi possível documentar e avaliar os achados ultrassonográficos de carótidas em pacientes com COVID-19 grave.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo relatou alterações vasculares e perivasculares através da ultrassonografia de carótidas em pacientes com COVID-19 grave. Aumento da EMI, irregularidade da superfície endoluminal, infiltrado perivascular e placas carotídeas foram os principais achados ultrassonográficos.

Espessamento mediointimal foi o achado mais comum. Observou-se uma maior mortalidade nos pacientes que apresentavam essa alteração.

A partir da análise dos dados, também foi observado que o aumento da EMI associado a lesão renal pode aumentar o risco de morte nos pacientes com COVID-19 grave.

Evidenciou-se, ainda, o surgimento de espessamento mediointimal em um paciente que se encontrava previamente sem essa alteração, após piora do seu quadro clínico; também houve sinais de redução do processo inflamatório vascular em outro paciente, após ultrapassar período de maior atividade inflamatória da doença e pós-manejo terapêutico.

Assim, este estudo prospectivo observou alterações vasculares e perivasculares em pacientes com COVID-19 grave, com associações relacionadas a mortalidade. Estudos subsequentes avaliando o endotélio nas diferentes fases da COVID-19, incluindo pacientes com doença leve e assintomáticos, podem trazer ainda mais informação e são recomendados.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. World Health Organization Web site: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Accessed February 05, 2022.
2. Meirelles GSP. COVID-19: a brief update for radiologists. *Radiol Bras*. 2020;53:320-8.
3. Alves VPV, Altoé A, Veloso V et al. Computed tomography features of cerebrovascular complications in intensive care unit patients with severe COVID-19. *Radiol Bras*. 2021;54:283–288.
4. Behzad S, Aghaghazvini L, Radmard AR, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19: Radiologic and clinical overview. *Clin Imaging*. 2020;66:35–41.
5. Brandão SCS, Godoi ETAM, Ramos J de OX, et al. COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. *J Vasc Bras*. 2020;19.
6. Revzin MV, Raza S, Warshawsky R, et al. Multisystem imaging manifestations of covid-19, part 1: viral pathogenesis and pulmonary and vascular system complications. *Radiographics*. 2020;40:1574–99.
7. Revzin MV, Raza S, Srivastava NC, et al. Multisystem imaging manifestations of COVID-19, part 2: from cardiac complications to pediatric manifestations. *Radiographics*. 2020;40:1866-92.
8. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395:1417-8.
9. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271-280.e8.
10. Zou X, Chen K, Zou J, et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*. 2020;14:185-92.
11. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20:1135–40.
12. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383:120-8.
13. Rovas A, Osiaevi I, Buscher K, et al. Microvascular dysfunction in COVID-19: the MYSTIC study. *Angiogenesis*. 2021;24:145-57.
14. Libby P, Lüscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J*. 2020 21;41:3038-44.
15. Brandão SCS, Godoi ETAM, Cordeiro LH de O, et al. COVID-19 and obesity: the meeting of two pandemics. *Arch Endocrinol Metab*. 2020;65:3-13.
16. Zhang Y et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2020.
17. Bikdeli B et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of*

- Cardiology. 2020.
18. Freire CMV, de Alcantara ML, dos Santos SN, et al. Recomendação para a quantificação pelo ultrassom da doença aterosclerótica das artérias carótidas e vertebrais: grupo de trabalho do departamento de imagem cardiovascular da sociedade brasileira de cardiologia – DIC - SBC. *Arq Bras Cardiol - Imagem Cardiovasc.* 2015;28:1–64.
 19. Simon A et al. Intima-media thickness: A new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *Journal of Hypertension.* 2002.
 20. Bots ML et al. Intima-Media Thickness Measurements in Intervention Studies: Design Options, Progression Rates, and Sample Size Considerations: A Point of View. *Stroke.* 2003.
 21. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006): An update on behalf of the advisory board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis.*
 22. Santos IS, Bittencourt MS, Oliveira IRS, et al. Carotid intima-media thickness value distributions in The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Atherosclerosis.* 2014;237:227–35.
 23. Godoi ETAM, Brandt CT, Lacerda HR, et al. Intima-media thickness in the carotid and femoral arteries for detection of arteriosclerosis in human immunodeficiency virus-positive individuals. *Arq Bras Cardiol.* 2017;108:3-11.
 24. Gavriilaki E, Anyfanti P, Gavriilaki M, et al. Endothelial dysfunction in COVID-19: lessons learned from coronaviruses. *Current Hypertension Reports.* 2020;22:1-12.
 - 2007;23:75-80.
 25. Lecler A, Obadia M, Savatovsky J, et al. TIPIC syndrome: Beyond the myth of carotidynia, a new distinct unclassified entity. *Am J Neuroradiol.* 2017;38:1391-8.
 26. Venetis E, Konopnicki D, Jissendi Tchofo P. Multimodal imaging features of transient perivascular inflammation of the carotid artery (TIPIC) syndrome in a patient with Covid-19. *Radiol Case Rep (Preprint).* 2022 Mar;17(3):902-906.
 27. Schmidt WA. Role of ultrasound in the understanding and management of vasculitis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease.* 2014;6:39-47.
 28. Ulus S, Aksoy Ozcan U, Arslan A, et al. Imaging spectrum of TIPIC Syndrome: validation of a new entity with vessel wall imaging. *Clin Neuroradiol.* 2020;30:145-57.
 29. Mahajan A, Hirsch JA. Novel Coronavirus: What Neuroradiologists as Citizens of the World Need to Know. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2020;41(4):552-554.
 30. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004 Jun;203(2):631-7.
 31. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res.* 2011;81:85-164.
 32. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the `Cytokine

- Storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020 Jun;80(6):607-613.
33. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733.
 34. Kooraki S, Hosseiny M, Myers L, Gholamrezanezhad A. Coronavirus (COVID-19) Outbreak: What the Department of Radiology Should Know. *J Am Coll Radiol.* 2020;17(4):447-451.
 35. Wertheim JO, Chu DK, Peiris JS, Kosakovsky Pond SL, Poon LL. A case for the ancient origin of coronaviruses. *J Virol.* 2013;87(12):7039-7045. doi:10.1128/JVI.03273-12.
 36. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. Addendum: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;588(7836):E6.
 37. Kolifarhood G, Aghaali M, Mozafar Saadati H, et al. Epidemiological and Clinical Aspects of COVID-19; a Narrative Review. *Arch Acad Emerg Med.* 2020;8(1):e41.
 38. Baek WK, Sohn SY, Mahgoub A, Hage R. A Comprehensive Review of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Cureus.* 2020;12(5):e7943. Published 2020 May 3. doi:10.7759/cureus.7943
 39. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020;382(16):1564-1567.
 40. Glowacka I, Bertram S, Müller MA, Allen P, Soilleux E, Pfefferle S, et al. Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response. *J Virol.* 2011;85(9):4122-34.
 41. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res.* 2020;7(1):11.
 42. Banu N, Panikar SS, Leal LR, Leal AR. Protective role of ACE2 and its downregulation in SARS-CoV-2 infection leading to Macrophage Activation Syndrome: Therapeutic implications. *Life Sci.* 2020;256:117905.
 43. Lutz C, Maher L, Lee C, Kang W. COVID-19 preclinical models: human angiotensin-converting enzyme 2 transgenic mice. *Hum Genomics.* 2020;14(1):20.
 44. Patel VB, Mori J, McLean BA, et al. ACE2 Deficiency Worsens Epicardial Adipose Tissue Inflammation and Cardiac Dysfunction in Response to Diet-Induced Obesity. *Diabetes.* 2016;65(1):85-95.
 45. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmun Rev.* 2020;19(6):102537.
 46. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708-1720.
 47. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality

- due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):846-848.
48. Alhazzani W, Møller MH, Arabi YM, Loeb M, Gong MN, Fan E, et al. Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Med.* 2020;46(5):854-887.
 49. Hirano T, Murakami M. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. *Immunity.* 2020;52(5):731-733.
 50. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(6):363-374.
 51. Oudkerk M, Büller HR, Kuijpers D, van Es N, Oudkerk SF, McLoud T, et al. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Thromboembolic Complications in COVID-19: Report of the National Institute for Public Health of the Netherlands. *Radiology.* 2020;297(1):E216-E222.
 52. Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res.* 2020;220:1-13.
 53. Liu Q, Wang RS, Qu GQ, Wang YY, Liu P, Zhu YZ, et al. Gross examination report of a COVID-19 death autopsy. *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2020;36(1):21-23.
 54. Grillet F, Behr J, Calame P, Aubry S, Delabrousse E. Acute Pulmonary Embolism Associated with COVID-19 Pneumonia Detected with Pulmonary CT Angiography. *Radiology.* 2020;296(3):E186-E188.
 55. Léonard-Lorant I, Delabranche X, Séverac F, Helms J, Pautet C, Collange O, et al. Acute Pulmonary Embolism in Patients with COVID-19 at CT Angiography and Relationship to d-Dimer Levels. *Radiology.* 2020;296(3):E189-E191.
 56. Poyiadji N, Cormier P, Patel PY, Hadied MO, Bhargava P, Khanna K, et al. Acute Pulmonary Embolism and COVID-19. *Radiology.* 2020;297(3):E335-E338.
 57. Driggin E, Madhavan MV, Bikdeli B, Chuich T, Laracy J, Biondi-Zoccai G, et al. Cardiovascular Considerations for Patients, Health Care Workers, and Health Systems During the COVID-19 Pandemic. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75(18):2352-2371.
 58. Cooke JP. Endotheliopathy of Obesity. *Circulation.* 2020;142(4):380-383.
 59. Carvalho MHC, Nigro D, Lemos VS, Passaglia R de CAT, Fortes ZB. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. *Revista Brasileira de Hipertensão.* 2001;876-88.
 60. Matsuzawa Y, Kwon TG, Lennon RJ, Lerman LO, Lerman A. Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(11):e002270.
 61. Iwasaki M, Saito J, Zhao H, Sakamoto A, Hirota K, Ma D. Inflammation Triggered by SARS-CoV-2 and ACE2 Augment Drives Multiple Organ Failure of Severe COVID-19: Molecular Mechanisms and Implications. *Inflammation.* 2021;44(1):13-34.
 61. Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, Jong E, Gerdes VE, Meijers JC, et al. Review: Viral infections and mechanisms of thrombosis

- and bleeding. *J Med Virol*. 2012;84(10):1680-96.
62. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW; et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020;323(20):2052-2059.
 63. Teuwen LA, Geldhof V, Pasut A, Carmeliet P. COVID-19: the vasculature unleashed. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(7):389-391.
 64. Horvat N, Pinto PVA, Araujo-Filho JAB, Santos JMMM, Dias AB, Miranda JA, et al. Abdominal gastrointestinal imaging findings on computed tomography in patients with COVID-19 and correlation with clinical outcomes. *Eur J Radiol Open*. 2021;8:100326.
 65. Meshaka R, Whittam FC, Guessoum M, Eleti S, Shelmerdine SC, Arthurs OJ, et al. Abdominal US in Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Associated with SARS-CoV-2 (PIMS-TS). *Radiology*. 2022;303(1):173-181.
 66. Francisco Neto MJ, de Queiroz MRG. Rational use of chest ultrasound to confront COVID-19. *Radiol Bras*. 2020;53(5):IX-X.
 67. Bhayana R, Som A, Li MD, Carey DE, Anderson MA, Blake MA, et al. Abdominal Imaging Findings in COVID-19: Preliminary Observations. *Radiology*. 2020;297(1):E207-E215.
 68. Moore CL, Copel JA. Point-of-care ultrasonography. *N Engl J Med*. 2011;364(8):749-57.
 69. Bagheri-Hariri S, Yekesadat M, Farahmand S, Arbab M, Sedaghat M, Shahlafar N, et al. The impact of using RUSH protocol for diagnosing the type of unknown shock in the emergency department. *Emerg Radiol*. 2015;22(5):517-20.
 70. Perera P, Mailhot T, Riley D, Mandavia D. The RUSH exam: Rapid Ultrasound in SHock in the evaluation of the critically ill. *Emerg Med Clin North Am*. 2010;28(1):29-56, vii.

APÊNDICE A – FICHA DE COLETA DE DADOS

APENDICE 1 - FICHA DE PESQUISA

Nome: _____ Sexo: _____
 Data de Nascimento: _____ Idade: _____ Hospital: _____
 Registro: _____ Leito UTI: _____ Leito enfermaria: _____
 Data de admissão hospitalar: _____ () Enfermaria () UTI
 Se enfermaria, determinar se necessitou de UTI a posteriori e quando: _____
 Acrescentar: alta UTI data _____ Alta hospitalar _____
 Morte: _____ 30 dias da doença o que aconteceu? _____

Comorbidades:

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Idoso > 60* | <input type="checkbox"/> Uso de imunobiológicos |
| <input type="checkbox"/> Obesidade IMC > 30 | <input type="checkbox"/> História de transplante |
| <input type="checkbox"/> Obesidade IMC > 35 | <input type="checkbox"/> Cardiopatia prévia (coronariopatia, insuficiência cardíaca) |
| <input type="checkbox"/> Obesidade IMC > 40 | <input type="checkbox"/> Infecção por HIV com CD4 estimado < 350 ou outras imunodeficiências |
| <input type="checkbox"/> Diabetes Mellitus | <input type="checkbox"/> Neoplasia hematológica com ou sem QT |
| <input type="checkbox"/> Pneumopatias crônicas (DPOC/Asma/Apneia do sono) | <input type="checkbox"/> Outras neoplasias |
| <input type="checkbox"/> Tabagismo ativo ou inativo | <input type="checkbox"/> Doenças autoimunes |
| <input type="checkbox"/> Hipertensão Arterial Sistêmica | <input type="checkbox"/> Asplenia funcional ou anatômica |
| <input type="checkbox"/> Doença renal crônica | <input type="checkbox"/> Doença neurológica crônica ou demência |
| <input type="checkbox"/> Doença renal crônica em diálise | |
| <input type="checkbox"/> Doença hepática crônica | |
| <input type="checkbox"/> Uso de imunossupressor (quimioterápicos e corticóides) | |
| <input type="checkbox"/> Neutropenia | |

Quantidade de comorbidades: _____

Dados clínicos:

Duração dos sintomas antes do internamento: _____

Na admissão hospitalar: Temperatura: _____ PA: _____ mmHg FC: _____ bpm FR: _____
 ipm Sato2: _____ Glasgow: _____

Febre durante internamento: () Sim () Não

Dados antropométricos:

Peso: _____ Altura: _____ Peso estimado: _____

Circunferência abdominal: _____

Altura estimada: _____ Altura do joelho: _____

IMC: _____ IMC estimado: _____

Hb									
Ht									
Leucócitos									
Meta/mielo									
Bas/seg									
LT/LA									
Mn									
Plaq. X10 ³									
INR									
TPAE									
TTPA									
Fibrinogênio									
D-dímero									
Ferritina									
Uréia									
Creatinina									
Na									
K									
Cl									
Ca									
P									
Mg									
BT/BD									
Albumina									
TGO/TGP									
FA/GGT									
AMI/LIP									
Triglicérides									
CPK									
CKMB									
Troponina									
DHL									
PCR									

Medida da camada media-intimal carotídea: Data do exame:

Escores:

SOFA 24h: _____ SOFA 72h: _____ SAPS3: _____ Percentual de mortalidade: _____

H- Score (Síndrome de Ativação Macrofágica): _____ ISTH escore: _____

APÊNDICE B – FORMULÁRIO DE ULTRASSONOGRAFIA

TEM DESCONFORTO ABDOMINAL? () SIM () NÃO

INICIO E DURAÇÃO DA SINTOMATOLOGIA: _____

ALTURA: _____ PESO: _____ IMC: _____

CA: _____

CO-MORBIDADES: _____

ACHADOS DO EXAME - DATA: ___/___/___

AVALIAÇÃO DO ABDOME - PARTE 1/2	
PESQUISA DE LÍQUIDO LIVRE:	
1) Espaço de Morrison (hepatorrenal):	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
2) Espaço esplenorrenal:	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
3) Espaço perirrenal:	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
4) Fossa ilíaca direita:	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
5) Fossa ilíaca esquerda:	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
6) Escavação pélvica (supra-vesical):	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
7) Líquido laminar ou borramento do espaço perirrenal:	() Sim () Não () Inaplicável () Ignorado
8) Ausente:	()

VESÍCULA BILIAR:	
Aspecto geral:	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Cálculos biliares <input type="checkbox"/> Colabada <input type="checkbox"/> Colectomia <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Não se aplica
Espessamento da parede:	<input type="checkbox"/> Espessada (>3,0 mm) <input type="checkbox"/> Normal (<3,0 mm) <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Ignorado

