UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS

LAENE DE SOUSA RIBEIRO

# PERFIS INFLAMATÓRIOS AGUDOS COMO PREDITORES DE FUNÇÃO PULMONAR TARDIA EM SOBREVIVENTES DA COVID-19: UMA ANÁLISE DE CLUSTERS COM SEGUIMENTO DE 12 MESES

CRICIÚMA, JULHO DE 2025

**LAENE DE SOUSA RIBEIRO**

# PERFIS INFLAMATÓRIOS AGUDOS COMO PREDITORES DE FUNÇÃO PULMONAR TARDIA EM SOBREVIVENTES DA COVID-19: UMA ANÁLISE DE CLUSTERS COM SEGUIMENTO DE 12 MESES

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol

**CRICIÚMA, JULHO DE 2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R484p Ribeiro, Laene de Sousa.
Perfis inflamatórios agudos como preditores de função pulmonar tardia em sobreviventes da COVID-19 : uma análise de clusters com seguimento de 12 meses / Laene de Sousa Ribeiro. – 2025.
50 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.
Orientação: Felipe Dal Pizzol.

1. Síndrome de pós-COVID-19 aguda. 2. Testes de função respiratória. 3. Pulmões -Doenças - Diagnóstico. 4. Inflamação. I. Título.

CDD. 22. ed. 616.91

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla – CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

unesc

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC**
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO**
**DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)**
**Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019**

## ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 474

Com início às 9 (nove) horas do dia 16 (dezesseis) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 225/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **LAENE DE SOUSA RIBEIRO**, sob a orientação do **Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol**, intitulada **"PERFIS INFLAMATÓRIOS AGUDOS COMO PREDITORES DE FUNÇÃO PULMONAR TARDIA EM SOBREVIVENTES DA COVID-19: UMA ANÁLISE DE CLUSTERS COM SEGUIMENTO DE 12 MESES".** A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Fabricia Cardoso Petronilho (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada, Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada, e Profa. Dra. Rahisa Scussel (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada. Com o resultado final: APROVADA, a aluna finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 11h (onze) horas, dos quais eu, Henrique Manenti Felisberto, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 16 (dezesseis) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco).

Josiane Budni
**Profa. Dra. Josiane Budni**
**Coordenadora do PPGCS**

**Henrique Manenti Felisberto**
**Secretário do PPGCS**

## RESUMO

A pandemia da COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, resultou em um expressivo número de casos graves que exigiram hospitalização e suporte ventilatório. Observa-se, em muitos sobreviventes, a persistência de sintomas e sequelas pulmonares duradouras, caracterizando a síndrome pós-COVID ou COVID longa. Neste contexto, este estudo teve como objetivo investigar se perfis inflamatórios agudos, determinados por citocinas pró-inflamatórias do tipo Th1, Th2 e Th17, poderiam predizer desfechos de função pulmonar em pacientes hospitalizados por COVID-19, acompanhados por um ano após a alta. Trata-se de uma coorte prospectiva com 59 pacientes hospitalizados entre junho e novembro de 2020, em um hospital terciário no sul do Brasil. Durante a internação, foram coletadas amostras de sangue para dosagem de 65 biomarcadores inflamatórios. A análise de cluster por *k-means*, baseada em 13 citocinas representativas das respostas Th1, Th2 e Th17, identificou dois perfis distintos de pacientes: $T^{High}$ (32%) com biomarcadores inflamatórios elevados e $T^{Low}$ (68%) com níveis mais baixos. Avaliações funcionais pulmonares foram realizadas por pletismografia aos 6 e 12 meses da alta. A análise multivariada revelou que o cluster $T^{High}$ apresentou pior desempenho na difusão pulmonar (DLCO) aos 12 meses ($\beta = -6{,}77$). O escore SOFA também foi um preditor negativo independente para DLCO ($\beta = -1{,}42$). Entretanto, a capacidade pulmonar total (CPT) foi paradoxalmente maior no grupo $T^{High}$ ($\beta = +4{,}60$). O volume expiratório forçado (VEF1) teve uma correlação positiva com índice de comorbidades de Charlson (CCI), e a pressão inspiratória máxima (PImáx) foi menor no sexo feminino ($\beta = -8{,}52$). Este estudo aponta que a resposta inflamatória exacerbada, está associada à redução da capacidade de difusão pulmonar no longo prazo, reforçando o papel dos biomarcadores inflamatórios como ferramentas preditoras de prognóstico funcional a longo prazo. A identificação precoce desses perfis pode ser estratégica para o direcionamento terapêutico e reabilitação em sobreviventes da COVID-19.



**Palavras-chave**: COVID-19 pós-aguda; Pós-COVID; COVID-longa; Biomarcadores inflamatórios; Clusters inflamatórios; Função pulmonar.

## ABSTRACT

The COVID-19 pandemic, caused by SARS-CoV-2, resulted in a significant number of severe cases requiring hospitalization and ventilatory support. Many survivors experience persistent symptoms and long-lasting pulmonary sequelae, characterizing the post-COVID syndrome or long COVID. In this context, the present study aimed to investigate whether acute inflammatory profiles, determined by Th1, Th2, and Th17 pro-inflammatory cytokines, could predict pulmonary function outcomes in patients hospitalized for COVID-19, followed for one year after discharge. This is a prospective cohort study involving 59 patients hospitalized between June and November 2020 at a tertiary hospital in southern Brazil. During hospitalization, blood samples were collected to measure 65 inflammatory biomarkers. A k-means cluster analysis, based on 13 cytokines representative of Th1, Th2, and Th17 responses, identified two distinct patient profiles: $T^{High}$ (32%) with elevated inflammatory biomarkers and $T^{Low}$ (68%) with lower levels. Pulmonary functional evaluations were performed using plethysmography at 6 and 12 months post-discharge. Multivariate analysis revealed that the $T^{High}$ cluster exhibited worse performance in lung diffusion capacity (DLCO) at 12 months ($\beta = -6.77$). The SOFA score was also an independent negative predictor for DLCO ($\beta = -1.42$). However, total lung capacity (TLC) was paradoxically higher in the $T^{High}$ group ($\beta = +4.60$). Forced expiratory volume (FEV1) showed a positive correlation with the Charlson comorbidity index (CCI), and maximal inspiratory pressure (MIP) was lower in females ($\beta = -8.52$). This study highlights that an exacerbated inflammatory response is associated with a reduction in long-term lung diffusion capacity, underscoring the role of inflammatory biomarkers as prognostic tools for long-term functional outcomes. Early identification of these profiles may be strategic for guiding therapeutic and rehabilitation approaches in COVID-19 survivors.



**Keywords:** Post-acute COVID-19; Post-COVID; Long COVID; Inflammatory biomarkers; Inflammatory clusters; Pulmonary function.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| ACE2 | Receptor da enzima conversora de angiotensina 2 |
| ALT | Alanina aminotransferase |
| AST | Aspartato aminotransferase |
| AVC | Acidente vascular cerebral |
| AVD | Atividades de vida diária |
| BNP | Peptídeo natriurético cerebral |
| CCI | Índice de comorbidades de Charlson |
| CKMB | Creatinafosfoquinase-MB |
| CoV | Coronavírus |
| COVID-19 | do inglês: Coronavírus Disease 2019 |
| CPT | Capacidade pulmonar total |
| CVL | Capacidade vital lenta |
| CVF | Capacidade vital forçada |
| DHL | Desidrogenase lática |
| DLCO | Capacidade de difusão de monóxido de carbono |
| G-CSF | Fator estimulante de colônias para granulócitos |
| GM-CSF | Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos |
| HIV | Vírus da imunodeficiência humana |
| IFN-γ | Interferon gama |
| IL | Interleucina |
| IMC | Índice de massa corporal |
| LAD | Lesão alveolar difusa |
| MCP | Proteína quimioatrativa de monócitos |
| MERS-CoV | Síndrome Respiratória do Oriente Médio (do inglês, Middle East Respiratory Syndrome) |
| MIP | Proteína inflamatória do macrófago |
| MRC | do inglês: *Medical Research Council* |
| NRP1 | Neuropilina-1 |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PCR | Proteina C-reativa |
| PCT | Procalcitonina |
| PEmáx | Pressão expiratória máxima |

| | |
|---|---|
| PImáx | Pressão inspiratória máxima |
| PINE | Pneumonia intersticial não específica |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| SAPS III | Pontuação simplificada de fisiologia aguda 3 (do inglês, *Simplified Acute Physiology Score 3*) |
| SARS-CoV | Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*) |
| SARS-CoV-2 | Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus-2 (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2*) |
| SDRA | Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo |
| SOFA | Avaliação sequencial de falência orgânica (do inglês, *Sequential Organ Failure Assessment*) |
| SPC | Síndrome Pós-COVID |
| SRAA | Sistema renina-angiotensina-aldosterona |
| TCLE | Termo de consentimento livre e esclarecido |
| TEPT | Transtorno de estresse pós-traumático |
| TMPRSS-2 | Protease transmembrana de serina 2 |
| TNF- α | Fator de necrose tumoral tipo alfa |
| UTI | Unidades de Terapia Intensiva |
| VEF1 | Volume expiratório forçado no primeiro segundo |

**SUMÁRIO**

***1 INTRODUÇÃO ..... 10***
1.1 ASPECTOS GERAIS ..... 10
1.2 FISIOPATOLOGIA DO COVID ..... 10
**1.2.1 Resposta Imune Inata no COVID-19 ..... 12**
1.3 MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS ..... 14
1.4 COVID LONGA ..... 16
**1.4.1 Comprometimento pulmonar ..... 18**
**1.4.2 Marcadores inflamatórios ..... 19**
***2. OBJETIVOS ..... 22***
2.1 OBJETIVO GERAL ..... 22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 22
***3. MATERIAIS E MÉTODOS ..... 23***
3.1 DESENHO DO ESTUDO ..... 23
3.2 LOCAL DO ESTUDO ..... 23
3.3 POPULAÇÃO ..... 23
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO ..... 23
3.5 DESFECHOS ..... 24
3.6 PROCEDIMENTOS ..... 24
**3.6.1 Durante a internação hospitalar ..... 24**
**3.6.2 Seguimento a longo prazo ..... 28**
**3.6.3 Pletismografia pulmonar com medida de difusão de monóxido de carbono ..... 29**
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA ..... 29
***4. RESULTADOS ..... 31***
***5. DISCUSSÃO ..... 40***
***6. CONCLUSÃO ..... 45***
***REFERÊNCIAS ..... 46***

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ASPECTOS GERAIS

Os coronavírus são vírus de RNA de cadeia simples, envelopado, não segmentado e encapsulado, que pertence à ordem *Nidovirales* na família Coronaviridae e subfamília Orthocoronaviridae, que é subdividida em quatro gêneros: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus e Delta coronavírus. Os coronavírus podem infectar muitos animais e causar infecções em humanos (Mohamadian et al., 2021; Seyed Hosseini et al., 2020).