AVALIAÇÃO DO ABDOME - PARTE 2/2			
	FÍGADO	BAÇO	PÂNCREAS
Contornos	<input type="checkbox"/> Regulares <input type="checkbox"/> Irregulares <input type="checkbox"/> Rombos <input type="checkbox"/> Lobulados <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> Ignorado	<input type="checkbox"/> Regulares <input type="checkbox"/> Irregulares <input type="checkbox"/> Rombos <input type="checkbox"/> Lobulados <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Inaplicável	<input type="checkbox"/> Regulares <input type="checkbox"/> Irregulares <input type="checkbox"/> Rombos <input type="checkbox"/> Lobulados <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> Ignorado
Tamanho	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado Medidas: ___ cm <input type="checkbox"/> Ignorado	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado Medidas: ___ cm <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Inaplicável	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado Medidas: ___ cm <input type="checkbox"/> Ignorado
Textura	<input type="checkbox"/> Homogênea <input type="checkbox"/> Heterogênea <input type="checkbox"/> Outra: <input type="checkbox"/> Ignorado	<input type="checkbox"/> Homogênea <input type="checkbox"/> Heterogênea <input type="checkbox"/> Outra: <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Inaplicável	<input type="checkbox"/> Homogênea <input type="checkbox"/> Heterogênea <input type="checkbox"/> Outra: <input type="checkbox"/> Ignorado
Ecogenicidade	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentada Doença de depósito? S/N <input type="checkbox"/> Reduzida <input type="checkbox"/> Ignorado	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentada <input type="checkbox"/> Reduzida <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Inaplicável	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentada <input type="checkbox"/> Reduzida <input type="checkbox"/> Ignorado
Esteatose hepática	<input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave <input type="checkbox"/> Não se aplica		

EXTENSÃO DO ESTUDO ECOGRÁFICO COM AVALIAÇÃO DO TÓRAX	
PRESENÇA DE LÍQUIDO LIVRE NOS FOLHETOS PLEURAIIS	
Exame	Volume - percepção visual
Derrame pleural D <input type="checkbox"/> Sem derrame <input type="checkbox"/> Com derrame <input type="checkbox"/> Ignorado	<input type="checkbox"/> Derrame laminar (não mensurável) <input type="checkbox"/> Pequeno <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Volumoso
Derrame pleural E <input type="checkbox"/> Sem derrame <input type="checkbox"/> Com derrame <input type="checkbox"/> Ignorado	<input type="checkbox"/> Derrame laminar (não mensurável) <input type="checkbox"/> Pequeno <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Volumoso
PRESENÇA DE LÍQUIDO LIVRE NOS FOLHETOS PERICÁRDICOS	
Exame	Espessura da lâmina (se mensurável)
<input type="checkbox"/> Presente <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Laminar <input type="checkbox"/> Não laminar	
ESTUDO DE PLANOS ADIPOSOS	
TIPO DE GORDURA	ACHADOS ADICIONAIS
ESPESSURA	

Intra-abdominal	Retoabdominal - parede anterior aorta:	
Parede abdominal (Periumbilical)	ABD SUP: ABD INF:	

ESPESSURA COMPLEXO MÉDIO INTIMAL - CMI
DIR: ESQ: PLACAS: () SIM () NÃO
OUTROS COMENTÁRIOS:

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Participantes a partir dos 18 anos de idade ou emancipados - Resolução 466/12)

IMPACTO DA OBESIDADE NA EVOLUÇÃO DA COVID-19 GRAVE

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa porque foi atendido (a) ou está sendo atendido (a) nesta instituição. Para que você possa decidir se quer participar ou não, precisa conhecer os benefícios, os riscos e as consequências pela sua participação.

Este documento é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e tem esse nome porque você só deve aceitar participar desta pesquisa depois de ter lido e entendido este documento. Leia as informações com atenção e converse com o pesquisador responsável e com a equipe da pesquisa sobre quaisquer dúvidas que você tenha. Caso haja alguma palavra ou frase que você não entenda, converse com a pessoa responsável por obter este consentimento, para maiores esclarecimentos. Caso prefira, converse com os seus familiares, amigos e com a equipe médica antes de tomar uma decisão. Se você tiver dúvidas depois de ler estas informações, entre em contato com o pesquisador responsável.

Esta pesquisa está sob a responsabilidade da pesquisadora Profa. Dra. Simone Cristina Soares Brandão, com endereço na Avenida Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil CEP: 50670-420, Telefone: 21263978 e email: sbrandaonuclearufpe@gmail.com.

Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Prof. Dr. Esdras Marques, Profa. Dra. Emmanuelle Tenório, Profa. Dra. Lúcia Cordeiro, Camila Silva Bezerra, Alice Abath Leite, Vanessa Borba, Thaís Ramos, Gabriela Buriel, Júlia Xavier e Gustavo Freitas.

Após receber todas as informações, e todas as dúvidas forem esclarecidas, você poderá fornecer seu consentimento via áudio, através de mídias sociais (aplicativo Whatsapp ou através de mensagem de texto com mensagem de áudio), rubricando e/ou assinando em todas as páginas deste Termo, em duas vias (uma do pesquisador responsável e outra do participante da pesquisa), caso queira participar.

PROPÓSITO DA PESQUISA

O objetivo da pesquisa é avaliar o impacto da obesidade na evolução clínica de pacientes com quadros graves de COVID-19.

PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

A sua participação consistirá em realizar uma ultrassonografia de abdômen e de pescoço (exame de imagem não invasivo, sem radiação e realizado por profissional capacitado), além de permitir a análise de dados de prontuário e de exames previamente realizados durante este internamento, respeitando completamente seu sigilo e anonimato.

Não será solicitado que você fique em jejum para fazer a ultrassonografia.

BENEFÍCIOS

A participação no estudo ajudará no desenvolvimento de novos conhecimentos, que poderão eventualmente beneficiar o paciente e outras pessoas no futuro. Os pacientes também poderão ter os seus diagnósticos realizados com mais celeridade, sem nenhum tipo de intervenção invasiva, tendo em vista que qualquer achado nos exames de ultrassonografia realizados na pesquisa serão imediatamente comunicados ao paciente e ao seu médico assistente, sendo registrado em prontuário com data e hora do achado, para que a equipe médica tome conhecimento prontamente de possíveis achados e possam realizar medidas cabíveis. Tais medidas serão tomadas exclusivamente pela a equipe médica assistente durante o internamento da UTI/enfermaria, orientando e encaminhando o paciente no momento da alta para acompanhamento específico/especializado.

RISCOS

A ultrassonografia oferecida aos pacientes que aceitarem participar do estudo prospectivo é considerada inócua e não utiliza radiação.

Poderão ser analisados os dados referentes às aquisições de imagem, exame físico e exames laboratoriais já previamente solicitados pelo médico assistente no manejo clínico, através de dados de prontuários, respeitando-se o sigilo e a confidencialidade dos dados utilizados.

CUSTOS

O participante não pagará por qualquer exame de imagem ou teste exigido como parte desta pesquisa.

CONFIDENCIALIDADE

Se você optar por participar desta pesquisa, as informações sobre a sua saúde e seus dados pessoais serão mantidas de maneira confidencial e sigilosa. Seus dados somente serão utilizados depois de anonimizados (ou seja, sem sua identificação). Apenas os pesquisadores autorizados terão acesso aos dados individuais, resultados de exames e testes bem como às informações do seu registro médico. Mesmo que estes dados sejam utilizados para propósitos de divulgação e/ou publicação científica, sua identidade permanecerá em segredo.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

A sua participação é voluntária e a recusa em autorizar a sua participação não acarretará quaisquer penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito, ou mudança no seu tratamento e acompanhamento médico nesta instituição. Você poderá retirar seu consentimento a qualquer momento sem qualquer prejuízo. Em caso de você decidir interromper sua participação na pesquisa, a equipe de pesquisadores deve ser comunicada e a coleta de dados relativos à pesquisa será imediatamente interrompida.

ACESSO AOS RESULTADOS DE EXAMES

Você pode ter acesso a qualquer resultado relacionado a esta pesquisa. Estes resultados serão enviados ao seu médico e ele os discutirá com você. Se você tiver interesse, você poderá receber uma cópia dos mesmos.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS

A pessoa responsável pela obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido lhe explicou claramente o conteúdo destas informações e se colocou à disposição para responder às suas perguntas sempre que tiver novas dúvidas. Você terá garantia de acesso, em qualquer etapa da pesquisa, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas e inclusive para tomar conhecimento dos resultados desta pesquisa. **Neste caso, por favor, ligue para Dra. Simone Brandão , Dra. Camila Bezerra ou Dr. Esdras Marques no telefone (81) 991478306 em horário comercial de segunda a sexta.** Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em computador do sob a responsabilidade dos pesquisadores, no endereço Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, pelo período de mínimo 5 anos. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HC-UFPE e pelo CEP/IMIP .

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida Prof. Moraes Rego s/n – 3º Andar- Cidade Universitária, Recife- PE, Brasil CEP: 50670-420, Tel.: (81) 2126.3743 – e-mail: cephcufpe@gmail.com) ou o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do IMIP, O CEP-IMIP está situado à Rua dos Coelho, nº 300, Boa Vista. Diretoria de Pesquisa do IMIP, Prédio Administrativo Orlando Onofre, 1º Andar tel: (81) 2122-4756 – Email: comitedeetica@imip.org.br O CEP/IMIP funciona de 2ª a 6ª feira, nos seguintes horários: 07:00 às 11:30 h e 13:30 às 16:00h.

Este termo está sendo elaborado em duas vias, sendo que uma via ficará com você e outra será arquivada com os pesquisadores responsáveis.

CONSENTIMENTO

ANEXO A – ARTIGO ORIGINAL ACEITO NA RADIOLOGIA BRASILEIRA

Radiologia Brasileira

**ULTRASOUND FINDINGS IN SEVERE COVID-19: A DEEPER
LOOK THROUGH THE CAROTIDS**

Journal:	<i>Radiologia Brasileira</i>
Manuscript ID	RB-2022-0012
Manuscript Type:	Original Article
Keyword:	COVID-19, SARS-CoV-2, Ultrasonography, Carotid Arteries, Carotid Intima-Media Thickness.

SCHOLARONE™
Manuscripts

ULTRASOUND FINDINGS IN SEVERE COVID-19: A DEEPER LOOK THROUGH THE CAROTIDS

Manuscript Type: Original Article

ABSTRACT

Objective: To investigate vascular and perivascular abnormalities in the carotid arteries using ultrasound and evaluate their association with mortality and clinical variables in hospitalized COVID-19 patients.

Material and Methods: In this prospective study, 53 hospitalized patients with severe COVID-19 were evaluated and underwent carotid ultrasound. We described the carotid ultrasound findings in these patients. Correlations of clinical, demographic, laboratory, and imaging features were analyzed and compared using statistical analysis.

Results: Carotid ultrasound demonstrated endoluminal surface irregularity in 29 patients (55%), carotid plaques in 30 patients (57%), perivascular infiltration in four patients (7.5%), and increased intima-media thickness (IMT) in 31 patients (58%). Among those with increased IMT, 19 (61%) died, with an association observed between increased IMT and COVID-19 mortality ($p=0.03$). A logistic regression model showed that the probability of death was 85% in patients with increased IMT and a history of chronic nephropathy or acute kidney injury at hospitalization ($p < 0.05$).

Conclusion: Increased IMT, endoluminal surface irregularity, carotid plaques, and perivascular infiltrates were found on carotid ultrasound in patients hospitalized with severe COVID-19. Increased IMT associated with kidney damage might increase the risk of death.

KEYWORDS

- COVID-19
- SARS-CoV-2
- Ultrasonography
- Carotid Arteries
- Carotid Intima-Media Thickness

For Review Only

INTRODUCTION

The coronavirus disease (COVID-19) caused approximately 386 million infections and 5.7 million deaths until February 4, 2022 ⁽¹⁾. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) revealed to be a complex infectious agent responsible for extrapulmonary presentations such as renal, cutaneous, gastrointestinal, neurological, and cardiovascular changes ⁽²⁻⁷⁾.

In vitro experiments and autopsy studies have shown that SARS-CoV-2 binds to host angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptors ^(8,9). Thus, tissues with high ACE2 surface expression are considered susceptible to direct viral infection ⁽¹⁰⁾. ACE2 is widely distributed throughout the body and abundantly expressed on the surface of the vascular endothelium ^(5,9,10).

Postmortem examination of patients with severe COVID-19 revealed endotheliitis and other vascular changes, such as intussusceptive pulmonary angiogenesis, cell necrosis, and microthrombi ^(11,12). Moreover, alterations in endothelial glycocalyx thickness were also described ⁽¹³⁾. These findings reinforce that COVID-19 is a vascular disease, with the endothelium playing a central role in its pathophysiology ^(11,13-15).

Carotid ultrasound is a widely available and non-invasive tool in the evaluation of vascular abnormalities, including intima-media thickness (IMT) changes and other pathologic wall findings ⁽¹⁶⁾. Despite the advantages of this imaging method, there have been no ultrasound studies on carotid manifestations related to SARS-CoV-2 infection to our knowledge, except for few case reports. This study aimed to identify and characterize IMT changes and vascular abnormalities in patients with severe COVID-19 through carotid ultrasound and to correlate them with mortality and clinical variables.

MATERIAL AND METHODS

Patients and Study Design

This prospective, cross-sectional, multicenter study was conducted in three Brazilian hospitals referenced by the local government for the care of COVID-19 patients. The study was

approved by the Research Ethics Committee of the Hospital X (CAAE: 34736620.6.0000.8807) and informed consent was obtained after being provided information regarding the study.

Adult inpatients and intensive care unit (ICU) patients (>18 years old) selected by convenience with positive reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) results for SARS-CoV-2 in the participating hospitals between July 2020 and February 2021 were included.

Image Acquisition and Ultrasound Protocol

Ultrasound examinations were performed at the bedside using GE Logic devices and GE 12L-RS linear transducers by three board-certified radiologists (with 4-10 years of experience), the patients being examined by at least two radiologists together on site. The physicians were aware of the SARS-CoV-2-positive RT-PCR results of the evaluated patients, but they were blinded to other clinical and laboratory data.

The carotid ultrasound protocol included assessment of the common carotid artery, carotid bifurcation, and at least 2 cm of the internal and external carotid arteries. These vessels were evaluated using grayscale and color Doppler studies to search for the following changes: increased IMT, endoluminal surface irregularity, plaques, plaque characteristics, and thrombus.

Data Collection and Image Reading

Ultrasound data were stored in the researchers' local electronic devices and later evaluated in a clinical-radiological environment with the other members of the research team. The images were reviewed by the three radiologists, and the findings were only included in the study when commonly observed by at least two of these three researchers. All discrepancies regarding the initial interpretation of the data were resolved by consensus through consultation with a vascular echography specialist, a surgeon specializing in angiology, and a cardiologist. Considering that some aspects of the ultrasound study can be subjective, specific

criteria were used in ultrasound examinations and in image review aiming at reducing false-positive observations, also considering that the studied population had age variation, being predominantly aged <65 years: (a) IMT was measured on the posterior wall of the common carotid in a plaque-free segment, defined as the distance between two hyperechoic lines corresponding to the lumen-intima and media-adventitia interfaces of the arterial wall^(16,17), and it was considered thickened if the mean value between three manual measurements was greater than the 75th percentile of the Brazilian population, according to the ELSA-Brasil study⁽¹⁶⁻¹⁸⁾; (b) carotid endoluminal surface irregularity was evaluated in grayscale, comparing the findings in the longitudinal and axial axes to avoid possible ultrasonographic artifacts; (c) atheromatous plaque was defined as a focal structure extending at least 0.5 mm to the vessel lumen, and/or measuring >50% of the value of the adjacent IMT measurement, and/or an IMT measurement of >1.5 mm^(16,19); (d) the carotid plaques were divided into three subgroups and characterized as hypoechoic when their echogenicity was similar to that of blood, isoechoic when similar to that of the sternocleidomastoid muscle, and hyperechoic when “whiter” than the adjacent muscle. In this last subgroup, this study also included hyperechoic plaques producing posterior acoustic shadows corresponding to calcifications.

After imaging data were reviewed, clinical, demographic, and laboratory data were collected from electronic and physical records, with the researchers blinded to the imaging findings, and the data were subsequently reviewed by the three radiologists. The following comorbidities were evaluated: systemic arterial hypertension (SAH), diabetes mellitus (DM), history of chronic nephropathy or acute kidney injury at admission, coronary artery disease (CAD), and history of stroke or deep venous thrombosis.

Statistical Analysis

Demographic, clinical, laboratory, and imaging data of patients were compared using statistical tests such as Pearson's chi-square test for independence and the Mann-Whitney test.

Logistic regression models were used to jointly evaluate imaging parameter variables (IMT, plaques, and endoluminal surface irregularity) and clinical data (age, sex, ICU admission, and comorbidities) to explain the outcome. P-values of <0.05 indicated a significant difference. All statistical analyses were performed using SPSS software (version 20.0).

RESULTS

A total of 210 patients with SARS-CoV-2-positive RT-PCR findings were admitted to the evaluated sectors of the three hospitals, of whom 166 (79%) were admitted to the ICU. Among them, 122 (58%) were men, with a mean age of 60 ± 17 years (range, 19-99 years). This study included 53 patients who underwent carotid ultrasound. The characteristics of the patients are listed in Table 1.

Carotid ultrasound was performed within an average period of 8.4 days (standard deviation, 8) of admission to the respective sector. The mean age was 60 years (range, 24-89 years), and 58% of patients were men and 81% were admitted to the ICU.

The most common findings were increased IMT (58%), diffuse endoluminal surface irregularity (55%), and presence of plaques (57%). Nine patients underwent follow-up ultrasound.

Increased IMT was found in 31 (58%) patients. The percentage of deceased patients was higher among those with increased IMT (61% and 32%, respectively; $p = 0.03$). The age of patients with increased IMT ranged from 48 to 85 years. The mean IMT was 0.82 mm (range, 0.5-2.1 mm).

An inpatient who initially had a normal baseline ultrasound (IMT = 0.5 mm) underwent follow-up ultrasound due to clinical worsening. The follow-up ultrasound showed the onset of increased IMT (IMT = 1.2 mm) and endoluminal surface irregularity (Figure 1). After this clinical worsening, the patient was transferred to the ICU, progressing to death.

Another patient admitted to the ICU underwent carotid ultrasound on the third day of hospitalization, with perivascular edema and increased IMT (IMT = 1.03 mm), and follow-up

ultrasound performed after 7 days (on the tenth day of treatment) showed decreased perivascular edema and IMT, coinciding with an improved clinical condition (Figure 2).

In four patients, concomitant with the increased IMT, signs of perivascular infiltration were observed, suggesting a “hazy” aspect in the fat surrounding the vessel. One of the patients had an eccentric perivascular infiltrate close to the carotid bifurcation associated with diffuse IMT increase, lumen narrowing, and iso- and hypoechoic plaques, an aspect usually found in transient perivascular inflammation of the carotid artery (TIPIC) syndrome (Figure 3).

An additional study of the vertebral arteries was performed in three patients, showing diffuse parietal thickening of these vessels and of the carotids, as well as signs of perivascular inflammation (Figure 4).

Carotid ultrasound revealed diffuse endoluminal surface irregularity in 29 (55%) patients (Figure 5). Of these, 45% (13 of 29) died.

Carotid plaques were observed in 57% of patients (30 of 53). Nine patients had hypoechoic plaques in the right carotid and eight in the left carotid, while three patients had isoechoic plaques in the right carotid and one in the left. Hyperechoic/calcified plaques were observed in the right carotid artery in ten patients and in the left carotid artery in 16 patients. It is important to emphasize that the same patient could have more than one type of plaque.

Vascular coagulation-related abnormalities were also identified, including subclavian arterial thrombosis in one patient (Figure 4d), thrombus in the brachiocephalic venous trunk in one patient, thrombus in the jugular vein in another patient, and thrombi in central venous catheters in two patients.

Mechanical ventilation was required in 66% (35 of 53) of patients, of whom 60% (21 of 35) were men. A total of 22 patients underwent hemodialysis, of whom 14 (64%) were men. As for the outcome, 26 (49%) patients died, of whom 16 (61%) were men. The analysis of death proportion between the sexes showed that men had a higher rate of death than women (52% and 45%, respectively).

Pooled analyses were also adjusted using a logistic regression model, and the probability of death was estimated to be greater in patients with increased IMT (odds ratio[OR]:4.1; 95% CI: 1.1; 15.8; $p= 0.04$) and a history of chronic nephropathy or acute kidney injury at hospital admission (OR:8.9; 95% CI: 2.4; 33.7; $p= 0.001$). Patients with this association had an 85% chance of progressing to death. Without these factors, the chance of death was estimated to be 13%. The main results and their associations with the outcomes are shown in Table 2.

DISCUSSION

In this study, increased IMT was the most common finding in the carotid ultrasound of patients with severe COVID-19. Intima-media thickening may be associated with an increased risk of death in these patients ($p = 0.03$) and may be also related to a worse prognosis in patients with concomitant nephropathy (85% chance of progressing to death). It was also observed the onset of increased IMT after a clinical worsening in a patient with a previous normal carotid ultrasound (Figure 1), as well as the demonstration of a decreasing pathologic carotid findings in the follow-up examination of another patient (Figure 2), coinciding with an improved clinical condition.

Although the nature of these findings is not yet well defined, some hypotheses can be considered. These include direct virus infection, because ACE2 expression is abundant in the vascular endothelium, with autopsy studies indicating a direct inflammatory effect of SARS-CoV-2⁽⁸⁾, in addition to endothelial damage associated with the presence of intracellular viral particles and cell membrane ruptures⁽¹²⁾. This endothelial viremia may remain a possible contributing factor for worse prognosis in patients with nephropathy and increased IMT, as observed in this study, associated with a dysregulated renin-angiotensin-aldosterone system and immune response⁽²⁰⁾.

Increased IMT is also observed in inflammatory processes, such as TIPIC syndrome^(21,22), vasculitis, and other infectious processes, including HIV and other coronaviruses^(17,23). The hyperinflammatory state related to the “cytokine storm” may be linked to this finding in

patients with severe COVID-19. This inflammatory mechanism may justify the onset of increased IMT in the patient who previously had no such change. It may also be associated with clinical and radiological improvement in the other patient with reduced perivascular inflammatory process after therapeutic management.

Signs of perivascular infiltration have been reported in vasculitis and TIPIC syndrome, and it is suggested that these findings are associated with inflammation or the expression of an autoimmune process ⁽²¹⁾.

Endoluminal surface irregularities and plaques were also observed. Endoluminal surface irregularity on ultrasound may be associated with endotheliitis caused by the virus or with possible pro-atherogenic factors. Hypochoic plaques are usually found in vasculitis, especially when associated with perivascular infiltration and diffuse IMT increase ^(21,22,24,25). These hypochoic plaques may also be related to the activation of endothelial function by SARS-CoV-2 in the sense of promoting atherosclerosis, as well as the participation of the inflammatory process and the contribution of hematopoiesis after exposure to stressor stimuli, favoring atherogenesis ⁽²⁶⁾.

Traditional cardiovascular risk factors are also associated with increased IMT and other pathologic carotid wall findings ⁽¹⁶⁾. Thus, the following questions arise: Is IMT increase in COVID-19 a previous, a transitory or a permanent finding? Will this thickening represent an additional cardiovascular risk for these patients? Since our study was conducted between the first and second waves, a period of increased in-hospital morbidity and mortality in Brazil ⁽²⁷⁾, few patients had medical conditions to undergo follow-up ultrasound. Therefore, further studies are needed for better clarification of these findings.

Imaging features related to thrombosis corroborate that hospitalized COVID-19 patients are often in a state of hypercoagulation ⁽²⁸⁾. Previous studies with histological analysis of pulmonary vessels in COVID-19 patients already demonstrated findings such as diffuse thrombosis, microangiopathy, occlusion of small pulmonary vessels, and microthrombi in alveolar capillaries ^(11,12,29,30).

As for clinical practice, this study suggests that the evaluation of the carotids may help manage patients with severe COVID-19 and can help identify possible complications. Increased IMT might be a risk predictor for a worse outcome of the disease, especially in association with previous nephropathy and/or acute kidney injury. There is also the possibility that carotid ultrasound might improve the assessment of therapeutic response through patient screening and follow-up.

This study had some limitations. The most important factors were the sample size and the study design that does not allow the establishment of a cause-effect relationship. It should be considered that performing ultrasound in critically ill patients with SARS-CoV-2 requires time for dressing and undressing, in addition to the use of strict protocols to reduce the team's exposure. It was also difficult to obtain adequate ultrasound access due to the presence of cervical sutures and monitoring devices, clinical instability and prone position. Some data were not present in the medical records, which limited the clinical-radiological correlation. This study lacked a control group, as the pandemic forced healthcare services to adjust to mutating healthcare needs, causing a sudden drop of hospitalizations of non-COVID-19 during the lockdown period. Despite these limitations, it was possible to document and evaluate the carotid ultrasound findings in critically ill patients with COVID-19.

In conclusion, this study reported vascular and perivascular changes through carotid ultrasound in patients with severe COVID-19. Increased IMT, endoluminal surface irregularity, perivascular infiltrates and carotid plaques were the main findings. Increased IMT associated with kidney damage might increase the risk of death. Subsequent studies evaluating the endothelium at different phases of COVID-19, including patients with mild and asymptomatic disease, may provide more information and are recommended.

REFERENCES

1. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. World Health Organization Web site: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Accessed February 05, 2022.
2. Meirelles GSP. COVID-19: a brief update for radiologists. *Radiol Bras.* 2020;53:320-8.
3. Alves VPV, Altoé A, Veloso V et al. Computed tomography features of cerebrovascular complications in intensive care unit patients with severe COVID-19. *Radiol Bras.* 2021;54:283–288.
4. Behzad S, Aghaghazvini L, Radmard AR, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19: Radiologic and clinical overview. *Clin Imaging.* 2020;66:35–41.
5. Brandão SCS, Godoi ETAM, Ramos J de OX, et al. COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. *J Vasc Bras.* 2020;19.
6. Revzin MV, Raza S, Warshawsky R, et al. Multisystem imaging manifestations of covid-19, part 1: viral pathogenesis and pulmonary and vascular system complications. *Radiographics.* 2020;40:1574–99.
7. Revzin MV, Raza S, Srivastava NC, et al. Multisystem imaging manifestations of COVID-19, part 2: from cardiac complications to pediatric manifestations. *Radiographics.* 2020;40:1866-92.
8. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395:1417-8.
9. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020;181:271-280.e8.
10. Zou X, Chen K, Zou J, et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020;14:185-92.

11. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20:1135–40.
12. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;383:120-8.
13. Rovas A, Osiaevi I, Buscher K, et al. Microvascular dysfunction in COVID-19: the MYSTIC study. *Angiogenesis.* 2021;24:145-57.
14. Libby P, Lüscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J.* 2020 21;41:3038-44.
15. Brandão SCS, Godoi ETAM, Cordeiro LH de O, et al. COVID-19 and obesity: the meeting of two pandemics. *Arch Endocrinol Metab.* 2020;65:3-13.
16. Freire CMV, de Alcantara ML, dos Santos SN, et al. Recomendação para a quantificação pelo ultrassom da doença aterosclerótica das artérias carótidas e vertebrais: grupo de trabalho do departamento de imagem cardiovascular da sociedade brasileira de cardiologia – DIC - SBC. *Arq Bras Cardiol - Imagem Cardiovasc.* 2015;28:1–64.
17. Godoi ETAM, Brandt CT, Lacerda HR, et al. Intima-media thickness in the carotid and femoral arteries for detection of arteriosclerosis in human immunodeficiency virus-positive individuals. *Arq Bras Cardiol.* 2017;108:3-11.
18. Santos IS, Bittencourt MS, Oliveira IRS, et al. Carotid intima-media thickness value distributions in The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Atherosclerosis.* 2014;237:227–35.
19. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006): An update on behalf of the advisory board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis.* 2007;23:75-80.
20. Ronco C, Reis T, Husain-Syed F. Management of acute kidney injury in patients with

- COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8:738-42.
21. Lecler A, Obadia M, Savatovsky J, et al. TIPIC syndrome: Beyond the myth of carotidynia, a new distinct unclassified entity. *Am J Neuroradiol*. 2017;38:1391-8.
 22. Venetis E, Konopnicki D, Jissendi Tchifo P. Multimodal imaging features of transient perivascular inflammation of the carotid artery (TIPIC) syndrome in a patient with Covid-19. *Radiol Case Rep (Preprint)*. 2022 Mar;17(3):902-906.
 23. Gavriilaki E, Anyfanti P, Gavriilaki M, et al. Endothelial dysfunction in COVID-19: lessons learned from coronaviruses. *Current Hypertension Reports*. 2020;22:1-12.
 24. Schmidt WA. Role of ultrasound in the understanding and management of vasculitis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. 2014;6:39-47.
 25. Ulus S, Aksoy Ozcan U, Arslan A, et al. Imaging spectrum of TIPIC Syndrome: validation of a new entity with vessel wall imaging. *Clin Neuroradiol*. 2020;30:145-57.
 26. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*. 2021;592:524-33.
 27. Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: a cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Health Am*. 2022;6:100107.
 28. Spiezia L, Boscolo A, Poletto F, et al. COVID-19-related severe hypercoagulability in patients admitted to intensive care unit for acute respiratory failure. *Thromb Haemost*. 2020;120:998-1000.
 29. Liu Q, Wang RS, Qu GQ. Gross examination report of a COVID-19 death autopsy. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2020;36:21-3.
 30. Hariri LP, North CM, Shih AR, et al. Lung histopathology in Coronavirus Disease 2019 as compared with severe acute respiratory syndrome and H1N1 Influenza: a systematic review. *Chest*. 2021;159:73-84.

Table 1: Demographic and clinical characteristics of patients.

Characteristic	ICU	Non-ICU	p-Value
No. of patients	43	10	
Age, mean \pm SD	59 \pm 15	61 \pm 15	.90(1)
Sex			
Male	25 (82%)	6 (18%)	
Female	18 (81%)	4 (19%)	>.99(2)
Admission to outcome (days), mean \pm SD	22.8 \pm 15.1	27.7 \pm 22.4	.65(1)
Comorbidities			
Hypertension	28 (65%)	6 (60%)	>.99(2)
Diabetes	26 (60%)	5 (50%)	.71(2)
Asthma/COPD	9 (21%)	2 (20%)	>.99(2)
Coronary disease	4 (9%)	1 (10%)	>.99(2)
History of malignancy	9 (21%)	2 (20%)	>.99(2)
Autoimmune disease	1 (2%)	0 (0%)	>.99(2)
Nephropathy	22 (51%)	2 (20%)	.09(2)
HIV+	1 (2%)	2 (20%)	.08(2)
Thrombotic complications			
History of stroke	4 (9%)	0 (0%)	>.99(2)
In-hospital stroke	2 (5%)	0 (0%)	>.99(2)
History of DVT	17 (50%)	2 (20%)	.41(2)
Invasive ventilation	33 (77%)	2 (22%)	.003(2)
Outcome			
Discharged	19 (44%)	8 (80%)	
Deceased	24 (56%)	2 (20%)	.07(2)

(1) Mann-Whitney test; (2) Fisher's exact test.

Table 2: Variables and their association with the outcome among the patients.

Variable		Outcome		Total	p-Value
		Discharge	Death		
Sex	Male	12 (55)	10 (45)	22 (100)	.19*
	Female	15 (48)	16 (52)	31 (100)	
Age, mean (SD)		57 (17)	63 (11)	60 (15)	.33**
Hospitalization location	ICU	19 (44)	24 (56)	43 (100)	.04*
	Inpatient	8 (80)	2 (20)	10 (100)	
Hospital days, mean (SD)		24.4 (20.4)	22.8 (11.4)	23.6 (16.3)	.33**
Intima-media thickening	Yes	12 (39)	19 (61)	31 (100)	.03*
	No	15 (68)	7 (32)	22 (100)	
Irregularity Subendothelial	Yes	16 (55)	13 (45)	29 (100)	.73*
	No	9 (50)	9 (50)	18 (100)	
Presence of plaque	Yes	16 (53)	14 (47)	30 (100)	.69
	No	11 (48)	12 (52)	23 (100)	

Values in parentheses refer to percentages.

*p-value using Pearson's chi-square test for independence.

**p-value using the Mann-Whitney test.

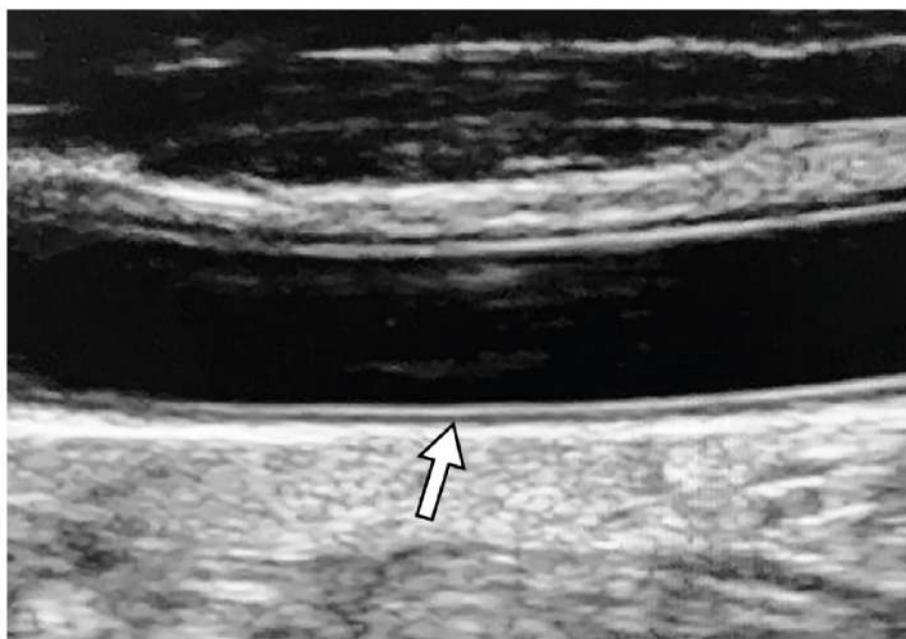


Figure 1a: (a) Grayscale carotid ultrasound image of a 52-year-old man, HIV+ and COVID-19+, with no evidence of ultrasound IMT abnormalities (arrow). (b) IMT follow-up study 12 days after the first exam, showing increased IMT and endoluminal surface irregularity (arrow).