Dois coronavírus de origem zoonótica foram identificados como causadores de doenças respiratórias em humanos em 2002 e 2012. O SARS-CoV (coronavírus da síndrome respiratória aguda grave) identificado em 2002 e o MERS-CoV (coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio) identificado em 2012 causaram epidemias com taxas de mortalidade aproximadamente 9,5% e 34,4%, respectivamente (Hu et al., 2021; Mohamadian et al., 2021).

Em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na China, ocorreu um surto de pneumonia viral incomum que rapidamente se espalhou pelo mundo, levando a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarar esse surto como uma pandemia em março de 2020. Após surgir vários casos de pneumonia viral, um grupo de cientistas chineses avaliaram esses casos e detectaram que esse quadro era devido uma nova cepa do betacoronavírus, posteriormente chamado de SARS-CoV-2, nomeado pela OMS como doença do COVID-19(Hu et al., 2021b; Mohamadian et al., 2021).

A maioria dos casos de COVID-19 foram vinculados, inicialmente, a um mercado no centro de Wuhan, que vendia frutos do mar e animais selvagens vivos, incluindo espécies de alto risco como civetas e cães-guaxinins (Holmes et al., 2021; Seyed Hosseini et al., 2020). Após a identificação dos casos relacionados ao mercado de Wuhan, foram relatados vários grupos familiares infectados, além de casos de infecção hospitalar em unidades de saúde, evidenciando a transmissão do novo vírus de humano para humano (Hu et al., 2021).

## 1.2 FISIOPATOLOGIA DA COVID-19

A fisiopatologia da COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, é muito complexa e envolve uma série de mecanismos que afetam múltiplos sistemas do organismo. Isso ocorre por toxicidade direta do vírus, lesão endotelial celular, tromboinflamação e desregulação da resposta imune e do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA)(Salette Rincón et al., 2021).

O SARS-CoV-2 tem um tropismo pelo trato respiratório devido a alta quantidade de receptores ACE2 (receptor da enzima conversora de angiotensina 2) nas células epiteliais nasal e brônquica e nos pneumócitos alveolares do tipo II (Salette Rincón et al., 2021). O SARS-CoV-2 apresenta quatro proteínas estruturais conhecidas como glicoproteína Spike (S), proteína de membrana ou matriz (M), nucleocapsídeo (N) e proteínas do pequeno envelope (E). Para que ocorra a invasão da célula hospedeira e a infecção, a proteína S liga-se ao receptor ACE2. Nesse momento, ocorrem alterações conformacionais na subunidade S1 da proteína S, expondo o sítio polibáscio de clivagem S2', que é clivado por diferentes proteases, dependendo a via de entrada do SARS-CoV-2. (Jackson et al., 2022; Katz-Agranov; Zandman-Goddard, 2021; Mohamadian et al., 2021). Esse receptor, além de ser expresso no epitélio dos pulmões, também é expresso em artérias, coração, rins, intestinos, células de Leydig e no tecido nervoso (Mohamadian et al., 2021).

No processo de infecção ocorre uma modificação estrutural da proteína S, envolvendo um processo de clivagem da proteína S na fronteira entre as subunidades S1 e S2, desde a sua ligação no receptor até a fusão da membrana, através da clivagem por furina. Além da clivagem por furina, a clivagem total de S1/S2 ocorre por outras enzimas. Além disso, o sítio S2' na proteína S precisa sofrer clivagem por serina protease transmembrana tipo 2 (TMPRSS-2). A clivagem de S2 é importante para estimular a fusão do SARS-CoV-2 à membrana da célula alvo, levando sua ligação ao receptor ACE-2. Além da interação SARS-CoV-2 com o receptor ACE-2, pode ocorrer interação com a neuropilina-1 (NRP1), proteína de membrana expressa em alta quantidade nos epitélios voltados para o ambiente externo(Hu et al., 2021; Jackson et al., 2022; Mohamadian et al., 2021).

Quando o SARS-CoV-2 entra nas células epiteliais alveolares e interage com os vasos sanguíneos, há uma ativação da imunidade inata do hospedeiro causando uma liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, conhecida como "tempestade de citocinas" (Katz-Agranov; Zandman-Goddard, 2021; Merad et al., 2022; Monje; Iwasaki, 2022).

Tais citocinas recrutam células do sistema imune para os tecidos infectados aumentando a expressão do fator tecidual nas células endoteliais vasculares e nos macrófagos e monócitos. O fator tecidual ativa a cascata de coagulação formando coágulos de fibrina de maneira disseminada (Iba et al., 2020).

Ao infectar as células alveolares há uma ruptura do epitélio, gerando a fase exsudativa e lesão alveolar difusa (LAD), consequentemente, há um desequilíbrio entre a ativação da cascata de coagulação e a inibição da fibrinólise, levando a formação de membranas hialinas e exsudatos ricos em fibrina. Há também a formação de trombos de fibrina nos pequenos vasos arteriais. Na fase pró-trombótica, ou também chamada de imunotrombose, as células imunes (principalmente os neutrófilos) ativam as plaquetas e fatores da cascata de coagulação gerando um quadro de coagulopatia e trombose (Iba et al., 2020).

### 1.2.1 Resposta Imune Inata na COVID-19

A resposta imune inata constitui a primeira linha de defesa do organismo frente à infecção por patógenos, sendo importante na contenção inicial da entrada, tradução, replicação e montagem viral. Também atua na detecção e eliminação de células infectadas, promovendo a ativação e modulação da resposta imune adaptativa subsequente. Contudo, a ativação exacerbada da imunidade inata pode resultar em inflamação sistêmica descontrolada e contribuir para formas clínicas graves da doença (Leal et al., 2024; Mesquita Júnior et al., 2010).

A “tempestade de citocinas” provocada pelo SARS-CoV-2, ativa estas respostas imunes inata e adaptativa através da liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias e pela ativação de subconjuntos de células T. Ao infectar o organismo, primeiramente é ativado a imunidade inata por meio de barreiras físicas (pele e mucosas do trato respiratório e gastrintestinal), peptídeos antimicrobianos secretados por células epiteliais e leucócitos, macrófagos teciduais, neutrófilos, monócitos, mastócitos e células dendríticas. Além disso, ocorre uma defesa inata antiviral com liberação de IFN-α secretado pelas células infectadas, e pelas células *Natural Killer* (NK) com degranulação de seus grânulos citotóxicos e secreção de IFN-γ (principal citocina ativadora de macrófago) (Leal et al., 2024).

Nesse contexto, a “tempestade de citocinas” geram a liberação de múltiplas citocinas como, interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-17), proteínas

quimiotáticas (MCP – proteína quimioatrativa de monócitos), fatores de necrose tumoral (TNF-α), além de quimiocinas como IP-10 e MCP-1, e fatores estimulantes de colônias para granulócitos (G-CSF) e fatores estimulantes de colônias para granulócitos e macrófagos (GM-CSF), que amplificam a resposta inflamatória. Esse desequilíbrio imunológico contribui para disfunções graves nos sistemas orgânicos, frequentemente resultando em falência múltipla de órgãos e comprometimento sistêmico severo, agravando o quadro clínico dos pacientes (Katz-Agranov; Zandman-Goddard, 2021; Merad et al., 2022; Monje; Iwasaki, 2022).

Quando a defesa inicial da imunidade inata não tem êxito na eliminação do invasor, a imunidade adquirida é ativada, através das células T auxiliares (Th) CD4+ e T citotóxicas CD8+. As células CD4+ são importantes porque ativam as células CD8+ (pela secreção de IL-2), macrófagos (pela secreção de IFN-γ) e células B, e tem um papel na síntese de citocinas e quimiocinas que favorecem o recrutamento de leucócitos. As células CD8+ são importantes devido a citotoxicidade específica (granzimas e perforinas) contra as células infectadas (Leal et al., 2024).

Existem subconjuntos distintos de células Th CD4+, incluindo Th1, Th2 e Th17 e células T reguladoras, ativadas por um conjunto específico de citocinas e fatores de transcrição e caracterizada pelas citocinas que secretam e pelas funções efetores que desempenham (Paes Gomes, 2023).