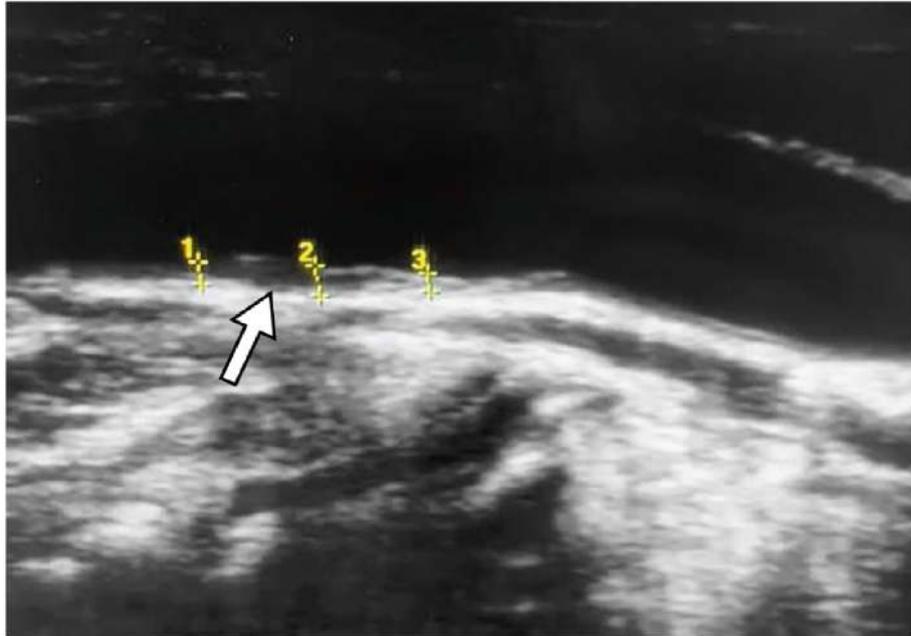


Figure 1b: (a) Grayscale carotid ultrasound image of a 52-year-old man, HIV+ and COVID-19+, with no evidence of ultrasound IMT abnormalities (arrow). (b) IMT follow-up study 12 days after the first exam, showing increased IMT and endoluminal surface irregularity (arrow).

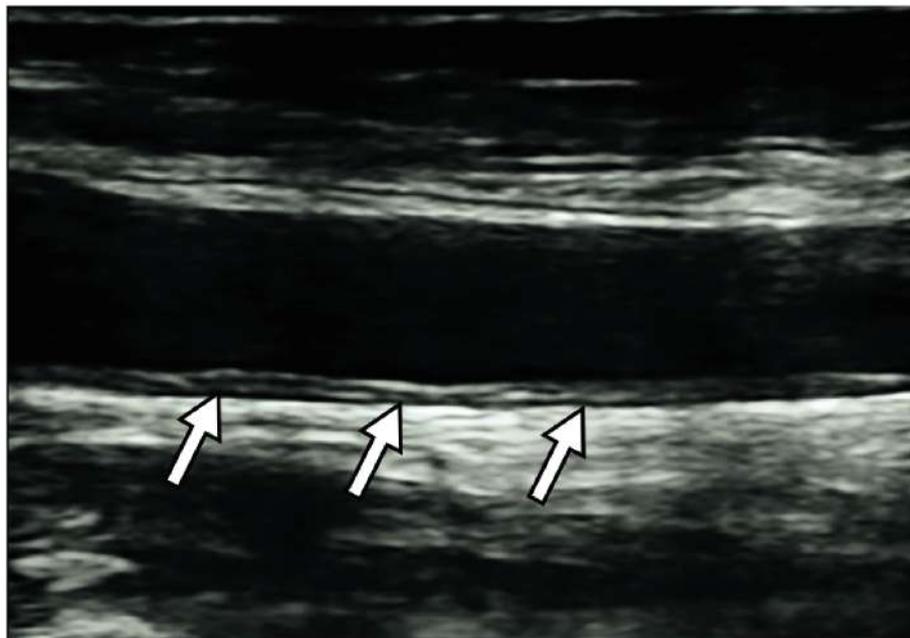


Figure 2a: A 50-year-old man with COVID-19. Grayscale ultrasound images show thickened and irregular common carotid artery (white arrows) on the longitudinal axis (a) on the 3rd day of the disease. In (b), the vertebral artery is also diffusely thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). In (c), there are slightly decreased perivascular inflammatory changes on 10th day, coinciding with clinical improvement.

87x61mm (300 x 300 DPI)



Figure 2b: A 50-year-old man with COVID-19. Grayscale ultrasound images show thickened and irregular common carotid artery (white arrows) on the longitudinal axis (a) on the 3rd day of the disease. In (b), the vertebral artery is also diffusely thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). In (c), there are slightly decreased perivascular inflammatory changes on 10th day, coinciding with clinical improvement.

87x61mm (300 x 300 DPI)

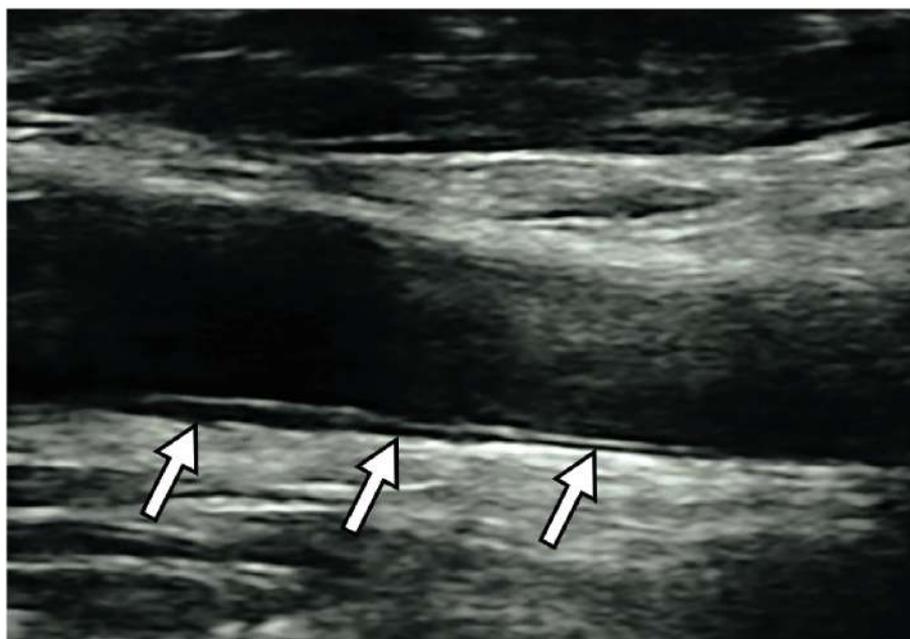


Figure 2c: A 50-year-old man with COVID-19. Grayscale ultrasound images show thickened and irregular common carotid artery (white arrows) on the longitudinal axis (a) on the 3rd day of the disease. In (b), the vertebral artery is also diffusely thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). In (c), there are slightly decreased perivascular inflammatory changes on 10th day, coinciding with clinical improvement.

87x61mm (300 x 300 DPI)

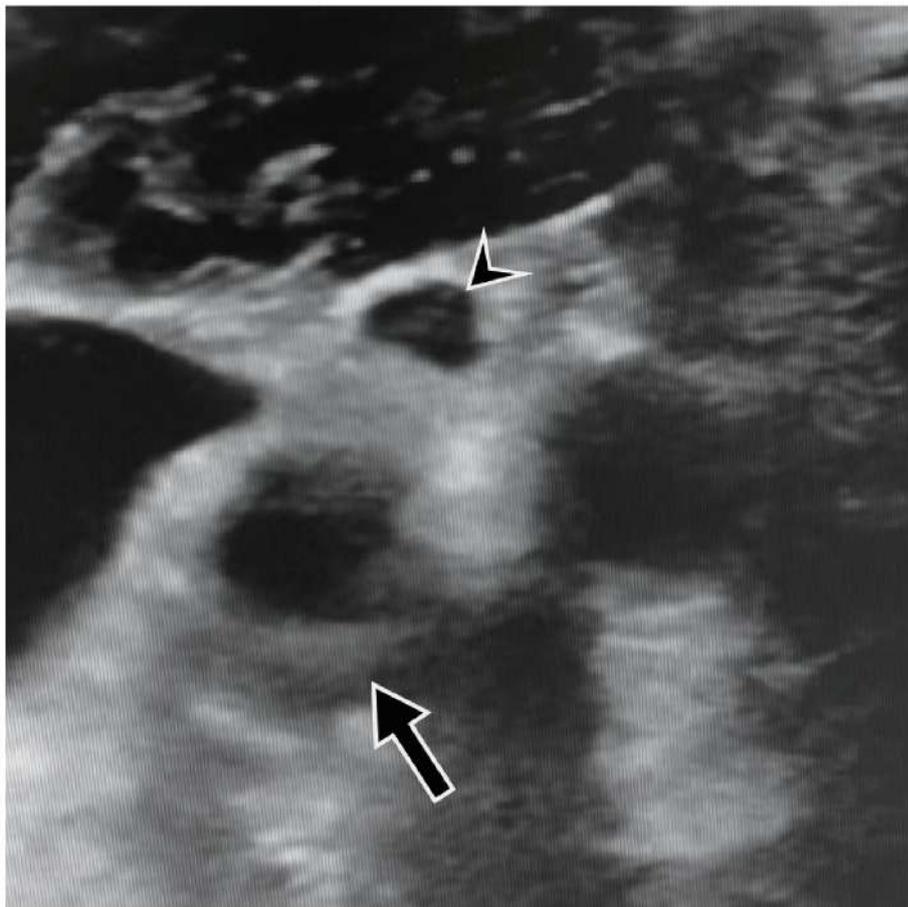


Figure 3a: (a) Grayscale image of carotid ultrasound of a 67-year-old man with COVID-19 showing perivascular infiltrate near the carotid bifurcation, more prominent in planes surrounding the internal carotid artery (black arrow). There is also a small lymph node with reactive characteristics (black arrowhead). In (b) and (c), plaques of different sizes and echogenicity (white arrows) are shown, predominantly hypo- and isoechoic, extending from the internal carotid and carotid bifurcation to the common carotid, which presents diffuse and irregular intima-media thickening (white arrows). These findings are usually seen in TIPIC syndrome.



Figure 3b: (a) Grayscale image of carotid ultrasound of a 67-year-old man with COVID-19 showing perivascular infiltrate near the carotid bifurcation, more prominent in planes surrounding the internal carotid artery (black arrow). There is also a small lymph node with reactive characteristics (black arrowhead). In (b) and (c), plaques of different sizes and echogenicity (white arrows) are shown, predominantly hypo- and isoechoic, extending from the internal carotid and carotid bifurcation to the common carotid, which presents diffuse and irregular intima-media thickening (white arrows). These findings are usually seen in TIPIC syndrome.

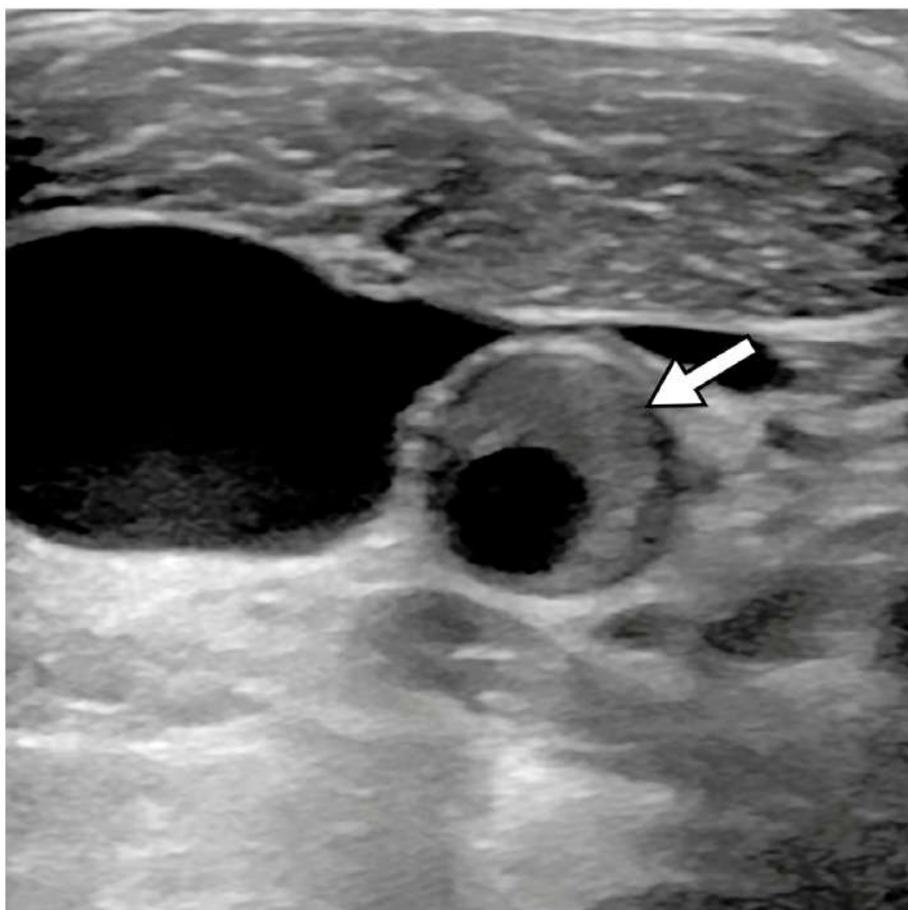


Figure 3c: (a) Grayscale image of carotid ultrasound of a 67-year-old man with COVID-19 showing perivascular infiltrate near the carotid bifurcation, more prominent in planes surrounding the internal carotid artery (black arrow). There is also a small lymph node with reactive characteristics (black arrowhead). In (b) and (c), plaques of different sizes and echogenicity (white arrows) are shown, predominantly hypo- and isoechoic, extending from the internal carotid and carotid bifurcation to the common carotid, which presents diffuse and irregular intima-media thickening (white arrows). These findings are usually seen in TIPIC syndrome.

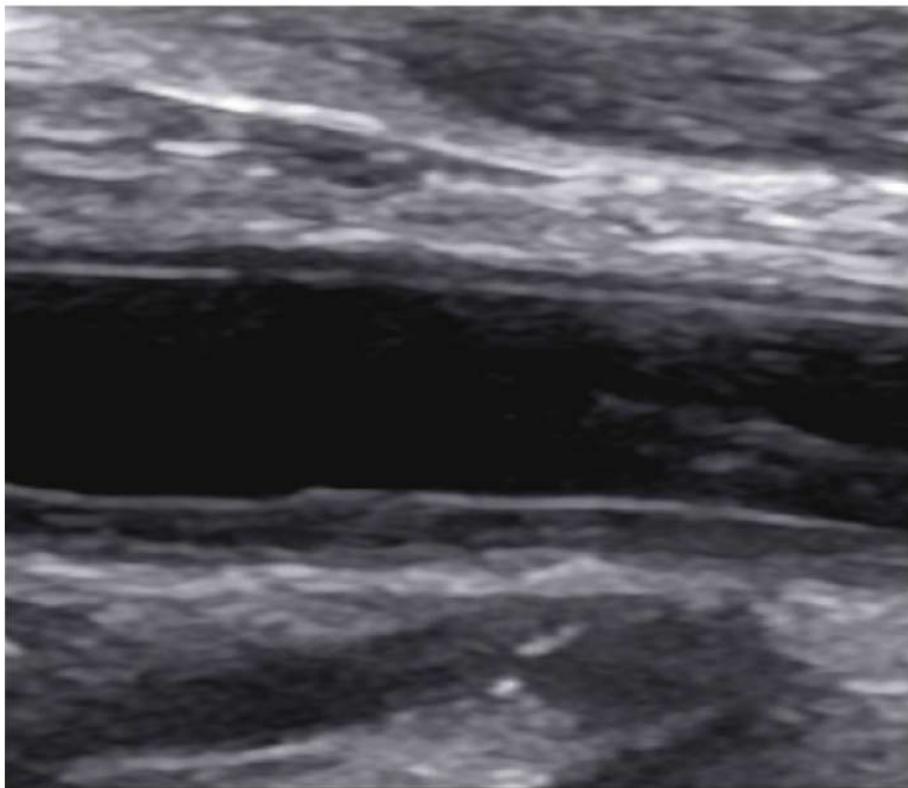


Figure 4a: A 50-year-old woman with COVID-19. (a) Grayscale ultrasound image and its respective annotated image (b). Note the common carotid with diffuse intima-media thickening highlighted in pink in (b), and signs of perivascular infiltration highlighted in orange. In (c), the vertebral artery is also thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). On color Doppler study (d), there is presence of thrombus in the subclavian artery.