As células Th1 desempenham papel importante na identificação e erradicação de patógenos intracelulares, como vírus e bactérias. A resposta Th1 é caracterizada pela produção de IFN-γ e IL-12 responsáveis pela diferenciação das células Th1. As citocinas secretadas por Th1 são IFNγ, TNFα, GM-CSF, IL3, LTα , LTβ, CXCR3, CCL2, IL2, IL10. Em contraste, as células Th2, ajudam a reconhecer patógenos extracelulares, e ativam a resposta imune humoral, ou mediada por anticorpos, recrutando células B para produzir anticorpos que podem neutralizar ou destruir patógenos. As células Th2 mediam essas funções produzindo citocinas, como IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13 e IL17E (IL-25). Estas citocinas ajudam a ativar as células B e eosinófilos e inibir diversas funções dos macrófagos. Além disso, neutralizam as respostas Th1 que permitem a responsividade da Th2 à IL-4. As células Th17 também tem papel na resposta imune contra patógenos extracelulares, principalmente nas barreiras mucosas e epiteliais, e na patogênese de diversas doenças autoimunes, sendo seus mediadores de diferenciação, TGFβ em combinação com IL-6 ou IL-21 (Leal et al., 2024).

Esse estado hiperinflamatório causado pelo SARS-CoV-2 gera todas estas alterações citadas, culminando com o comprometimento multi-órgãos, e consequentemente a falência múltipla de órgãos (Merad et al., 2022).

## 1.3 MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS

A infecção pelo SARS-CoV-2 pode se manifestar de diversas formas, desde quadros assintomáticos ou leves, até quadros graves de insuficiência respiratória e morte. É durante a tempestade de citocinas que os pacientes podem evoluir com síndrome do desconforto respiratório agudo, disfunção múltipla de órgãos e morte(Cruz et al., 2024; Hu et al., 2021).

Devido a grande quantidade de ACE-2 no tecido pulmonar, as manifestações respiratórias são comuns. No entanto, esses receptores também estão presentes em outros órgãos, como coração, fígado, rim, baço, trato gastrointestinal, células endoteliais artérias e venosas, entre outros, justificando o comprometimento multi-órgãos na COVID-19, conforme mostra na figura 1 (Crook et al., 2021; Katz-Agranov; Zandman-Goddard, 2021; Mohamadian et al., 2021).

As crianças geralmente são assintomáticas ou oligossintomáticas, enquanto os idosos e portadores de comorbidades como hipertensão arterial, diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, doença pulmonar crônica, doença renal crônica e imunossupressão, tem maior risco de evoluir com quadros críticos (Hu et al., 2021; Prata, 2023; Seyed Hosseini et al., 2020).

Os casos leves de COVID-19 representam cerca de 81% dos casos, e podem incluir febre, fadiga, mialgia, tosse e escarro, anosmia, ageusia, cefaleia, náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal, odinofagia e rinorreia. À medida que a doença agrava, pode evoluir com pneumonia viral e manifestar-se com taquipneia, dispneia, sinais de esforço respiratório, dor torácica, hipotensão e descompensação de doenças de base (Cruz et al., 2024; Katz-Agranov; Zandman-Goddard, 2021; Seyed Hosseini et al., 2020). Alguns casos evoluem com pneumonia grave, edema pulmonar, síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) ou disfunção orgânica, com uma taxa de mortalidade de 2,3% (Seyed Hosseini et al., 2020).

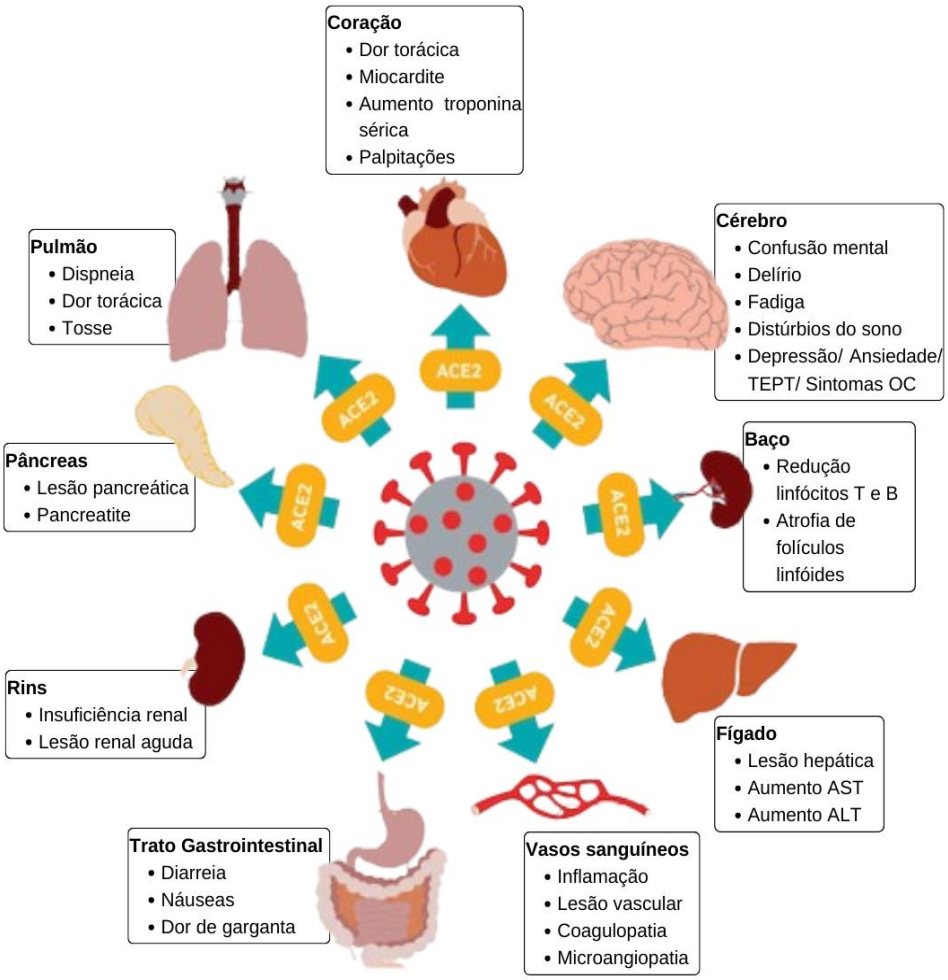


**Figura 1** – Complicações da COVID-19 aguda e COVID longa em múltiplos órgãos. Os receptores ACE-2 (receptor da enzima conversora de angiotensina-2) são expressos em grandes quantidades nas células do trato respiratório superior e inferior, nas células do miocárdio, células epiteliais renais, enterócitos e células endoteliais de múltiplos órgãos. O SARS-CoV-2 liga-se ao receptor ACE-2 nas células hospedeiras alvo, e consequentemente, é internalizado e ocorre a replicação viral com o comprometimento de múltiplos órgãos. AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; TEPT: Transtorno de estresse pós-traumático; OC: obsessivo-compulsivo. Fonte: Adaptada e traduzida de BMJ. 2021;374:n1648

As manifestações renais incluem insuficiência renal aguda com aumento de creatinina e redução da taxa de filtração glomerular devido necrose tubular aguda e infiltração de linfócitos, lesões renais aguda, Glomeruloesclerose segmentar e focal (Campos et al., 2020; Crook et al., 2021; Salette Rincón et al., 2021).

As manifestações cardiovasculares incluem lesão miocárdica, miocardite, lesão coronariana aguda, miocardiopatia, insuficiência cardíaca, arritmias agudas (fibrilação atrial, bloqueio atrioventricular ou arritmias ventriculares), prolongamento do intervalo QT, elevação do segmento ST e choque cardiogênico (Campos et al., 2020; Crook et al., 2021; Salette Rincón et al., 2021).

As manifestações do trato gastrointestinal incluem náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal, hipo/anorexia. A diarreia pode anteceder os sintomas respiratórios. Pode ocorrer isquemia mesentérica devido a lesão microvascular na submucosa do intestino delgado (Crook et al., 2021; Katz-Agranov; Zandman-Goddard, 2021; Salette Rincón et al., 2021).

As manifestações hepáticas incluem hepatite aguda grave, hiperbilirrubinemia, alteração nas funções hepáticas, elevação de aminotransferases, esteatose hepática, fibrose portal, infiltrações linfocíticas, necrose e/ou trombose de veia hepática central (Crook et al., 2021; Salette Rincón et al., 2021).

As manifestações neurológicas incluem cefaleia, tontura, mialgia, fadiga, anorexia, anosmia, ageusia, comprometimento cognitivo, insônia. Pode ocorrer AVC isquêmico ou hemorrágico, e manifestar com convulsões, confusão mental, perda de consciência, polineuropatia desmielinizante, encefalopatia tronco cerebral necrosante e de gânglios da base (Crook et al., 2021; Salette Rincón et al., 2021).

As manifestações oculares incluem conjuntivite, e dermatológicas incluem erupção cutânea eritematosa maculopapular, urticária, vesículas, lesões cutâneas acroisquêmicas, petéquias e lesões exantemáticas e necróticas (Salette Rincón et al., 2021).

No pâncreas, pode ocorrer pancreatite, e no sistema endócrino, hiperglicemia, cetose euglicêmica ou cetoacidose diabética, sendo mais grave nos previamente diabéticos e obesos (Crook et al., 2021; Salette Rincón et al., 2021).

Essas manifestações demonstram a complexidade e a gravidade da COVID-19, afetando múltiplos sistemas do organismo e resultando em uma ampla gama de sintomas e complicações. A presença e persistência de sintomas na COVID longa estão correlacionados com a gravidade da doença durante a COVID aguda, resultando em piora da qualidade de vida, anormalidades pulmonares e radiográficas, entre outras (Hu et al., 2021; Seyed Hosseini et al., 2020).

## 1.4 COVID LONGA

A COVID longa, também conhecida como síndrome pós-COVID (SPC) ou Síndrome da COVID pós-aguda, é amplamente descrita na literatura. Após o quadro de COVID aguda os pacientes podem apresentar sequelas ou outras complicações

clínicas que podem durar semanas a meses após a recuperação inicial (Acosta-Ampudia et al., 2022; Shukla; Misra, 2022).

Segundo o consenso Delphi da OMS, COVID longa é uma condição pós-COVID-19 que ocorre em indivíduos com histórico de infecção provável ou confirmada por SARS-CoV-2, geralmente três meses após o início da COVID, com sintomas que duram pelo menos dois meses e não podem ser explicados por um diagnóstico alternativo. Esses sintomas podem persistir desde o início da doença ou podem surgir de novo, após a recuperação inicial de um episódio agudo (Merad et al., 2022).

Dentro de poucas semanas, a maioria dos pacientes com COVID-19 recuperam-se completamente. A prevalência de COVID longa varia muito entre os estudos. No entanto, cerca de 10-20% dos pacientes podem permanecer com sintomas por mais de quatro semanas, mesmo com doença leve, e alguns podem até desenvolver novos sintomas(Acosta-Ampudia et al., 2022; Al-Aly, 2024; Shukla; Misra, 2022).

A COVID longa pode ser dividida em duas categorias. A primeira categoria é a subaguda, que incluiu os pacientes que se mantem sintomáticos ou com alguma anormalidade entre 4 e 12 semanas após a infecção inicial. A segunda categoria inclui pacientes com sintomas e anormalidades persistentes por mais de 12 semanas do início do quadro, após a exclusão de outros diagnósticos ou doenças, sendo considerados como Síndrome pós-COVID/ COVID longa (Alves de Souza et al., 2022; Carvalho et al., 2024).

A gravidade da COVID longa foi correlacionada com indivíduos do sexo feminino, mais idosos, com IMC elevado, maior número de sintomas durante a fase aguda da doença, presença de comorbidades prévias (cardiovasculares, pulmonares e neoplásicas) e, consequentemente, a gravidade da infecção aguda (Alves de Souza et al., 2022; Dhingra et al., 2024; Solomon et al., 2021).

Estudos mostram que a carga cumulativa da COVID longa continuou a aumentar, apesar da vacinação e dos quadros mais brandos de infecção aguda nas ondas variantes recentes de COVID (Merad et al., 2022; Prata et al.,2024).

O comprometimento multi-órgãos da COVID pode gerar um grande impacto na qualidade de vida, saúde e capacidade de trabalho, gerando diversos problemas socais (Amdal et al., 2021).As possíveis causas da COVID longa são persistência de um reservatório viral, desregulação endócrina, coagulopatias, resposta sorológica anti-SARS-CoV-2 inadequada, desenvolvimento de autoanticorpos, estado

inflamatório persistente, reativação de outros vírus (Vírus Epstein-Barr – EBV) e disbiose do microbioma (Alves de Souza et al., 2022; Blair et al., 2022; Dhingra et al., 2024; Merad et al., 2022; Shukla; Misra, 2022).

Os sintomas persistentes mais relatados são artralgias, cefaleia, mialgia, fadiga, dispneia, queda de cabelo e tontura. Além do cansaço extremo, pode gerar problemas psicológicos como depressão, ansiedade e transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), além de comprometimento da memória, atenção, insônia e outras complicações psiquiátricas graves. No entanto, alguns pacientes podem apresentar quadros mais críticos, como miocardite e fibrose pulmonar (Alves de Souza et al., 2022; Amdal et al., 2021; Blair et al., 2022; Shukla; Misra, 2022).

### 1.4.1 Comprometimento pulmonar

Diante dos vários sintomas que podem persistir na COVID longa, a fadiga e dispneia são os mais comuns, gerando limitações graves como a redução da capacidade de exercício. Existem estudos que sugerem que a limitação da capacidade de exercício seja devido limitação respiratória, diminuição da massa e da função muscular esquelética gerando fraqueza muscular. Outros estudos sugerem ainda a possibilidade de sequelas cardíacas e diminuição da capacidade de difusão (Sahin; Satar; Ergün, 2024; Sanchez-Ramirez et al., 2021; Schmidt; Piva; Sbruzzi, 2022).

Estudo anterior com COVID longa, avaliando espirometria e teste de caminhada incremental para avaliar capacidade de exercício mostrou que 18,8% interromperam o exame por motivos respiratórios e 51,9% por fadiga nas pernas, mostrando a importância da redução da força muscular na limitação. Além disso, foi demonstrado que os pacientes apresentavam uma redução da capacidade vital forçada (CVF) (Sahin; Satar; Ergün, 2024).

Estudos no início da pandemia com avaliação imediatamente após a alta hospitalar mostraram redução da capacidade de difusão de monóxido de carbono (DLCO). Após 30 dias da alta, 75% ainda permaneciam com alteração em função pulmonar, principalmente com redução da DLCO (Solomon et al., 2021). Outro estudo realizado com 45 dias e 6 meses após alta hospitalar de pacientes graves evidenciou uma redução da capacidade vital lenta (CVL), da capacidade vital forçada (CVF), do

volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), da capacidade pulmonar total (CPT) e DLCO. Ao longo dos 6 meses houve uma melhora significativa dos valores, porém ainda havia anormalidades residuais na função pulmonar (Bretas et al., 2022).

A alteração funcional encontrada na maioria dos estudos são redução da capacidade de difusão, permanecendo a alteração em 6 e 12 meses de seguimento. Essa alteração é maior nos pacientes que ficaram graves. Distúrbio ventilatório restritivo, definido por redução da CVF e/ou CPT, foi menos frequente (Lee; Yim; Park, 2022; Watanabe et al., 2022).

Estudo multicêntrico realizado no Brasil avaliou os pacientes após 12 meses de hospitalização por COVID-19 e evidenciou que 19% persistiram com tosse e 43% com dispneia, independente se foram internados em enfermaria ou UTI. Além disso, 27% tinham padrão ventilatório restritivo e 18% DLCO alterada após 12 meses (Prata et al., 2024).

O distúrbio restritivo e redução da DLCO encontrado nos estudos está relacionado ao desenvolvimento de fibrose pulmonar. Além disso, é importante lembrar que devido a invasão direta do SARS-CoV-2 no endotélio vascular, assim como pelo estado de hipercoagulabilidade e aumento do risco de eventos tromboembólicos, esses pacientes podem manter sintomas e reduzir DLCO devido fenômenos tromboembólicos (Prata et al., 2024; Solomon et al., 2021).

Também existem estudos mostrando que após um ano de seguimento de COVID, 32,6% dos pacientes permaneciam com alterações residuais na tomografia de tórax, incluindo principalmente, opacidades em vidro fosco e áreas semelhante a fibrose, com uma frequência maior nos pacientes que ficaram graves/críticos (Watanabe et al., 2022). Os achados de fibrose pulmonar são multifatoriais, incluindo ação direta do vírus, reação inflamatória sistêmica, infecções associadas, oxigenoterapia, ventilação mecânica e fatores genéticos, sendo responsáveis pela persistência de sintomas respiratórios (Carvalho et al., 2024; Singh et al., 2023).

### 1.4.2 Marcadores inflamatórios

Quando o SARS-CoV-2 entra nas células do hospedeiro, são ativadas as respostas imunes inata e adaptativa através da secreção de várias citocinas pró-inflamatórias. Essa resposta imune à infeção pelo SARS-CoV-2, na fase aguda da

COVID-19, gera uma desregulação sustentada nas células imunes, citocinas, quimiocinas e imunoglobulinas nos pacientes com COVID longa. Na infecção primária, a expressão diferente dessas células e moléculas pode ter um valor preditivo para identificar paciente em risco de desenvolver COVID longa (Espín et al., 2023).

Como citado anteriormente, há uma variedade grande de sintomas na COVID longa, e, diante de uma grande variedade de combinações de sintomas, o desafio tem sido estratificar os pacientes em clusters específicos para um tratamento personalizado de uma entidade patológica tão heterogênea. Portanto, o desafio tem sido encontrar biomarcadores específicos, para relacionar os clusters com os mecanismos e patologias diferentes (Merad et al., 2022).

Diversos marcadores bioquímicos podem ser utilizados antes, durante e após o diagnóstico de COVID-19 com os objetivos de triagem, avaliação de risco, monitoramento e escolha da terapêutica adequada. Podem ser utilizados marcadores hepáticos (AST, ALT, albumina, bilirrubina), renais (ureia, creatinina, taxa de filtração glomerular), cardíacos (troponina T, BNP, CKMB, mioglobina, DHL) e de coagulação (D-dímero). Além disso, podem ser utilizados marcadores inflamatórios (procalcitonina, ferritina, PCR, IL-6, IL-10) (Almeida et al., 2021; Lima et al., 2023).

Os biomarcadores clínicos e prognósticos são importantes para melhorar o conhecimento sobre uma doença. Os marcadores inflamatórios associados a prognóstico, gravidade e desfecho ruim mais descritos nos estudos são proteína C-reativa (PCR), taxa de hemossedimentação (VHS), ferritina e procalcitonina (PCT). Além desses, os estudos mostram aumento da razão neutrófilo-linfócito (RNL) (Alves de Souza et al., 2022; Dias Alves, 2022; Lima et al., 2023).

A PCR, ferritina e procalcitonina são proteínas de fase aguda. A PCR é secretada predominantemente pelo fígado, após 4 a 6 horas do estímulo, com pico em 36 a 50 horas, levando dias para retornar ao normal, portanto, é um bom preditor de gravidade e de complicações. A ferritina é secretada na presença de citocinas inflamatórias e em estados de hiperinflamação (com aumento de citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6, TNF-α, quimiocina IL-8 e citocina anti-inflamatória IL-10), fica aumentada e predizem pior gravidade e mortalidade. A procalcitonina está presente no interior das células C da tireóide, e em situações de estresse (infecção), pode ficar elevada predizendo maior gravidade e aumento de óbito intra-hospitalar (Lima et al., 2023).