87x76mm (300 x 300 DPI)

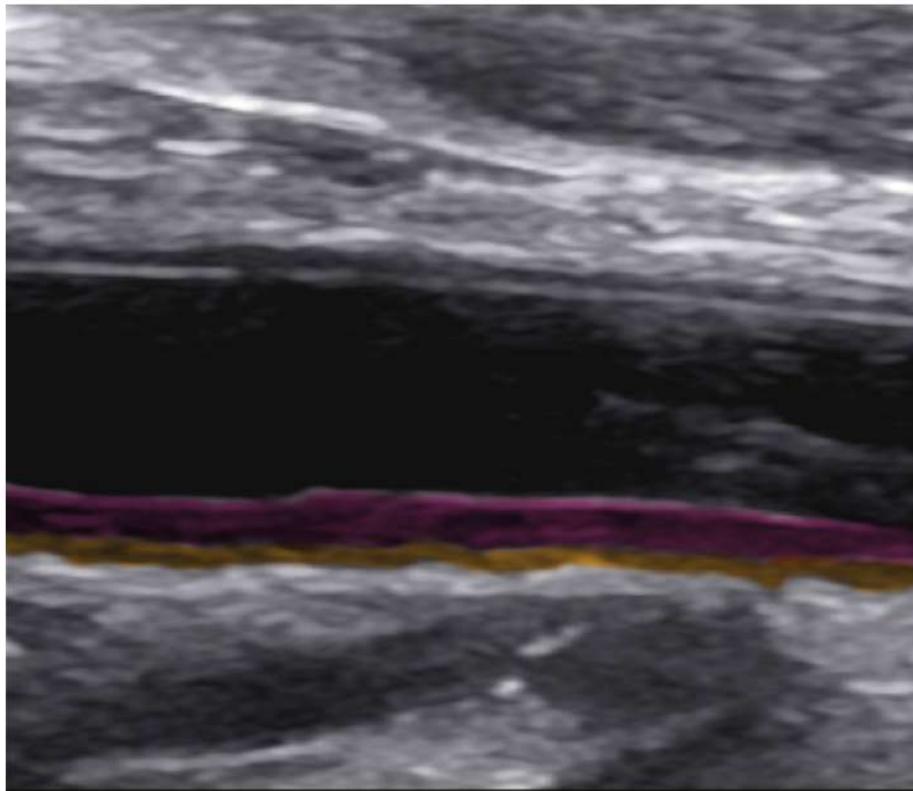


Figure 4b: A 50-year-old woman with COVID-19. (a) Grayscale ultrasound image and its respective annotated image (b). Note the common carotid with diffuse intima-media thickening highlighted in pink in (b), and signs of perivascular infiltration highlighted in orange. In (c), the vertebral artery is also thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). On color Doppler study (d), there is presence of thrombus in the subclavian artery.

87x76mm (300 x 300 DPI)

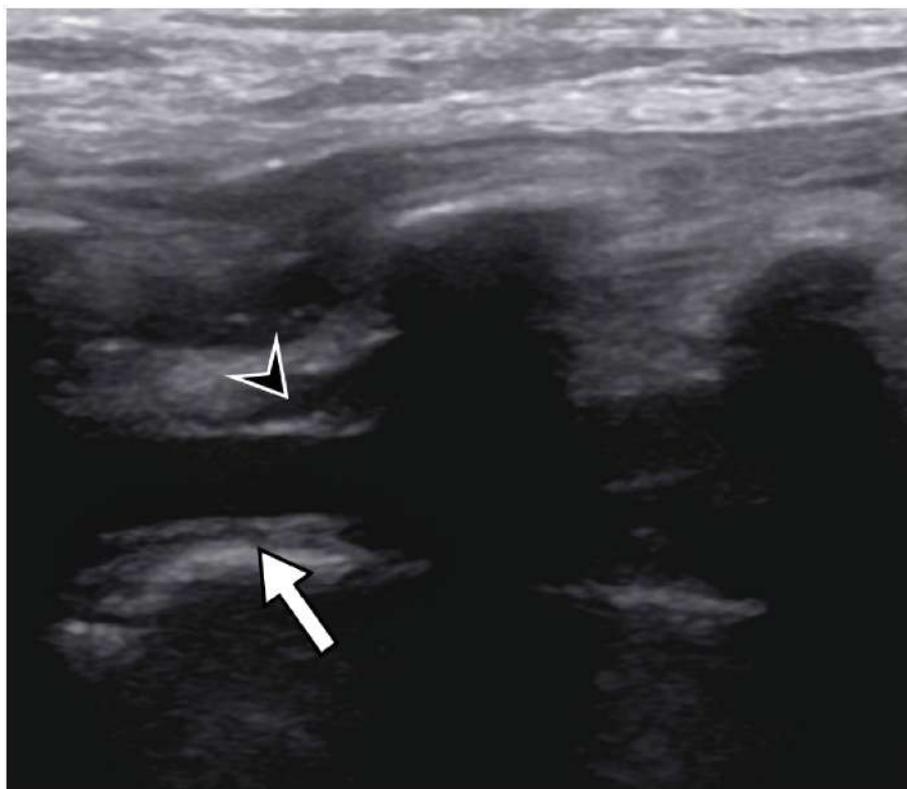


Figure 4c: A 50-year-old woman with COVID-19. (a) Grayscale ultrasound image and its respective annotated image (b). Note the common carotid with diffuse intima-media thickening highlighted in pink in (b), and signs of perivascular infiltration highlighted in orange. In (c), the vertebral artery is also thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). On color Doppler study (d), there is presence of thrombus in the subclavian artery.

87x76mm (300 x 300 DPI)



Figure 4d: A 50-year-old woman with COVID-19. (a) Grayscale ultrasound image and its respective annotated image (b). Note the common carotid with diffuse intima-media thickening highlighted in pink in (b), and signs of perivascular infiltration highlighted in orange. In (c), the vertebral artery is also thickened (white arrow), with signs of perivascular infiltration (black arrow). On color Doppler study (d), there is presence of thrombus in the subclavian artery.

87x76mm (300 x 300 DPI)

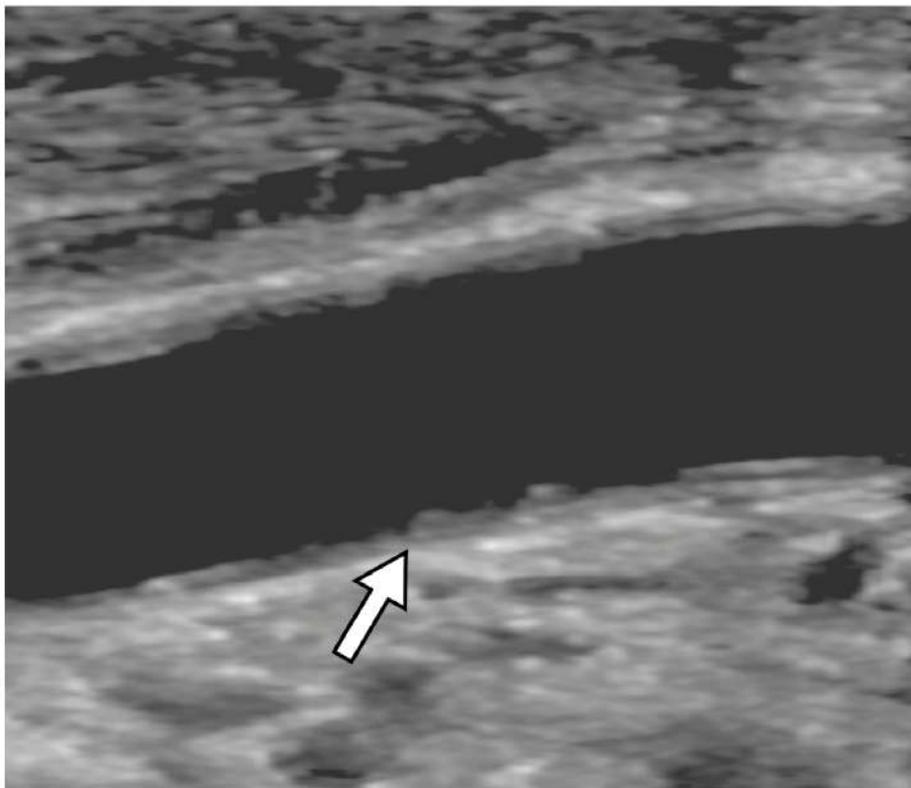


Figure 5: Carotid ultrasound of a 59-year-old woman hospitalized with COVID-19, showing marked diffuse endoluminal surface irregularity (arrow).

87x76mm (300 x 300 DPI)

ANEXO B – COMPROVANTE DE ACEITE NA REVISTA RB

Radiologia Brasileira

Decision Letter (RB-2022-0012.R1)

From: radiologiabrasileira@cbr.org.br

To: camilasbezerra@hotmail.com, camilasbezerra@gmail.com

CC:

Subject: Radiologia Brasileira - Artigo RB-2022-0012.R1 aprovado

Body: 25-Apr-2022

Prezados Autores,

Referente ao artigo: ULTRASOUND FINDINGS IN SEVERE COVID-19: A DEEPER LOOK THROUGH THE CAROTIDS

Código de fluxo: RB-2022-0012.R1

Temos o prazer de informar que o manuscrito acima citado foi aprovado pelo Conselho Editorial e será incluído na programação para publicação na Revista Radiologia Brasileira. Lembramos que algumas modificações poderão ser solicitadas até a publicação do artigo.

Além disso, é necessário o envio de dois documentos, que seguem anexos, antes da publicação do artigo: a Divulgação de Potencial Conflito de Interesses pelo Autor (assinado apenas pelo autor correspondente) e o Termo Copyright (assinado por todos os autores).

Obrigado por submeter seu trabalho e aguardamos novas contribuições.

Atenciosamente,

Dr. Edson Marchiori
Editor-chefe, Radiologia Brasileira

Date Sent: 25-Apr-2022

COVID-19 and obesity: the meeting of two pandemics

Simone Cristina Soares Brandão^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0001-8699-1612>

Emmanuelle Tenório Albuquerque Madruga Godoi^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0003-2926-5320>

Lúcia Helena de Oliveira Cordeiro¹

<https://orcid.org/0000-0002-4664-9468>

Camila Silva Bezerra²

<https://orcid.org/0000-0001-9724-6207>

Júlia de Oliveira Xavier Ramos³

<https://orcid.org/0000-0001-7623-6747>

Gustavo Freitas Alves de Arruda³

<https://orcid.org/0000-0002-4613-2143>

Esdras Marques Lins²

<https://orcid.org/0000-0001-6603-6944>

¹ Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

³ Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

ABSTRACT

COVID-19 and obesity are two pandemic diseases that the world is currently facing. Both activate the immune system and mediate inflammation. A sequence of disease phases in patients with severe COVID-19 results in a cytokine storm, which amplifies the subclinical inflammation that already exists in patients with obesity. Pro-inflammatory cytokines and chemotactic factors increase insulin resistance in obesity. Therefore, a greater systemic inflammatory response is established, along with an increased risk of thrombotic phenomena and hyperglycemic conditions. These changes further impair pulmonary, cardiac, hepatic, and renal functions, in addition to hindering glycemic control in people with diabetes and pre-diabetes. This review explains the pathophysiological mechanisms of these two pandemic diseases, provides a deeper understanding of this harmful interaction and lists possible therapeutic strategies for this risk group. *Arch Endocrinol Metab.* 2021;65(1):3-13

Keywords

COVID-19; obesity; pandemics; insulin resistance; inflammation

Correspondence to:

Lúcia Helena de Oliveira Cordeiro
Rua Francisco da Cunha 142/2301
51120-050 – Boa Viagem, Recife,
PE, Brasil
luciacordeiro.endo@gmail.com

Received on July/21/2020

Accepted on Oct/21/2020

DOI: 10.20945/2359-399700000318

INTRODUCTION

COVID-19 (COroNaVIrus Disease 2019) is caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), and arises from the same family of other coronaviruses responsible for acute respiratory distress syndrome (ARDS), such as SARS-CoV and MERS-CoV (1). It was initially described as a respiratory tropism virus, and the occurrence of extrapulmonary manifestations has been noted. Cardiac, vascular, renal, gastrointestinal, cutaneous, and neurological complications are among the reported features (2,3).

The disease started spreading globally from December 2019, being recognized as a pandemic on March 11, 2020 (4). The first case in Brazil was reported on February 25, and since then the pandemic has spread rapidly. Most of the information about COVID-19 in Brazil was calculated from

data provided by several government projects and organizations. As of October 12th, 2020, there were more than 5 million confirmed cases. The number of deaths at the time of this writing was above 150,000. The lethality rate in Brazil is 2.96, which is higher than the lethality rate in other Latin American countries such as Argentina (2.6%), Uruguay (2.23%), and Paraguay (2.1%) (5-7).

Older adults and people of any age with certain underlying medical conditions (such as type II diabetes mellitus and serious heart dysfunctions) have been identified as higher risk groups for more severe illness (8). Obesity also plays a leading role over other highly correlated risk factors. According to a study from the Kaiser Permanente in Southern California (a large integrated healthcare organization), there is an association between obesity and risk for death. This risk was most striking among those aged 60 years or younger, and in men (9).

According to the World Health Organization, obesity is also a pandemic disease (10). The prevalence of obesity has tripled since 1975. More than 1.9 billion adults were overweight in 2016, of which 650 million were obese, while another 340 million among children and adolescents aged 5 to 19 years were overweight or obese (11). The prevalence of obesity in Brazil has increased 67.8% in 13 years, from 11.8% of the population in 2006 to 19.8% in 2018 (12).

Many case series have been published around the world reporting the association of body mass index (BMI) with severe cases of COVID-19 (13-16). BMI ≥ 30 kg/m² was present in 47.5% of patients with severe COVID-19 in a French center, regardless of age, diabetes, or hypertension (13). Gao and cols. described a 12% increase in the risk of severe COVID-19 for each unit of increase in BMI (14). In the United States, where 40% of adults are obese, Petrilli and cols. conducted a cross-sectional analysis of 4103 patients with laboratory confirmation for SARS-CoV-2, concluding that BMI > 40 kg/m² was a strong predictor of hospitalization with an odds ratio (OR) of 6.2 (15). Furthermore, higher in-hospital mortality was independently associated with BMI ≥ 35 kg/m² with an OR of 3.78, as well as between male gender and aging (16). A harmful inverse correlation was observed in retrospective analyses between BMI and age, in which obesity was described as a risk factor in individuals under 60 years of age (17,18).

The possible links between the severity of COVID-19 and obesity are intriguing to the medical and scientific community. This review aims to explain the possible pathophysiological mechanisms of these two pandemics, providing a better understanding of this harmful interaction and a rational therapeutic strategy for this risk group.

COVID-19 INFECTION MECHANISM

SARS-CoV-2 is a simple RNA beta-coronavirus with 5.1-day median incubation infection period and a basic reproduction number (an indicator of the disease transmissibility) of 3.28 ($R_0=3.28$). It is mainly transmitted through aerosol, droplets, and fomites. The potential mechanism of SARS-CoV-2 invasion is receptor-mediated endocytosis (19).

SARS-CoV-2 requires angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptors as well as transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) for entry into epithelial

cells (20,21). The Spike (S) protein of the coronavirus uses the ACE2 from the human host, expressed in alveolar epithelial cells via AT1 receptors, and other tissues such as the heart, the endothelium, the kidney, and the pancreas (22).

The S protein is present as a trimer in mature viruses, with three receptor-binding S1 heads sitting on top of a trimeric membrane fusion S2 stalk. SARS-CoV-2 S1 contains a receptor-binding domain (RBD) which specifically recognizes ACE2 as its receptor (23,24). The RBD constantly switches between a standing-up position for receptor binding and a lying-down position for immune evasion. Furthermore, the SARS-CoV-2 S protein needs to be proteolytically activated at the S1/S2 boundary in order to fuse membranes, such that S1 dissociates and S2 undergoes a dramatic structural change. These SARS-CoV entry-activating proteases include cell surface protease TMPRSS2, and lysosomal proteases cathepsins (24,25). The viral translation process takes place as the viral RNA is released into the host cytoplasm, using the host cellular machinery for its own replication and spread (19,26,27) (Figure 1).