Uma revisão sistemática de 2023 mostrou que os biomarcadores mais frequentemente relatados na COVID longa foram interleucina-6 (IL-6), proteína C-reativa (PCR), IL-10, interferon (IFN)-γ, antiplasmina α2 (α2AP), fator von Willebrand (vWF) e células reguladoras T (Treg) (Espín et al., 2023).

Os indivíduos que desenvolveram COVID longa, durante a fase aguda da doença, apresentaram regulação positiva das citocinas e quimiocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN-γ, CCL5/RANTES e CCL360 em comparação com os grupos controle. A IL-2 (importante para a proliferação e autotolerância das células T) e a IL-17 (relacionada à inflamação e autoimunidade) também estavam aumentadas na fase aguda. A citocina pró-inflamatória IL-6 exibiu níveis elevados persistentes até sete meses em pacientes com COVID longa. O IFN-γ (essencial para a defesa antiviral) permaneceu elevado por dois meses após a infecção. Achados contraditórios foram encontrados para IL-4 (anti-inflamatória) e IL-10 (inibe a secreção de citocinas pró-inflamatórias), com variações nos níveis entre diferentes estudos. GM-CSF e CCL4 diminuíram durante a infecção por COVID-19 em pacientes que manifestaram COVID longa (Espín et al., 2023).

Células imunológicas, como linfócitos CD8+ e CD4+, juntamente com células NK e níveis elevados de marcadores inflamatórios como PCR e IL-6, estão associados à COVID longa e às sequelas pulmonares. Estudos destacam associações entre níveis elevados de citocinas específicas e o comprometimento pulmonar residual, reforçando a relevância do monitoramento de biomarcadores na recuperação da COVID-19 (Espín et al., 2023; Mancilla-Ceballos et al., 2023).

Portanto, reconhecer o perfil inflamatório dos pacientes com COVID e determinar os fatores que afetam a capacidade pulmonar, e conseguir prever quais pacientes estão em risco para essas complicações respiratórias e disfunção pulmonar são de extrema importância para gerenciar o manejo do tratamento. Assim, é necessário entender os fenótipos de pacientes com COVID-19 baseado em marcadores inflamatórios que podem ser avaliados através de material biológico com coleta menos invasiva (p.ex. sangue ou saliva) e predizer quais podem evoluir com disfunção pulmonar a longo prazo, guiando as estratégias terapêuticas e minimizando os riscos para os pacientes.

# 2. OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a associação entre fatores clínicos iniciais e perfil inflamatório na fase aguda da COVID-19 e a recuperação funcional pulmonar após um ano da alta hospitalar.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar o perfil dos pacientes hospitalizados por COVID-19 quanto aos aspectos clínicos e sociodemográficos;

Caracterizar os perfis inflamatórios de pacientes hospitalizados por COVID-19 com base nos biomarcadores Th1, Th2 e Th17;

Determinar os fatores preditores associados à função pulmonar após um ano da alta hospitalar por COVID-19.

# 3. MATERIAIS E MÉTODOS

## 3.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo observacional do tipo coorte prospectivo com pacientes admitidos em um hospital terciário no sul do Brasil com infecção por COVID-19 entre junho e novembro de 2020. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José sob o protocolo de número 31384620.6.1001.5364. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da inclusão no estudo.

## 3.2 LOCAL DO ESTUDO

Este estudo foi realizado nos pacientes admitidos na enfermaria ou unidade de terapia intensiva (UTI) de um hospital terciário no sul do Brasil de junho a novembro de 2020.

## 3.3 POPULAÇÃO

A população de estudo foi composta por pacientes internados na enfermaria ou UTI de um hospital terciário com confirmação laboratorial de COVID-19 no período de junho a novembro de 2020.

## 3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos no estudo todos os pacientes com 18 anos ou mais, admitidos em um hospital terciário do extremo sul catarinense com diagnóstico laboratorial confirmado de COVID-19 através de reação de transcriptase reversa ou teste rápido de antígeno, e necessitando de suplementação de oxigênio, ventilação não invasiva ou ventilação mecânica devido a pneumonia por COVID-19.

Foram excluídos no estudo os pacientes com doenças crônicas graves (doença renal crônica em hemodiálise, cirrose Child-Pugh C, doença pulmonar obstrutiva crônica grave, insuficiência cardíaca grave), portadores de doenças que afetam a

resposta inflamatória (Ex. uso crônico de imunossupressores, portadores de câncer ou HIV positivos sem controle da doença) e pacientes em cuidados paliativos ou com expectativa de vida menor do que 24 horas.

## 3.5 DESFECHOS

Os desfechos foram as variáveis de função pulmonar (DLCO, CPT, VEF1, PImáx) após um ano da alta hospitalar por COVID-19.

## 3.6 PROCEDIMENTOS

Os pacientes admitidos na enfermaria ou UTI com diagnóstico confirmado de COVID-19 foram avaliados quanto aos critérios de inclusão e exclusão, e assim, foi definido se eram elegíveis para o estudo. Esses pacientes foram convidados a participar do estudo na admissão hospitalar. Após a explicação sobre o estudo, aceitação e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), foram iniciados os procedimentos do estudo.

### 3.6.1 Durante a internação hospitalar

Após a inclusão do paciente no estudo, foram coletadas informações sociodemográficas e clínicas foram coletadas diretamente com paciente, com o responsável pelo paciente ou pelo prontuário eletrônico do hospital. As variáveis coletadas foram idade, sexo, peso (quilogramas), altura (metros), índice de massa corpórea (Kg/m$^2$), tempo de internação hospitalar e uso de corticosteróide sistêmico durante internação. A presença de comorbidades pré-hospitalares foram coletadas e avaliadas pelo Índice de comorbidades de Charlson. O escore SAPS III (*Simplified Acute Physiology Score 3*) foi avaliado para prever o risco de morte dos pacientes em UTI. O escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) foi utilizado para avaliar disfunção orgânica.

Além disso, foram coletadas amostras de sangue venoso em até 24 horas após a admissão hospitalar. Os níveis de APRIL, BAFF, BLC (CXCL13), CD30, ENA-78 (CXCL5), Eotaxin-2 (CCL24), Eotaxin-3 (CCL26), FGF-2, Fractalkine (CX3CL1), IL-16, IL-2R (CD25), IL-20, I-TAC (CXCL11), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MDC

(CCL22), MIF, MIG (CXCL9), TNF-RII, TRAIL (CD253), TSLP, TWEAK, CD40L (CD154), Eotaxin (CCL11), Gro-alpha (CXCL1), G-CSF (CSF-3), GM-CSF, HGF, IFN-alpha, IP-10 (CXCL10), IFN-γ , IL-1-alpha, IL-1-beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8 (CXCL8), IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A (CTLA-8), IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, LIF, M-CSF, MCP-1, (CCL2), MIP-1-alpha (CCL3), MIP-1-beta (CCL4), MIP-3-alpha (CCL20), MMP-1, NGF-beta, SDF-1-alpha (CXCL12), SCF, TNF-alpha, TNF-beta emVEGF-A foram mensurados usando o Immune Monitoring 65-Plex Human ProcartaPlex™Panel (Cat. # EPX650-16500-901), da Thermo Fisher Scientific, (Waltham, MA, USA) no sistema Luminex MAGPIX® (Luminex Corporation -Austin, TX, USA).

*3.6.1.1 Índice de comorbidades de Charlson.*

Durante a internação foram avaliadas as comorbidades pré-hospitalares nos prontuários eletrônicos, e pontuado pelo índice de comorbidades de Charlson (ICC) que foi calculado conforme a descrição original (Charlson et al., 1987).

O ICC é amplamente utilizado como preditor de prognóstico e sobrevivência a longo prazo. Trata-se de um instrumento de avaliação da gravidade que considera comorbidades ou diagnósticos secundários, atribuindo um risco adicional de mortalidade ao paciente. Ele é importante em estudos para a identificação, durante a inclusão no estudo, de doenças que representam uma ameaça significativa independente à sobrevivência. Esse índice inclui 19 doenças, como mostra a Tabela 1, baseadas na força de suas associações com a mortalidade, atribuindo-se um peso específico para cada condição. Os pesos são distribuídos da seguinte forma: peso 1 para infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, doença vascular periférica, doença cerebrovascular, demência, doença pulmonar crônica, doença do tecido conjuntivo, úlcera, doença hepática leve e diabetes; peso 2 para hemiplegia, doença renal moderada ou severa, diabetes com complicações, qualquer tumor, leucemia e linfoma; peso 3 para doença hepática moderada ou severa; e peso 6 para tumor metastático sólido e AIDS (síndrome da imunodeficiência adquirida). O escore final é obtido pela soma dos pesos atribuídos. Este escore pode ser combinado com a idade para formar um índice único, acrescentando uma pontuação específica para

cada período de dez anos a partir dos 50 anos (Charlson et al., 1987; Tuty Kuswardhani et al., 2020).

**Tabela 1 –** Índice de Comorbidade de Charlson

| Item | Pontos |
|---|---|
| Idade | |
| 50 a 59 anos | +1 |
| 60 a 69 anos | +2 |
| 70 a 79 anos | +3 |
| >= 80 anos | +4 |
| Infarto do miocárdio | +1 |
| Insuficiência cardíaca congestiva | +1 |
| Doença vascular periférica | +1 |
| Evento cardiovascular ou ataque isquêmico transitório | +1 |
| Demência | +1 |
| Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) | +1 |
| Doença do tecido conjuntivo | +1 |
| Úlcera péptica | +1 |
| Doença hepática | |
| Leve | +1 |
| Moderada a severa | +3 |
| Diabetes | |
| Não complicada | +1 |
| Com lesão em órgãos alvo | +2 |
| Hemiplegia | +2 |
| Doença renal crônica moderada a severa | +2 |
| Tumor sólido | |
| Localizado | +2 |
| Metastático | +6 |
| Leucemia | +2 |
| Linfoma | +2 |
| AIDS | +6 |

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência adquirida. Fonte: Charlson (1987, p. 377).