Coronaviruses mediate their pathogenic effects by cytotoxic and immune-related mechanisms. Cell infection results in cytopathic effects such as cell lysis and apoptosis. The viral complex formed through the replication process leads to disruption of the Golgi complexes, culminating in cell destruction (24,25,28). The immune mechanisms will be elucidated further on.

ACE2 enzymes participate in the angiotensin maturation, a hormone which controls vasoconstriction and blood pressure. It acts by degrading angiotensin 2 (Ang II), the active form of angiotensin, into angiotensin 1-7 (Ang 1-7), serving as a counterpoint to the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and protecting the endothelium, heart, lungs, kidneys, and intestines against tissue damage (29) (Figure 2).

Thus, COVID-19 causes an imbalance of RAAS as its entry into cells leads to internalizing ACE2, decreasing its expression on the cell surface. This suppression makes the infected host more susceptible to tissue damage which is stimulated by the vasoconstrictive, pro-oxidative, and pro-inflammatory action of Ang II (29,30).

COVID-19 is classified into three stages according to the clinical presentation of the disease. The viral replication occurs in phase I. Patients may not manifest symptoms or only present flu-like symptoms such as fever, fatigue, coughing, anosmia, odynophagia, and/or even gastrointestinal manifestations. About

80% of patients remain in this phase, with the disease being self-limited and benign. However, more serious manifestations such as ARDS (phase II or hyperinflammatory) may appear in about 15% of those infected, while there is a need for ventilatory support and intensive care (phase III – critically ill patients) in 5% of patients (31). Phase III is characterized by a state of pro-inflammatory hypercytokinemia, called a “cytokine storm” (32).

IMMUNE RESPONSE AND CYTOKINE STORM

Innate and adaptive immunity is stimulated after the virus enters the cell. The former includes Natural Killer (NK) cells producing several pro-inflammatory cytokines and chemotactic factors such as type I interferons (IFN1), gamma interferon (IFN- γ), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukins (IL) -1, -6, -8, -12, -15 and -18. On the other hand, the adaptive immune response involves a more specific attack on the virus, recruiting

CD4+ and CD8+ T lymphocytes, being responsible for the immune memory (19).

Additionally, in severe COVID-19 there is a dysfunction of NK cells and a reduced IFN1 production, which is the main inducer of the antiviral response (19,29); there is also excessive recruitment and uncontrolled activation of infiltrating pro-inflammatory cells (neutrophils and monocytes-macrophages). McGonagle and cols. suggest that this cytokine storm is caused by the high viremia of SARS-CoV-2 due to a weak immune response at the onset of the disease (32).

The presence of the virus in the pulmonary alveoli and the release of cytokines lead to a loss of epithelial cells and pneumocytes with a subsequent decrease in surfactant, which in turn induces an increase in the alveolar surface tension and the collapse of these structures. As a result, the alveolar cavities are filled with cellular remnants of inflammation and exudate which is aggravated by the increase in cellular permeability caused by Ang II overload (33).

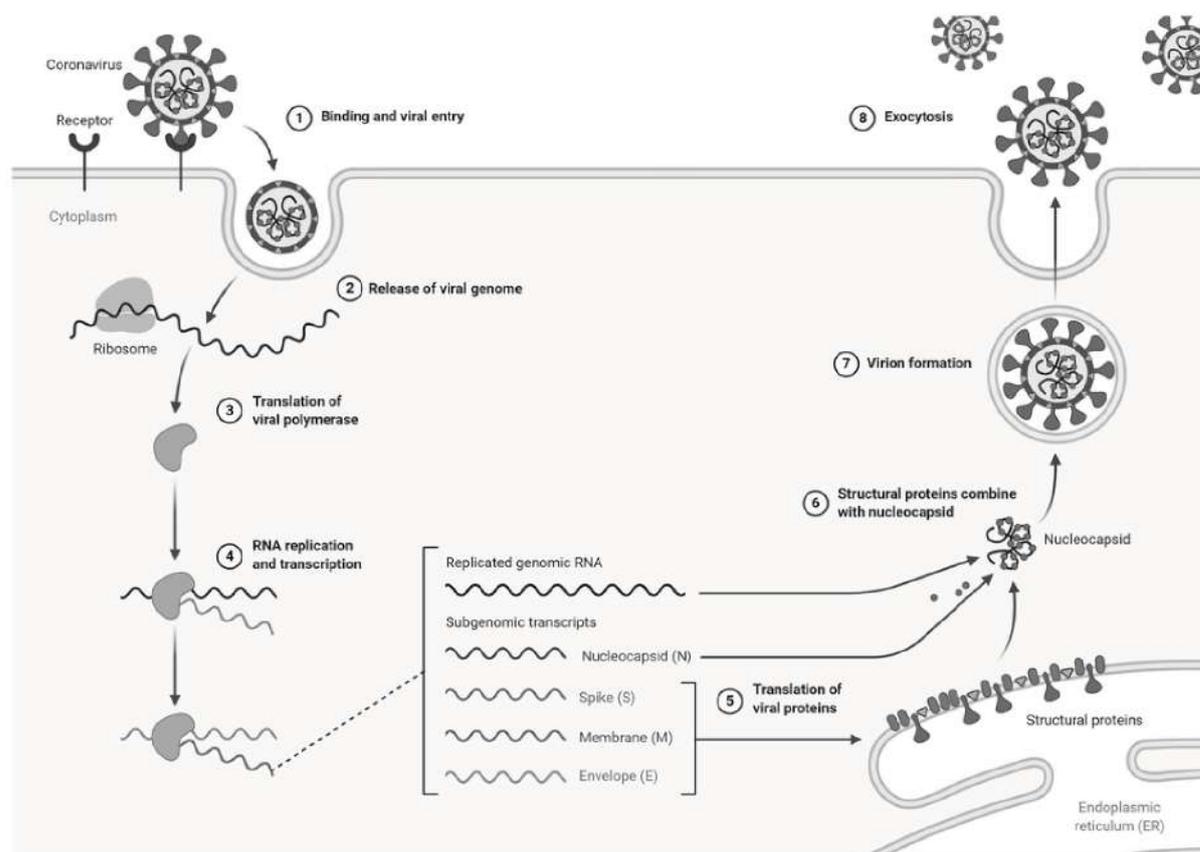


Figure 1. Coronavirus replication cycle.
Created by BioRender.com

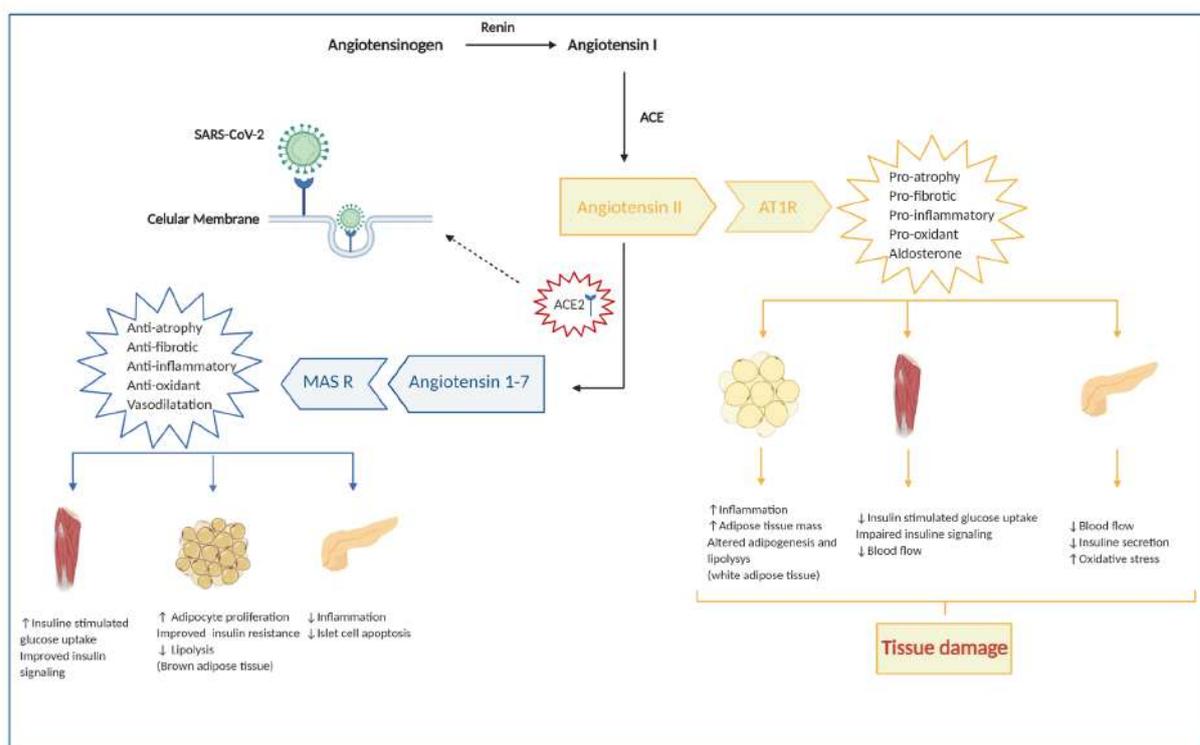


Figure 2. Deregulation of the renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19.

The juxtaglomerular cells of the afferent arterioles of the nephrons release renin which will convert angiotensinogen into angiotensin I. Then, this molecule is converted into angiotensin II (Ang II) through the action of the angiotensin-converting enzyme 1 (ACE), which is complex with its AT1 receptor (AT1R), leading to a pro-inflammatory, pro-oxidative and pro-fibrotic environment. ACE2 converts angiotensin I and Ang II to Ang 1-7, which produces contrary effects to Ang II when it binds to the Mas receptor (MAS R). A reduction or inhibition of ACE2 is observed in COVID-19 due to the binding of SARS-CoV-2 on the cell surface, leading to more severe pro-inflammatory reactions and more extensive tissue damage.

Adapted with permission from Brandão SCS and cols. (1,31). Created with Biorender.com.

Necropsy studies reveal lymphocytic endotheliitis in the lungs, heart, kidney, and liver, as well as the presence of cellular necrosis, microthrombi, pulmonary intussusceptive angiogenesis, and other pulmonary vascular features in the lungs. In addition, a *postmortem* histology series demonstrated that SARS-CoV-2 may directly act in endothelial cells, with evidence of endothelial and inflammatory cell death. Furthermore, the microthrombotic pulmonary angiopathy related to SARS-CoV-2 may end up in a state of alveolar hypoperfusion (33-36).

The disease progression leads to dyspnea, hypoxia, and classic “ground glass” images on the periphery of the lungs. These manifestations are not specific to COVID-19, as other viral pneumonia (influenza and cytomegalovirus) can also trigger them (34).

The hyperinflammatory phase is marked by laboratory changes such as high levels of C-reactive

protein, procalcitonin, ferritin, and D-dimer, with the latter probably being related to the extensive pulmonary microthrombosis (32-34). The increase in circulating macrophages and the hypersensitivity of CD4+ T cells increase the IL and TNF- α levels, as well as the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors, which leads to calling for even more leukocytes, thus maintaining the hypercytokinemia state (31,34).

This profile is similar to Macrophage Activation Syndrome (MAS), in which an excess of cytokines occurs due to inadequate macrophage elimination, featuring persistent fever, cytopenias, liver dysfunction, and disseminated intravascular coagulation. However, unlike in MAS, respiratory failure and atypical pneumonia are more common in COVID-19, in addition to hypercoagulability, multiple organ dysfunction, and sepsis (32).

All of these systemic repercussions are characteristic of the severe form of COVID-19, and are more prevalent in at-risk populations as described above (37). Thus, it is important to understand the relationship between SARS-CoV-2 infection and obesity.

OBESITY AND RISK OF SEVERE COVID-19

Overweight and obesity are related to immune system dysfunction, chronic systemic inflammation, insulin resistance, pulmonary, cardiac, and endothelial structural and functional impairment, prothrombotic abnormality, in addition to liver and kidney dysfunction. All of these abnormalities confer a higher risk of developing severe COVID-19 (38).

It is noteworthy that the typical primary increase in the inflammatory response of obesity may be a contributing factor to the hyperinflammatory state observed in severe COVID-19 (39). In addition, adipose tissue was identified as a potential target and a viral reservoir due to increased ACE2 expression (40).

The occurrence of immunological dysfunction with a greater predisposition to infection and mortality from sepsis is described among patients with obesity (41). It is well known that fat accumulation, mainly ectopic accumulation, favors developing inflammation in adipose tissue. This occurs due to an inflammatory state being created with a higher level of inflammatory cytokines, such as IL-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2), leptin, and plasminogen activator inhibitor-1, and a reduction of adiponectin, an anti-inflammatory adipocytokine. This scenario leads to an increase in recruitment of macrophages (42-44).

Adaptive immunity is also affected in obesity due to a decline in CD4-T cells, as well as an imbalance of CD4-T helper cells. Peripheral counts of CD4 and CD8-T cells are similarly low in patients with COVID-19, which is demonstrated as lymphopenia, a surrogate marker of severe COVID-19, albeit with a higher ratio of pro-inflammatory Th17 cells (39,40,45).

As a consequence, the proportion between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines becomes unbalanced, promoting endothelial dysfunction and increased arterial stiffness. This state of endothelial dysfunction is characterized by decreased nitric oxide production and increased reactive oxygen species production, amplifying the vascular damage (39).

Obesity and insulin resistance

Obesity, notably visceral adipose tissue, leads to insulin resistance which results in increased liver production and reduced peripheral glucose uptake, especially in muscle and adipose tissues (45). This also stimulates lipolysis and creates an inflamed and hyperglycemic environment (46).

Adipose tissue is dynamic and interacts with insulin sensitivity and metabolic control, blood pressure status, vascular regulation, and angiogenesis. ACE2 receptors are also expressed in various tissues such as skeletal muscle, endothelium, adipose tissue, and β -pancreatic cells (47).

ACE2 plays an important role in insulin sensitivity through angiotensin 1-7 production (48) (Figure 2). Ang II is believed to reduce the action of glucose transporter 4 membrane receptors on muscle in animal models, decreasing the entry of glucose into the cell. Ang II also alters the adipogenesis, increasing in number and accelerating the differentiation of adipocytes in visceral tissue (49).

SARS-CoV-2 acts deregulating RAAS while using ACE2 receptor as a ligand. The result is an exacerbation of the aforementioned energy metabolism abnormalities in people with obesity and with or without diabetes (50,51).

Respiratory function in obesity

The lung is an organ that produces inflammatory mediators, and it is not uncommon for patients with obesity to present atopy and bronchial hyperresponsiveness with a greater predisposition to bronchial asthma and pulmonary infections (52).

It is also noteworthy that obesity promotes venous stasis in the lower limbs and chronic venous insufficiency contributing to venous thromboembolism, which provides a greater risk of pulmonary embolism, especially in association with immobility (53).

Patients with obesity are at a higher risk of developing serious pulmonary complications with COVID-19, such as greater chance of requiring oxygen therapy, intubation, and mechanical ventilation (54), in addition to higher in-hospital mortality, occurring in as many as 88.1% of those who required mechanical ventilation (55).

The increased risk of severe COVID-19 in people with obesity is related to a set of structural, inflammatory, macro- and microcirculatory factors,

and also to more complex hospital care (31). Ectopic fatty accumulation in the thoracic and diaphragmatic muscles could lead to decreased muscle function, less thoracic expansion, and increased respiratory effort, which, in turn, impairs gas exchange and leads to consequent respiratory dysfunction (52). However, the literature suggests that ectopic accumulation of lipids can appear in cells of the pulmonary alveolus in states of overnutrition, resulting in ultrastructural abnormalities and altered surfactant production (56). Moreover, SARS-CoV-2 may act directly on the endothelium and cause a diffuse endotheliitis with consequent alveolar thrombotic microangiopathy (28,29,57,58).

Another aggravating factor present in patients with obesity is the difficulty to implement the prone position. This life-saving measure in patients with ARDS improves the ventilation/perfusion ratio and arterial oxygenation by using the effects of gravity and repositioning the heart in the chest, improving respiratory system mechanics and alveolar ventilation (59).

Cardiac function and hypertension in obesity

Obesity produces hemodynamic changes which contribute to developing structural and functional cardiac abnormalities. These changes can cause heart failure (HF), even in the absence of other comorbidities such as hypertension and coronary artery disease (CAD). HF related to severe obesity is called “obesity cardiomyopathy” (37).

Direct and indirect mechanisms are associated with the development of cardiomyopathy due to obesity. Inflammatory mediators produced by adipose tissue are direct mechanisms of cardiac dysfunction and hypertension, while diabetes and CAD are among indirect mechanisms. Inflammation and insulin resistance with hyperinsulinemia are the main baseline changes in obesity which trigger a series of harmful events, culminating in damage to the cardiovascular system (60).