### *3.6.1.2 Escore SAPS III*

O escore SAPS III (*Simplified Acute Physiology Score* 3) é uma ferramenta de estratificação de risco amplamente utilizada em unidades de terapia intensiva (UTI) para estimar a mortalidade hospitalar de pacientes críticos. Dentre as variáveis contempladas no SAPS III estão dados demográficos (idade, comorbidades),

parâmetros fisiológicos (como temperatura, pressão arterial, frequência respiratória, função renal e nível de consciência), o diagnóstico principal e as condições clínicas prévias à internação.

O escore SAPS III é calculado a partir de uma fórmula logística e apresenta dois componentes principais: o escore bruto e a probabilidade estimada de mortalidade hospitalar. A pontuação pode variar de zero a 217 pontos. Quanto maior a pontuação, maior é a mortalidade. SAPS III maior que 80 pontos a mortalidade é cerca de 70% e pontuação menor que 40 a mortalidade é menor que 10%. Essa estimativa é ajustada por modelos regionais para aumentar sua aplicabilidade em diferentes contextos geográficos e sistemas de saúde. O uso do SAPS 3 na prática clínica e na pesquisa permite a estratificação prognóstica individual e a avaliação da performance assistencial de UTIs por meio do cálculo do índice de mortalidade padronizada. O uso do SAPS 3 na prática clínica e na pesquisa permite não apenas a estratificação prognóstica individual, mas também a avaliação da performance assistencial de UTIs por meio do cálculo do índice de mortalidade padronizada.O uso do SAPS 3 na prática clínica e na pesquisa permite não apenas a estratificação prognóstica individual, mas também a avaliação da performance assistencial de UTIs por meio do cálculo do índice de mortalidade padronizada (Moreno et al., 2005; Soares, 2006).

#### *3.6.1.3 Escore SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)*

Para avaliar a disfunção orgânica nos pacientes hospitalizados, utilizou-se o *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA). Esse escore é uma ferramenta prática e eficiente para a presença de disfunção de órgãos em pacientes críticos. O SOFA analisa seis sistemas principais, conforme detalhado na tabela 2: o sistema respiratório (baseado na relação PaO2/FiO2), neurológico (avaliado pela escala de coma de Glasgow), cardiovascular (dependendo da pressão arterial média ou do uso de medicamentos vasopressores), hepático (de acordo com os níveis de bilirrubina), de coagulação (considerando a contagem de plaquetas) e renal (baseado nos níveis de creatinina ou no débito urinário). Cada sistema tem pontuações que variam de zero a quatro, podendo pontuar de zero a 24 pontos. Quanto maior a pontuação, maior a

gravidade da disfunção orgânica e maior a mortalidade dos pacientes (Lambden et al., 2019; Vincent et al., 1996).

**Tabela 2 –** *Sequential Organ Failure Assessment*

| SOFA escore | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Respiração** PaO2/FiO2, mmHg | > 400 | ≤ 400 | ≤ 300 | ≤ 200 com suporte respiratório | ≤ 100 com suporte respiratório |
| **Coagulação** Plaquetas x $10^3$/mm3 | > 150 | ≤ 150 | ≤ 100 | ≤ 50 | ≤ 20 |
| **Hepático** Bilirrubina, mg/dl | < 1,2 | 1,2 – 1,9 | 2,0 – 5,9 | 6,0 – 11,9 | > 12 |
| **Cardiovascu-lar** Hipotensão | Sem hipotensão | PAM < 70 mmHg | Dopamina ≤ 5 ou dobutamina (qualquer dose)* | Dopamina > 5 ou epinefrina ≤ 0,1 ou norepinefrina ≤ 0,1* | Dopamina > 15 ou epinefrina > 0,1 ou norepinefrina > 0,1* |
| **Sistema nervoso central** Escala de Coma de Glasgow | 15 | 13 – 14 | 10 – 12 | 6 – 9 | < 6 |
| **Renal** Creatinina, mg/dl ou diurese | < 1,2 | 1,2 – 1,9 | 2,0 – 3,4 | 3,5 – 4,9 ou < 500 ml por dia | > 5 ou < 200 ml por dia |

SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment;* PaO2: pressão parcial de oxigênio; $FiO_2$: fração inspirada de oxigênio; PAM: pressão arterial média. *Agentes adrenérgicos administrados por pelo menos 1 hora (dose em micrograma/kg – min). Fonte: Vincent (1996, p. 708).

### 3.6.2 Seguimento a longo prazo

No momento da alta hospitalar, o paciente e seu responsável foram informados que a equipe de pesquisa faria contato visando acompanhar sua evolução após completar um ano, e foi confirmado os contatos telefônicos. Após a alta hospitalar

foram realizados contatos telefônicos de acompanhamento mensalmente, contados a partir da saída do paciente do hospital, visando manter o vínculo com o participante e evitar perda de amostra.

Após 6 e 12 meses de alta hospitalar, todos participantes foram convidados a se apresentar no Centro de Pesquisa do hospital que havia sido internado, para realizar nova avaliação clínica, prova de função pulmonar completa, pletismografia e difusão de monóxido de carbono.

### 3.6.3 Pletismografia pulmonar com medida de difusão de monóxido de carbono

Os exames de função pulmonar foram realizados seis meses e um ano após a alta hospitalar por fisioterapeuta treinado e experiente em função pulmonar, sob supervisão de médico pneumologista, responsável também pela análise final e laudo do exame. Os exames foram feitos em pletismógrafo de pressão variável VIASYS Respiratory Care (Vyaire, Mettawa, IL, EUA), seguindo as diretrizes da American Thoracic Society (ATS)/ European Respiratory Society. Antes da realização de cada exame, o equipamento foi calibrado de forma adequada. Os seguintes parâmetros foram obtidos: volume expiratório forçado no primeiro segundo ($VEF_1$), capacidade pulmonar total (CPT), DLCO, pressão inspiratória máxima (PImáx). As medidas de $VEF_1$ e CPT foram expressas em valores absolutos e em percentual do previsto para a população brasileira(Alberto et al., 2007; Lessa; De Castro Pereira; Soares, 2021). A resistência de via aérea foi expressa em centímetros de água por litro por segundo ($cmH_2O/L/s$). Para a PImáx, cada participante foi solicitado a realizar cinco manobras, com o objetivo de igualar as duas maiores dentro de 10 $cmH_2O$, e as maiores PImáx e PEmáx do teste de cada participante foi utilizada para análise. Essas variáveis foram expressas como porcentagens dos valores normais previsto. Foram considerados valores normais aqueles iguais ou superiores a 80% dos valores preditos.

## 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 3.7.1 Estatística descritiva

Os dados são apresentados como média e desvio padrão (DP) para variáveis normalmente distribuídas, mediana e intervalo interquartil (IQR) para variáveis

assimétricas ou não normalmente distribuídas e contagem (%) para dados categóricos. A normalidade da distribuição das variáveis foi realizada pela análise da assimetria e curtose, análise visual do histograma e pelo teste de Shapiro-Wilk.

### 3.7.2 Clusterização não-hierárquica

Clusterização por *k-means* foi realizada baseada nos níveis plasmáticos de citocinas relevantes de resposta Th1 (INF-γ , TNF-α, IL-2, IL-12, IL-18), Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) e Th17 (IL-17A, IL-21, IL-22, IL-23), com um número de cluster ótimo definido como dois. Os clusters foram classificados pela média dos escores Z dos níveis das 13 proteínas em resposta $T^{high}$ e resposta $T^{low}$. Após foram comparadas as variáveis sociodemográficas, clínicas e níveis dos demais biomarcadores inflamatórios séricos com os dois clusters utilizando teste-t ou Mann-Whitney-U para variáveis contínuas ou qui-quadrado para variáveis categóricas.

Como nossa intenção é determinar se diferentes variáveis independentes (características dos pacientes ao serem admitidos no hospital) podem predizer as variáveis dependentes (função pulmonar) em 12 meses após a alta hospitalar em diferentes clusters de pacientes conforme seu perfil de biomarcadores inflamatórios realizamos um modelo misto linear (tendo em vista que a função pulmonar foi medida também 6 meses após a alta hospitalar, e a evolução temporal desta pode influenciar o desfecho). Assim, criamos modelos para cada um dos desfechos de função pulmonar. As variáveis independentes para ambos os modelos foram idade, sexo, tempo de internação, escore SOFA, a que cluster pertencia o indivíduo, avaliação de comorbidades pelo escore Charlson e o tempo quando foi realizada a avalição da função pulmonar. O paciente individual foi incluído como efeito randômico.

Os modelos mistos lineares foram realizados no software Spyder (python 3.11) utilizando o pacote statsmodels. Todas as demais análises foram realizadas no software SPSS versão 23.0. As figuras foram elaboradas no software GraphPad Prism 10.0.

## 4. RESULTADOS

Após a avaliação dos pacientes admitidos na enfermaria ou UTI do hospital de estudo no período de junho a novembro de 2020, como mostra a figura 2, foram analisados os critérios de inclusão e exclusão, a amostra resultou em 167 pacientes. Entretanto, no decorrer do estudo, 56 morreram durante a hospitalização ou acompanhamento. Diante da necessidade de avaliação pulmonar em 6 e 12 meses após a alta hospitalar, foram avaliados nesse estudo 59 pacientes. A Tabela 3 mostra uma análise detalhada das características sociodemográficas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo. A média de idade dos participantes foi de 54 anos (DP $\pm$ 10), com predomínio do sexo masculino (61%). O Índice de Massa Corporal (IMC) médio foi de 27 kg/m$^2$ que corresponde a sobrepeso. O tempo médio de internação hospitalar foi de 21 dias, sendo que, 78% fizeram uso de corticoide sistêmico durante a internação. A média do Escore SAPS III foi 48 (DP $\pm$ 12) e do Escore de Comorbidades de Charlson foi de 1. No escore SOFA total a média foi de 4,4 (DP = ± 1,8), e no critério SOFA respiratório foi 3.

A partir da clusterização dos participantes utilizando o algoritmo *k-means* baseado nos níveis plasmáticos de citocinas associadas aos perfis Th1, Th2 e Th17, foram identificados dois padrões distintos de pacientes. Estes clusters foram classificados, com base na média dos escores-Z dos níveis de cada um dos 13 biomarcadores utilizados na análise para a clusterização, como $T^{High}$ (32% casos) e $T^{Low}$ (68% casos), conforme ilustrado na Figura 3. O cluster $T^{High}$ apresentou, de modo geral, níveis plasmáticos mais elevados para todas as citocinas avaliadas. No entanto, somente 03 citocinas Th1, 02 citocinas Th2 e 01 citocina Th17 apresentam diferença significativa estatisticamente.

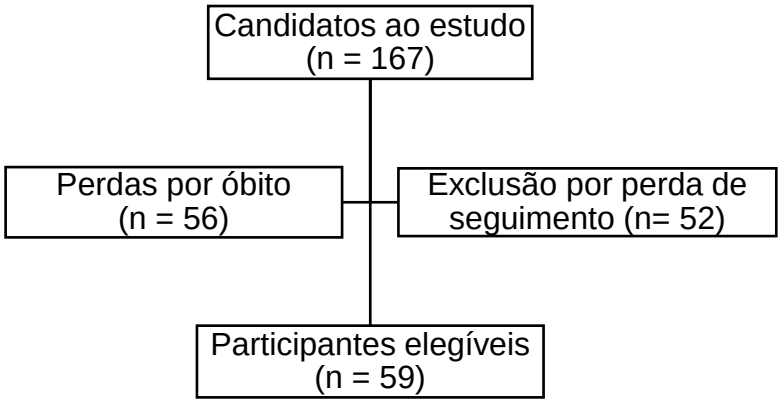


**Figura 2** – Fluxograma da seleção da amostra do estudo

**Tabela 3** – Características dos pacientes incluídos no estudo

| **Características** | **Média ± DP, Mediana (IQR) ou valor (%)** |
|---|---|
| **Idade, anos** | 54 ± 10 |
| **Gênero, masculino** | 36 (61) |
| **IMC** | 27 (6) |
| **SAPS III** | 48 ± 12 |
| **CCI** | 1 (1) |
| **SOFA total** | 4.4 ± 1.8 |
| **SOFA respiratório** | 3 (1) |
| **Uso de corticoide, sim** | 46 (78) |
| **Tempo de internação, dias** | 21 (48) |
| **$T^{High}$ cluster** | 19 (32) |
| **$T^{low}$ cluster** | 40 (68) |

CCI: Escore de comorbidades de Charlson; DP: Desvio Padrão; IMC: Índice de massa corporal; IQR: Amplitude interquartil; SAPS: Escore Fisiológico Agudo Simplificado; SOFA: Avaliação sequencial da disfunção orgânica.

As citocinas que apresentaram níveis estatisticamente significativos mais elevados no cluster $T^{High}$ foram: **IFN- γ (interferon-gama), IL-12p70 (interleucina-12-70),** e **IL-18 (interleucina-18)**, representando o perfil Th1; **IL-4 (interleucina-4)** e **IL-13 (interleucina-13)**, representando o perfil Th2; e **IL-17A (interleucina-17A)**, do perfil Th17.

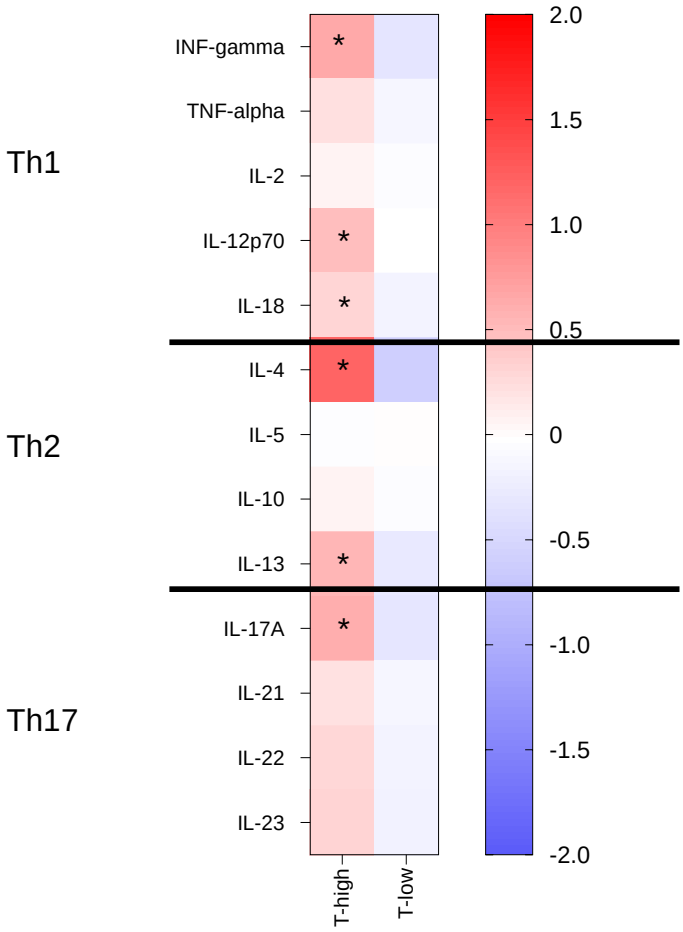


**Figura 3** – Heat-map da distribuição dos níveis das citocinas Th1, Th2 e Th17 entre os clusters determinados por *k-means*. * denota diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos para $p < 0,05$.

Com o intuito de caracterizar de forma mais abrangente os dois clusters identificados, foram comparados entre os grupos as variáveis sociodemográficas, clínicas e os níveis plasmáticos de outros 52 biomarcadores inflamatórios, associados a diferentes funções (Tabela 4 e Figura 4). Observou-se que as características sociodemográficas e clínicas dos participantes são semelhantes entre os clusters de pacientes categorizados como $T^{High}$ e $T^{Low}$, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre eles nesses domínios.

Por outro lado, uma análise detalhada dos níveis plasmáticos de outros marcadores inflamatórios revelou diferenças significativas entre os clusters. Especificamente, percebemos que 11 de 20 citocinas (Figura 3A), 08 de 18 quimiocinas (Figura 3B), 02 de 06 fatores de crescimento (Figura 3C) e 01 de 08 receptores solúveis (Figura 3D) apresentaram níveis plasmáticos significativamente

distintos entre os grupos. Em todos os casos, os níveis dessas proteínas inflamatórias foram mais elevados no cluster $T^{high}$. Esses achados reforçam a robustez da segmentação realizada pelo algoritmo k-*means*.

**Tabela 4** – Características dos pacientes comparando diferentes clusters determinados por *k-means*

| **Características** | **$T^{High}$ (n=19)** | **$T^{Low}$ (n=40)** | **Valor de p** |
|---|---|---|---|
| **Idade, anos** | 55 ± 11 | 52 ± 11 | 0.308 |
| **Gênero, masculino** | 11 | 25 | 0,735 |
| **IMC** | 27 (14) | 29 (31) | 0.108 |
| **SAPS III** | 47 ± 8 | 50 ± 14 | 0.583 |
| **CCI** | 2 (5) | 1 (4) | 0.774 |
| **SOFA total** | 2.8 ± 1.5 | 3.1 ± 2.1 | 0.644 |
| **SOFA respiratório** | 3 (4) | 2 (3) | 0.255 |
| **Uso de corticoide, sim** | 13 | 33 | 0.223 |
| **Tempo de internação, dias** | 19 ± 13 | 15 ± 12 | 0.359 |

CCI: Escore de comorbidades de Charlson; IMC: Índice de massa corporal; IQR: Amplitude interquartil; SAPS: Escore Fisiológico Agudo Simplificado; SOFA: Avaliação sequencial da disfunção orgânica.