In addition to endocrine factors in people with obesity, hypertension is aggravated by its multifactorial nature with errors in eating habits and genetics (56). Each 5 kg/m² increase in BMI results in an increase of 5 mmHg in systolic blood pressure and 4 mmHg in diastolic blood pressure (61).

Regarding COVID-19, SARS-CoV-2 further exacerbates the deleterious effects of obesity on the cardiovascular system since it acts on ACE2 by deregulating RAAS through direct action on myocardial and

endothelial cells, causing inflammation and cell apoptosis. It also leads to a state of systemic hyperinflammation and hypercoagulability. Increased myocardial injury biomarkers such as troponin and brain natriuretic peptide have been described in the severe form of COVID-19, and are markers of higher mortality (40).

Acute cardiac injury is the most reported cardiovascular abnormality in COVID-19, with an average incidence of 8-12% (62). Clinical features of acute myocardial injury are elevated serum troponin level, arrhythmias, and ST-segment elevation and/or depression on the electrocardiogram in the absence of obstructive CAD (63).

Autopsies performed on three COVID-19 patients revealed that the main cardiac findings are cardiomegaly, individual cardiomyocyte injury, lymphocytic epicarditis/pericarditis, and lymphocytic myocarditis. It is noteworthy that all three subjects autopsied were men with obesity (BMIs of 33.8, 51.65, and 35.2 kg/m²) and had evidence of chronic heart disease (hypertensive left ventricular hypertrophy, dilated cardiomyopathy, and hypertrophic cardiomyopathy) (64).

Obesity and its relationship with pre-diabetes and diabetes

Obesity increases the risk of pre-diabetes and diabetes, and all of these morbidities increase susceptibility to hyperinflammation and the cytokine storm syndrome in COVID-19 (65). Guan and cols. showed that approximately 7% of patients with COVID-19 generally had diabetes as a comorbidity. However, the prevalence of diabetes was almost three times higher in patients with severe COVID-19 (16.2%) compared to those with the non-severe disease form (5.7%) (66).

The hyperglycemic environment can interfere with immunity, making the entry of SARS-CoV-2 more efficient and decreasing viral clearance by reducing T cell function. The Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) expressed in many tissues deserves some attention in coronavirus infection. The DPP-4 serves as an entrance mechanism for MERS-CoV in human cells, although there is still no evidence for SARS-CoV. However, inhibition of DPP-4 is an important treatment strategy for the treatment of type 2 diabetes and is under investigation (67).

Patients with diabetes have multiple associated comorbidities such as hypertension and high cardiovascular risk (66), as well as non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) (68).

Advanced stages of NAFLD are related to greater insulin resistance, mainly mediated by inflammatory pathways, possibly accelerating progression to cirrhosis in people with pre-diabetes and diabetes. Furthermore, the presence of steatohepatitis is associated with death from cardiovascular disease (69).

Zheng and cols. suggested that obesity and NAFLD may worsen the severity of COVID-19 by gathering data from three reference hospitals. The sample included 214 patients (mean age 47 years and 74% female) with a mean BMI of 22.7 ± 2.1 kg/m² (non-obese group) and 28.3 ± 3.2 kg/m² (obese group). The association of COVID-19 and obesity increased the risk for the severe form of the disease by up to three times, while this risk was six times greater in the presence of NAFLD (68).

Moreover, new-onset diabetes as well as severe diabetes-associated complications such as ketoacidosis and hypernatremia have been described in COVID-19 disease, and are under investigation by the CovDIAB project to address a potential diabetogenic effect of COVID-19 (67,70).

Obesity and kidney disease

The link between obesity and chronic kidney disease (CKD) can be explained by sharing pathophysiological pathways (such as chronic inflammation, increased oxidative stress, and hyperinsulinemia) and by risk factors and associated diseases (insulin resistance, hypertension, and dyslipidemia). Obesity aggravates hypertension, activating the RAAS and the sympathetic nervous system at the adipocyte level, thus culminating in vasoconstriction, as well as salt and water retention. The association of obesity with other pathologies such as diabetic nephropathy, hypertensive nephrosclerosis, and segmental and focal glomerulosclerosis also amplifies kidney damage (71).

Although the pathogenesis of kidney failure in severe COVID-19 is not yet fully understood, data suggest that complications may be mediated by high concentrations of pro-inflammatory cytokines, including IL-6 and coagulation disorders, which lead to thrombosis. Coagulopathy contributes to acute kidney injury in patients with COVID-19. Reports of hypercoagulability in dialysis filters are described in the disease series. Endotheliitis, angiogenesis, fibrin and microthrombi were also found in an autopsy of a transplanted kidney, possibly causing acute kidney damage in this patient (26,28,72).

PREVENTIVE AND THERAPEUTIC APPROACHES

There are nearly 135 vaccines against SARS-CoV-2 under development in the world to date, 42 of which are in human clinical trials. However, none of these are authorized for application in large populations, although it is expected that at least one effective vaccine might be licensed by 2021 (73). This will be fundamental for potent control of horizontal transmission, but also future studies may be needed to understand how obesity, hyperglycemia, and hyperinsulinemia might affect their efficacy (74,75).

Patients with obesity have been reported to have impaired development of immunological memory when vaccinated against tetanus, hepatitis A and B, rabies, and influenza (76). Regarding the influenza vaccine, reports show that antibody titers wane rapidly in these individuals during the first-year post-vaccination when compared to non-obese. Obesity may also be related to a higher risk of influenza-like illness as a response, reinforcing the need for including BMI as a variable in trials evaluating vaccine safety and effectiveness (76).

In the meantime, lifestyle changes such as wearing masks, social distancing, and reinforcing personal hygiene are recommended for preventing COVID-19 (74). It is also essential for people with obesity to incorporate behavioral measures such as regular physical exercise and to adopt a balanced diet enriched with fruits and vegetables (75). Diets with higher protein content and lower glycemic index can be effective and should be considered for individuals with diabetes (56,77).

Modest changes in diet may produce benefits to help control the inflammatory response in COVID-19 (75). Clinically achievable weight losses of about 5% or even 10% can improve insulin resistance and liver fibrosis in individuals with obesity, in addition to reducing outcomes like cardiovascular events and mortality (78,79).

However, there is no magical number for this weight loss, nor any data regarding this recommendation and its impact on either infection susceptibility or severity (79). Rather than a “solution” to obesity, these changes may be seen as a “controlled obesity” status, as suggested by Halpern & Mancini, and future COVID-19 studies should consider voluntary weight loss as a potential factor for reduced health risks, even if their BMI is not considered “normal” yet (79). Another concern is that these diet modifications must be guided by

professionals, as the pandemic's psychosocial effects on eating behaviors are still unknown, potentially leading to aggravation of eating disorders (80).

Moderate- to vigorous-intensity aerobic exercises are also related to immunological benefits, mostly associated with the release of potent anti-inflammatory cytokines and to decrease of toll-like receptors (TLRs) expression, which are signals for macrophage recruitment and producing of pro-inflammatory cytokines (81). This could be even more helpful for individuals living in a chronic inflammatory status, such as those who have obesity and/or diabetes. Therefore, exercise could enhance long-term response to a vaccine, lower the risk, duration, and severity of the infection, and optimize lung function, avoiding uncontrolled lung inflammation (81).

Furthermore, postponed bariatric surgeries during the pandemic, as well as the follow-up of recently operated patients, might have provoked serious harm for these individuals (70). These surgeries have been related to reduced rates of diabetes, cardiovascular mortality, and cancer, which may also be helpful to avoid severe forms of COVID-19 (82). Hence, metabolic and weight monitoring should be maintained while waiting for the resumption of elective surgeries, and a consensus for prioritizing criteria should be established in order to lessen damages (70).

Regarding potential treatment options for COVID-19, non-pharmacological strategies in the first phase of COVID-19 (asymptomatic or mildly symptomatic individuals) are provisional and effective measures as specific drugs are still not available. Early case identification and isolation, rigorous glucose monitoring, and dose adjustment of antidiabetic drugs might be the best approaches to lessen adverse outcomes such as hypoglycemia, which might occur as a result of possible drug interactions with SARS-CoV-2 pathophysiology (74,83).

Despite this, no hypoglycemic medications except for insulin have had safety studies conducted for diabetes treatment in COVID-19, although some drugs are being tested in ongoing clinical trials (83-85).

Regarding the use of antihypertensive drugs such as ACE inhibitors (ACEi) and angiotensin receptor blockers (ARBs), and despite initial concerns that they could lead to a more aggressive presentation, a recent randomized multicenter trial named BRACE CORONA has shown that stopping these drugs does not reflect clinical benefit for those patients, so they should be maintained if indicated (86,87).

A hyperinflammatory state takes place in COVID-19 phase II with broader pulmonary involvement and hypoxia. The use of corticosteroids has been suggested for patients receiving respiratory support after findings in the RECOVERY study associated a dose of 6 mg/day of dexamethasone with reduced mortality and reduced necessity for mechanical ventilation (88).

Full anticoagulation in confirmed cases or with strong clinical suspicion of venous thromboembolism is already recommended, as well as prophylaxis for hospitalized patients (89). Prophylactic anticoagulation has also been considered at the disease phase I and after hospital discharge, taking into account the hypercoagulable state presented in COVID-19, as well as the anti-inflammatory effect of heparin (90).

Finally, oxygen supplementation measures, the prone position, and intensive care unit admission with ventilatory and hemodynamic support are adopted in phase III. Dialysis and extracorporeal membrane oxygenation may also be necessary in very severe patients (35).

CONCLUSIONS

COVID-19 and obesity are two pandemics which are capable of provoking fearful results when coinciding. Considering all the aspects discussed in this review, strategies to combat obesity are urgent. Several non-pharmacological and pharmacological measures are part of the therapeutic arsenal of obesity and its complications. Clinical treatment for severe COVID-19 is still challenging and developing specific treatments is needed. The best treatment while waiting for the vaccine is perhaps one which includes therapies to improve the metabolic and cardiovascular conditions of these patients in order to prevent the worsening of both diseases.

Acknowledgments: to all researchers and health professionals coping and dealing with COVID-19.

Funding statement, competing interests and any grants or fellowships supporting the writing of the paper: the authors declare no funding statements or competing interests regarding this article.

REFERENCES

1. Brandão SCS, Godoi ETA, Cordeiro LHO, Bezerra CS, Ramos JOX, Arruda GFA, et al. *Obesidade e Risco de COVID-19 Grave*. 1st ed.

- Recife, Brasil: Simone Brandão; 2020. 112 p. <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/37572#.XyRs2xUP-w0.whatsapp>
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-33.
 3. Behzad S, Aghaghazvini L, Radmard AR, Gholamrezanezhad A. Extrapulmonary manifestations of COVID-19: Radiologic and clinical overview. *Clin Imaging*. 2020;66:35-41.
 4. World Health Organization. Timeline of WHO's response to COVID-19 [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 26]. Available from: <https://www.who.int/news-room/detail/29-06-2020-covid-timeline>
 5. Brazilian Ministry of Health. Painel Coronavirus [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 12]. Available from: <https://covid.saude.gov.br>
 6. Brasil.IO: O Brasil em dados libertos [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 12]. Available from: <https://brasil.io/home/>
 7. Guidotti E, Ardia D. COVID-19 Data Hub. *J Open Source Softw*. 2020;5(51):2376.
 8. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-62.
 9. Tartof SY, Qian L, Hong V, Wei R, Nadjafi RF, Fischer H, et al. Obesity and Mortality Among Patients Diagnosed With COVID-19: Results From an Integrated Health Care Organization. *Ann Intern Med* [Internet]. 2020 Aug 12;M20-3742. Available from: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-3742>
 10. Villalobos JAC. Obesity: the real pandemic of the 21st century. *Cirugía y Cir (English Ed)*. 2016 Sep;84(5):351-5.
 11. World Health Organization. Obesity and Overweight [Internet]. 2020 [cited 2020 Jun 8]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
 12. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Mapa da obesidade [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 12]. Available from: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>.
 13. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, Raverdy V, Noulette J, Duhamel A, et al. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity*. 2020;28(7):1195-9.
 14. Gao F, Zheng KI, Wang X-B, Sun Q-F, Pan K-H, Wang T-Y, et al. Obesity Is a Risk Factor for Greater COVID-19 Severity. *Diabetes Care*. 2020 Jul;43(7):e72-4.
 15. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, Rajagopalan H, O'Donnell L, Chernyak Y, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ*. 2020 May 22;369:m1966.
 16. Palaiodimos L, Kokkinidis DG, Li W, Karamanis D, Ognibene J, Arora S, et al. Severe obesity, increasing age and male sex are independently associated with worse in-hospital outcomes, and higher in-hospital mortality, in a cohort of patients with COVID-19 in the Bronx, New York. *Metabolism*. 2020;108:154262.
 17. Lighter J, Phillips M, Hochman S, Sterling S, Johnson D, Francois F, et al. Obesity in Patients Younger Than 60 Years Is a Risk Factor for COVID-19 Hospital Admission. *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):896-7.
 18. Kass DA, Duggal P, Cingolani O. Obesity could shift severe COVID-19 disease to younger ages. *Lancet*. 2020;395(10236):1544-5.
 19. Baek WK, Sohn S-Y, Mahgoub A, Hage R. A Comprehensive Review of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Cureus*. 2020;12(5):e7943.
 20. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-4.
 21. Glowacka I, Bertram S, Muller MA, Allen P, Soilleux E, Pfefferle S, et al. Evidence that TMPRSS2 Activates the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein for Membrane Fusion and Reduces Viral Control by the Humoral Immune Response. *J Virol*. 2011;85(9):4122-34.
 22. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24(1):422.
 23. Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci*. 2020 May 26;117(21):11727-34.
 24. Li F. Receptor Recognition Mechanisms of Coronaviruses: a Decade of Structural Studies. Goff SP, editor. *J Virol*. 2015;89(4):1954-64.
 25. Raj S, Chandel V, Rathi B, Kumar D. Understanding the Molecular Mechanism(s) of SARS-CoV2 Infection and Propagation in Human to Discover Potential Preventive and Therapeutic Approach. *Coronaviruses*. 2020;1(1):73-81.
 26. Sawicki SG, Sawicki DL, Siddell SG. A Contemporary View of Coronavirus Transcription. *J Virol*. 2007;81(1):20-9.
 27. Guo Y-R, Cao Q-D, Hong Z-S, Tan Y-Y, Chen S-D, Jin H-J, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Mil Med Res*. 2020;7(1):11.
 28. Lavi E, Wang Q, Weiss SR, Gonatas NK. Syncytia Formation Induced by Coronavirus Infection Is Associated with Fragmentation and Rearrangement of the Golgi Apparatus. *Virology*. 1996;221(2):325-34.
 29. Banu N, Panikar SS, Leal LR, Leal AR. Protective role of ACE2 and its downregulation in SARS-CoV-2 infection leading to Macrophage Activation Syndrome: Therapeutic implications. *Life Sci*. 2020 Sep;256:117905.
 30. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the "Cytokine Storm" in COVID-19. *J Infect* [Internet]. 2020;80(2020):607-13. Available from: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(20\)30165-1/pdf](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(20)30165-1/pdf)
 31. Brandão SCS, Silva ETAGBB, Ramos JOX, Melo LMMP, Sarinho ESC. COVID-19, imunidade, endotélio e coagulação: compreenda a interação [Internet]. 1st ed. Recife; 2020. 65 p. Available from: https://drive.google.com/file/d/1FT54wfmEG9TJm5QFjnlpOAKJN_xbJRD/view
 32. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmun Rev*. 2020 Jun;19(6):102537.
 33. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endothelitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-8.
 34. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(2):120-8.
 35. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood*. 2020;135(23):2033-40.
 36. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, Rossi RS, Pellegrinelli A, Zerbi P, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2020 Oct;20(10):1135-40.
 37. Landecho MF, Tuero C, Valentí V, Bilbao I, de la Higuera M, Frühbeck G. Relevance of Leptin and Other Adipokines in Obesity-Associated Cardiovascular Risk. *Nutrients*. 2019;11(11):2664.
 38. Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE, et al. Influence of Obesity on Immune Function. *J Am Diet Assoc*. 1999;99(3):294-9.
 39. Ryan PM, Caplice NM. Is Adipose Tissue a Reservoir for Viral Spread, Immune Activation, and Cytokine Amplification in Coronavirus Disease 2019? *Obesity*. 2020;28(7):1191-4.
 40. Kruglikov IL, Scherer PE. The Role of Adipocytes and Adipocyte-Like Cells in the Severity of COVID-19 Infections. *Obesity*. 2020;28(7):1187-90.

41. Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*. 2017;4(4):851-63.
42. Castoldi A, Naffah de Souza C, Câmara NOS, Moraes-Vieira PM. The Macrophage Switch in Obesity Development. *Front Immunol*. 2016;6(637):1-11.
43. Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P. Circulating Mononuclear Cells in the Obese Are in a Proinflammatory State. *Circulation*. 2004;110(12):1564-71.
44. Chiappetta S, Sharma AM, Bottino V, Stier C. COVID-19 and the role of chronic inflammation in patients with obesity. *Int J Obes*. 2020;44(8):1790-2.
45. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Ragni M, Nisoli E. Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. *Eat Weight Disord - Stud Anorexia, Bulim Obes*. 2018;23(2):149-57.
46. Gutierrez DA, Puglisi MJ, Hasty AH. Impact of increased adipose tissue mass on inflammation, insulin resistance, and dyslipidemia. *Curr Diab Rep*. 2009;9(1):26-32.
47. Ramalingam L, Menikdiwela K, LeMieux M, Dufour JM, Kaur G, Kalupahana N, et al. The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(5):1106-14.
48. Underwood PC, Adler GK. The Renin Angiotensin Aldosterone System and Insulin Resistance in Humans. *Curr Hypertens Rep*. 2013;15(1):59-70.
49. Henriksen EJ, Prasannarong M. The role of the renin-angiotensin system in the development of insulin resistance in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol [Internet]*. 2013;378(1-2):15-22. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030372071200264X>
50. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong J-C, Turner AJ, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System. *Circ Res*. 2020;126(10):1456-74.
51. Mori J, Oudit GY, Lopaschuk GD. SARS-CoV-2 perturbs the renin-angiotensin system and energy metabolism. *Am J Physiol Metab*. 2020;319(1):E43-7.
52. Melo LC, Silva MAM da, Calles AC do N. Obesity and lung function: a systematic review. *Einstein (São Paulo)*. 2014;12(1):120-5.
53. Rasslan Z, Stirbulov R, Lima CAC, Saad Júnior R. Função pulmonar e obesidade. *Rev Bras Clin Med*. 2009;7:36-9.
54. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, Jacobson SD, Meyer BJ, Balough EM, et al. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10239):1763-70.
55. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020;323(20):2052.
56. Watanabe M, Tozzi R, Risi R, Tuccinardi D, Mariani S, Basciani S, et al. Beneficial effects of the ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of the literature. *Obes Rev*. 2020;21(8):e13024.
57. Marongiu F, Grandone E, Barcellona D. Pulmonary thrombosis in 2019-nCoV pneumonia? *J Thromb Haemost*. 2020;18(6):1511-3.
58. Liu C, Xu HY, Liu DX. Induction of Caspase-Dependent Apoptosis in Cultured Cells by the Avian Coronavirus Infectious Bronchitis Virus. *J Virol*. 2001;75(14):6402-9.
59. Lindahl SGE. Using the prone position could help to combat the development of fast hypoxia in some patients with COVID-19. *Acta Paediatr*. 2020;109(8):1539-44.
60. Bhatheja S, Panchal HB, Ventura H, Paul TK. Obesity Cardiomyopathy: Pathophysiologic Factors and Nosologic Reevaluation. *Am J Med Sci*. 2016;352(2):219-22.
61. Seravalle G, Grassi G. Obesity and hypertension. *Pharmacol Res*. 2017 Aug;122:1-7.
62. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2020;14(3):247-50.
63. Madjid M, Safavi-Naeini P, Solomon SD, Vardeny O. Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System. *JAMA Cardiol*. 2020;5(7):831.
64. Buja LM, Wolf DA, Zhao B, Akkanti B, McDonald M, Lelenwa L, et al. The emerging spectrum of cardiopulmonary pathology of the coronavirus disease 2019 (COVID-19): Report of 3 autopsies from Houston, Texas, and review of autopsy findings from other United States cities. *Cardiovasc Pathol [Internet]*. 2020;48:107233. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1054880720300375>
65. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev [Internet]*. 2018;98(4):2133-223. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00063.2017>
66. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-20.
67. Drucker DJ. Coronavirus Infections and Type 2 Diabetes – Shared Pathways with Therapeutic Implications. *Endocr Rev*. 2020;41(3):457-70.
68. Zheng KI, Gao F, Wang X-B, Sun Q-F, Pan K-H, Wang T-Y, et al. Letter to the Editor: Obesity as a risk factor for greater severity of COVID-19 in patients with metabolic associated fatty liver disease. *Metabolism*. 2020;108:154244.
69. Eslam M, Sanyal AJ, George J, Sanyal A, Neuschwander-Tetri B, Tiribelli C, et al. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1999-2014.e1.
70. Rubino F, Cohen R V, Mingrone G, le Roux CW, Mechanick JI, Arterburn DE, et al. Bariatric and metabolic surgery during and after the COVID-19 pandemic: DSS recommendations for management of surgical candidates and postoperative patients and prioritisation of access to surgery. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(7):640-8.
71. Lakkis JI, Weir MR. Obesity and Kidney Disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 2018;61(2):157-67.
72. Pereira MR, Mohan S, Cohen DJ, Husain SA, Dube GK, Ratner LE, et al. COVID-19 in solid organ transplant recipients: Initial report from the US epicenter. *Am J Transplant*. 2020;20(7):1800-8.
73. Corum J, Wee S-L, Zimmer C. Coronavirus Vaccine Tracker [Internet]. *The New York Times*. 2020 [cited 2020 Sep 25]. Available from: <https://www.nytimes.com/interactive/2020/science/coronavirus-vaccine-tracker.html>
74. Uddin M, Mustafa F, Rizvi TA, Loney T, Al Suwaidi H, Al-Marzouqi AHH, et al. SARS-CoV-2/COVID-19: Viral Genomics, Epidemiology, Vaccines, and Therapeutic Interventions. *Viruses*. 2020;12(5):526.
75. Zhou Y, Chi J, Lv W, Wang Y. Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). *Diabetes Metab Res Rev [Internet]*. 2020:e3377. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dmrr.3377>
76. Popkin BM, Du S, Green WD, Beck MA, Algaith T, Herbst CH, et al. Individuals with obesity and COVID-19: A global perspective on the epidemiology and biological relationships. *Obes Rev*. 2020;21(11):e13128.
77. Bruci A, Tuccinardi D, Tozzi R, Balena A, Santucci S, Frontani R, et al. Very Low-Calorie Ketogenic Diet: A Safe and Effective Tool for Weight Loss in Patients with Obesity and Mild Kidney Failure. *Nutrients*. 2020;12(2):333.
78. Lockhart SM, O'Rahilly S. When Two Pandemics Meet: Why Is Obesity Associated with Increased COVID-19 Mortality? *Med*

- [Internet]. 2020 Jun; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666634020300106>.
79. Halpern B, Mancini MC. Controlled obesity status: a rarely used concept, but with particular importance in the COVID-19 pandemic and beyond. *J Endocrinol Invest* [Internet]. 2020 Aug 29; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40618-020-01389-0>.
 80. Khosravi M. The challenges ahead for patients with feeding and eating disorders during the COVID-19 pandemic. *J Eat Disord*. 2020;8(1):43.
 81. Zbinden-Foncea H, Francaux M, Deldicque L, Hawley JA. Does High Cardiorespiratory Fitness Confer Some Protection Against Proinflammatory Responses After Infection by SARS-CoV-2? *Obesity*. 2020;28(8):1378-81.
 82. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Ahlin S, Andersson-Assarsson J, Anveden Å, et al. Association of Bariatric Surgery With Long-term Remission of Type 2 Diabetes and With Microvascular and Macrovascular Complications. *JAMA*. 2014;311(22):2297.
 83. Hussain A, Bhowmik B, do Vale Moreira NC. COVID-19 and diabetes: Knowledge in progress. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;162:108142.
 84. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J*. 2020;41(2):255-323.
 85. Lotfi M, Hamblin MR, Rezaei N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clin Chim Acta*. 2020;508:254-66.
 86. Lopes RD, Macedo AVS, de Barros e Silva PGM, Moll-Bernardes RJ, Feldman A, D'Andréa Saba Arruda G, et al. Continuing versus suspending angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: Impact on adverse outcomes in hospitalized patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) – The BRACE CORONA Trial. *Am Heart J*. 2020;226:49-59.
 87. The European Society of Cardiology Press Office. First randomised trial backs safety of common heart drugs in COVID-19 patients [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 23]. Available from: <https://www.escardio.org/The-ESC/Press-Office/Press-releases/LOPES>.
 88. The RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 – Preliminary Report. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Jul 17;1-11. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2021436>.
 89. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020;191:145-7.
 90. Moores LK, Tritschler T, Brosnahan S, Carrier M, Collen JF, Doerschug K, et al. Prevention, Diagnosis, and Treatment of VTE in Patients With Coronavirus Disease 2019. *Chest* [Internet]. 2020;158(3):1143-63. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369220316251>.

ANEXO D – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO DA OBESIDADE NA EVOLUÇÃO DA COVID-19 GRAVE

Pesquisador: Simone Cristina Soares Brandão

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34736620.6.0000.8807

Instituição Proponente: EMPRESA BRASILEIRA DE SERVICOS HOSPITALARES - EBSERH

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.165.300

Apresentação do Projeto:

Embora muitos aspectos da doença ainda não foram elucidados, o pior prognóstico da COVID-19 está intimamente relacionado à faixa etária avançada e à presença de comorbidades. A obesidade e a síndrome metabólica têm sido associadas a quadros graves, inclusive em pacientes jovens, observando-se aumento da admissão hospitalar e de cuidados intensivos.

A obesidade está associada a um estado de inflamação crônica e depressão da imunidade. Dessa maneira, pode-se sugerir que a obesidade atua como fator de risco independente para quadros graves de COVID-19. A hipótese do estudo é que há associação entre obesidade e pior prognóstico de pacientes com COVID-19.

Trata-se de estudo prospectivo, analítico, observacional, multicêntrico em que serão estudados pacientes hospitalizados com COVID-19 nos serviços do HC-UFPE, IMIP, HBL e HAM e comparados desfechos clínicos, laboratoriais e de imagem (radiológicos e de ultrasonografia) de acordo com a presença ou não de obesidade. Também haverá uma parte retrospectiva, onde serão acessadas informações em prontuário dos pacientes que foram hospitalizados nas instituições participantes.

Crterios de inclusão

Pacientes adultos (a partir de 18 anos) admitidos com quadro respiratório nas unidades terapia intensiva ou enfermarias devido à COVID-19.

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cep@ufpe@gmail.com

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



Continuação do Parecer: 4.165.300

Pacientes com diagnóstico clínico de acúmulo excessivo de gordura, enquadrando-se no critério de sobrepeso ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$).

Não está claro se serão incluídos pacientes não obesos pois nas premissas consta a comparação entre indivíduos obesos e não obesos.

Crêterios de exclusão

Pacientes com quadro comprovado de outras doenças inflamatórias ou infecciosas pulmonares não associados a pneumoni viral por SARS-CoV-2; Gestantes; Pacientes menores de 18 anos.

Serão analisados:

Sinais vitais admissionais e no seguimento do paciente

Dados clínicos e de comorbidades

Uso de medicação

Marcadores bioquímicos hemáticos de inflamação

Gasometria arterial e exames bioquímicos de sangue

Exames de imagem - ultrasonografia de abdome e para avaliação do Complexo Médio Intimal de carótidas e tomografia computadorizada de tórax

Escores prognósticos.

A maioria dos exames é realizada de rotina no atendimento de pacientes a serem incluídos.

Os autores declaram que pretendem estudar 100 pacientes (metade internados em enfermaria e metade em UTI) mas que não há cálculo amostral pois a duração da coleta de dados por um ano a partir do início da pesquisa é o marco definidor da amostra.

Objetivo da Pesquisa:

Geral

Avaliar o impacto da obesidade na evolução clínica de pacientes com quadros graves de COVID-19

Específicos

Avaliar se a obesidade é um fator de risco independente de morte na COVID-19.

Associar o grau do IMC com desfechos clínicos, tipo morte, necessidade de ventilação mecânica, hemodiálise, uso de drogas vasoativas, insulina e eventos tromboembólicos, em pacientes com COVID-19 hospitalizados.

Correlacionar a gravidade e a evolução da SRAG nos pacientes obesos com COVID-19 através de dados clínicos, laboratoriais e de imagem.

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephoufpe@gmail.com

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



Continuação do Parecer: 4.165.300

Avaliar associação de disfunções orgânicas nos pacientes obesos com COVID-19 através do cálculo de escores de gravidade como o Simplified Acute Physiology Score III (SAPS3) e o Sequential Organ Failure Assessment (SOFA).

Correlacionar os achados clínicos, laboratoriais e os escores (ISTH score e o H-score) com o estado pró-inflamatório e pró-coagulante da infecção por COVID-19 e sua relação com a obesidade visceral.

Demonstrar, através de exames de imagem e laboratoriais, possíveis correlações envolvendo a deposição de gordura visceral e subcutânea com quadros graves de COVID-19.

Caracterizar, através de tomografia computadorizada e ultrassonografia, a presença de possíveis alterações abdominais relacionadas a COVID-19, incluindo manifestações hepáticas, biliares, linfáticas e de alçasintestinais, bem como derrames cavitários e outros possíveis achados e comparar a frequência destas alterações de acordo com o IMC.

Correlacionar os achados tomográficos de SRAG de acordo com as fases da COVID-19.

Sugerir protocolos e outras ferramentas que possam incluir os avanços tecnológicos em prol de tornar mais fácil, precoce e exato o diagnóstico das patologias envolvidas.

Estabelecer o perfil sociodemográfico dos pacientes internados em unidades de terapia intensiva/enfermaria com COVID-19.

Avaliar através de exames laboratoriais as características da coagulação dos pacientes obesos com COVID-19.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos

Serão analisados os dados referentes às aquisições de imagem e exames laboratoriais já previamente solicitados pelo médico assistente no manejo clínico, além de dados de prontuários. A ultrassonografia oferecida aos pacientes que aceitarem participar do estudo prospectivo é considerada inócua e não utiliza radiação. Os pacientes envolvidos não serão expostos a riscos pela equipe de pesquisa.

Benefícios para os indivíduos

A participação no estudo ajudará no desenvolvimento de novos conhecimentos, que poderão eventualmente beneficiar o paciente e outras pessoas no futuro.

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cephoufpe@gmail.com

**UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE**



Continuação do Parecer: 4.165.300

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nenhum

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nenhuma

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1588292.pdf	16/07/2020 13:49:44		Aceito
Outros	CARTARESPOSTA.pdf	16/07/2020 13:47:15	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEIMPACTOCOVIdajust.doc	16/07/2020 13:46:10	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOIMPACTOCOVIdajust.doc	16/07/2020 13:42:03	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	ANUENCIARADIOHC.pdf	16/07/2020 13:41:22	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	FormularioEBSERH.doc	07/07/2020 12:24:35	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	CartadeapresentacaoCOVIdSIMONE.pdf	07/07/2020 12:23:45	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	FICHADEPESQUISA.docx	07/07/2020 12:20:13	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	FORMULARIOUSG.docx	07/07/2020 12:18:44	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	cartaSAMEsimoneassinada.pdf	07/07/2020 12:16:51	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	TERMODECOMPROMISSOSIMONE.pdf	07/07/2020 12:13:25	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	TermodecompromissoeconfidencialidadeCOVID.pdf	07/07/2020 12:11:25	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	ANUENCIAHAM.pdf	07/07/2020	Simone Cristina	Aceito

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephoufpe@gmail.com

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



Continuação do Parecer: 4.165.300

Outros	ANUENCIAHAM.pdf	12:09:38	Soares Brandão	Aceito
Outros	ANUENCIAHBL.pdf	07/07/2020 12:08:31	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	ANUENCIAIMPCOVID .pdf	07/07/2020 12:07:56	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	ANUENCIAUTIHC .pdf	07/07/2020 12:07:14	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	ANUENCIAENFERMARIAHC .pdf	07/07/2020 12:06:37	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTOassinada.pdf	07/07/2020 12:05:37	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	curriculoEsdras.pdf	03/07/2020 00:52:20	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesGabriela.pdf	03/07/2020 00:50:59	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesGustavo.pdf	03/07/2020 00:49:54	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesJulia.pdf	03/07/2020 00:49:19	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesThais.pdf	03/07/2020 00:48:55	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesLucia.pdf	03/07/2020 00:48:29	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesVanessa.pdf	03/07/2020 00:47:46	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesEmmanuelle.pdf	03/07/2020 00:42:56	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesAlice.pdf	03/07/2020 00:42:29	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesSimone.pdf	03/07/2020 00:38:46	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito
Outros	lattesCamila.pdf	03/07/2020 00:38:17	Simone Cristina Soares Brandão	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cephoufpe@gmail.com

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



Continuação do Parecer: 4.165.300

RECIFE, 21 de Julho de 2020

Assinado por:
José Ângelo Rizzo
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cephoutpe@gmail.com