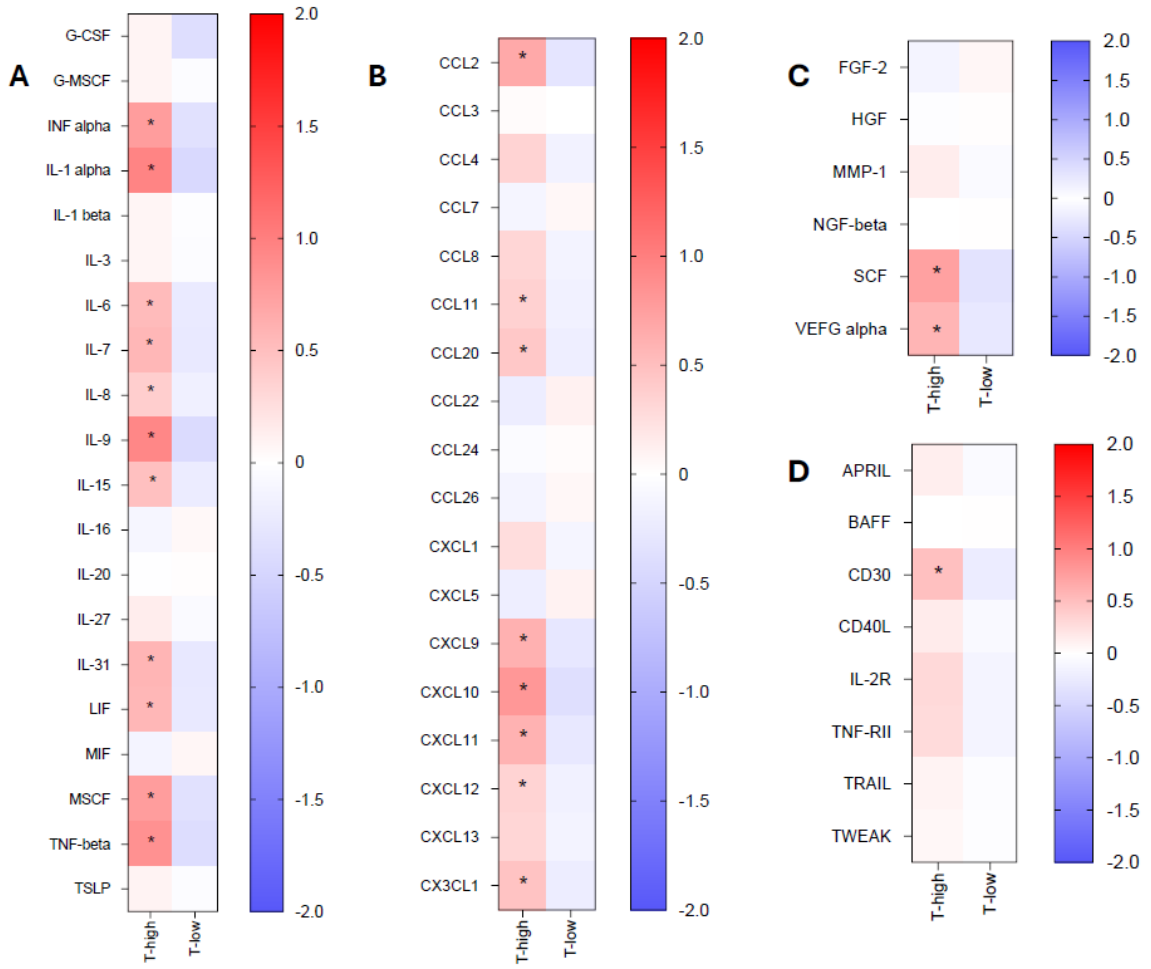


**Figura 4** – Heat-map da distribuição dos níveis de (A) citocinas, (B) quimiocinas, (C) fatores de crescimento, (D) receptores solúveis entre os clusters determinados por *k-means*. * denota diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos para $p < 0,05$.

Após a definição dos clusters, baseado no perfil de biomarcadores inflamatórios, foi utilizado um modelo estatístico misto linear para determinar se diferentes características dos pacientes ao serem admitidos no hospital com COVID-19 (variáveis independentes) podem predizer a função pulmonar (variáveis dependentes) aos 12 meses após a alta hospitalar. Optou-se por utilizar modelos que pudessem capturar essa variação intraindividual ao longo do tempo pois, a função pulmonar foi avaliada aos 6 e 12 meses após a alta hospitalar.

Foram desenvolvidos quatro modelos separados, nos quais as variáveis dependentes foram, respectivamente, a capacidade de difusão do monóxido de carbono (DLCO), capacidade pulmonar total (CPT), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) e pressão inspiratória máxima (PIM). As variáveis independentes incluídas em ambos os modelos foram: idade, sexo, tempo de internação hospitalar, escore de comorbidades de Charlson e escore SOFA na

admissão, classificação do paciente quanto ao cluster (com base em seu perfil de biomarcadores inflamatórios, $T^{high}$ ou $T^{low}$), e, o tempo em que a avaliação da função pulmonar foi realizada (6 ou 12 meses). O paciente individual foi incluído como efeito randômico.

Essa abordagem visou avaliar de forma robusta a associação entre fatores clínicos iniciais, perfis inflamatórios e a recuperação funcional pulmonar, considerando a heterogeneidade entre os pacientes e a evolução temporal da função respiratória após a hospitalização.

Na análise multivariada dos fatores associados à difusão ao monóxido de carbono (DLCO) medida 12 meses após alta hospitalar, foi avaliada a idade, sexo, CCI, SOFA, tempo de seguimento e cluster, conforme mostra a tabela 5. As variáveis demográficas (idade e sexo) isoladamente não mostraram significância estatística na DLCO. Com relação a variável sexo, observamos que o sexo feminino apresentou menor a difusão (coeficiente β -1,92), porém não foi significativamente estatístico essa relação (p=0,39). No escore de comorbidades de Charlson, observa-se que apesar do coeficiente β positivo (+1,93), no intervalo de confiança houve tanto efeitos positivos quanto negativos, porém, não houve significância estatística (p=0,20). Ao analisar o escore SOFA, observou-se um efeito negativo consistente nessa relação com uma significância estatística (coeficiente β -1,42), ou seja, para cada ponto adicional no escore SOFA na admissão hospitalar, houve uma redução de 1,42 unidades na DLCO aos 12 meses. Quanto ao tempo de seguimento, não houve nenhuma evidência de associação com a DLCO, ou seja, o tempo não interferiu na variável DLCO. Com a clusterização, nota-se que o cluster $T^{High}$, que apresenta maiores níveis de citocinas inflamatórias, apresentam uma DLCO em média 6,77 unidades menor em 12 meses em comparação com o cluster $T^{Low}$, sendo essa associação estatisticamente significativa (β = –6,77;).

**Tabela 5** – Fatores preditores da difusão pulmonar medida 12 meses após a alta hospitalar.

| Variável | Coeficiente β | Intervalo de confiança 95% | Valor de p |
|---|---|---|---|
| **Idade** | -0.21 | [-0.51, 0.07] | 0.15 |
| **Sexo** | -1.92 | [-6.36, 2.51] | 0.39 |
| **CCI** | +1.93 | [-1.04, 4.91] | 0.20 |
| **SOFA** | -1.42 | [-2.74, -0.09] | 0.03 |
| **Tempo do seguimento** | < 0.001 | NA | 1.0 |
| **Cluster** | -6.77 | [-11.39, -2.14] | 0.004 |

CCI: Escore de comorbidades de Charlson; IMC: Índice de massa corporal; IQR: Amplitude interquartil; SAPS: Escore Fisiológico Agudo Simplificado; SOFA: Avaliação sequencial da disfunção orgânica.

Ao avaliar preditores associados à capacidade pulmonar total (CPT) medida 12 meses após a alta hospitalar, como mostra a tabela 6, observamos que dentre as variáveis analisadas, apenas a estratificação por cluster ($T^{High}$ e $T^{Low}$) demonstrou associação estatisticamente significativa com a CPT. O cluster $T^{High}$ apresentou níveis de CPT significativamente maiores quando comparados ao cluster $T^{Low}$ (β = +4,60). As outras variáveis, como idade (β = -0,07), sexo (β = +0,36), escore de comorbidades de Charlson (β = +1,26) e escore SOFA (β = -0,15) não apresentaram associação estatisticamente significativa com a CPT no período avaliado, e o tempo de seguimento não modificou os valores de CPT (β < 0,001).

Na análise multivariada, na tabela 7, para avaliar fatores associados ao volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) medido após 12 meses da alta hospitalar, identificou-se o índice de comorbidades de Charlson (CCI) como o único preditor com associação estatisticamente significativa. Diferente do esperado, os pacientes com maiores escores de CCI, ou seja, com mais comorbidades, apresentaram um VEF1 maior. As demais variáveis como, idade (β = -0,05), sexo (β = +2,03), escore SOFA (β = -0,58), tempo do seguimento (β = +1,07) e cluster (β = +1,07) não apresentaram associações estatisticamente significativas com o VEF1.

**Tabela 6** – Fatores preditores da capacidade pulmonar total medida 12 meses após a alta hospitalar.

| Variável | Coeficiente β | Intervalo de confiança 95% | Valor de p |
|---|---|---|---|
| **Idade** | -0.07 | [-0.31, 0.16] | 0.55 |
| **Sexo** | +0.36 | [-3.27, 4.00] | 0.84 |
| **CCI** | +1.26 | [-1.18, 3.70] | 0.31 |
| **SOFA** | -0.15 | [-1.24, -0.93] | 0.77 |
| **Tempo do seguimento** | < 0.001 | NA | 1.0 |
| **Cluster** | +4.60 | [0.81, 8.40] | 0.017 |

CCI: Escore de comorbidades de Charlson; IMC: Índice de massa corporal; IQR: Amplitude interquartil; SAPS: Escore Fisiológico Agudo Simplificado; SOFA: Avaliação sequencial da disfunção orgânica.

**Tabela 7** – Fatores preditores do VEF1 medido 12 meses após a alta hospitalar.

| Variável | Coeficiente β | Intervalo de confiança 95% | Valor de p |
|---|---|---|---|
| **Idade** | -0.05 | [-0.25, 0.14] | 0.59 |
| **Sexo** | +2.03 | [-1.04, 5.10] | 0.19 |
| **CCI** | +2.59 | [0.53, 4.65] | 0.01 |
| **SOFA** | -0.58 | [-1.36, 0.19] | 0.13 |
| **Tempo do seguimento** | 1.07 | [-2.09,4.24] | 0.50 |
| **Cluster** | +1.07 | [-2.09, 4.24] | 0.50 |

**CCI:** Escore de comorbidades de Charlson; **IMC:** Índice de massa corporal; **IQR:** Amplitude interquartil; **SAPS:** Escore Fisiológico Agudo Simplificado; **SOFA:** Avaliação sequencial da disfunção orgânica.

Por fim, foram avaliados os preditores associados à pressão inspiratória máximo (PIM) medida 12 meses após a alta hospitalar, como mostra a tabela 8. O sexo foi o único preditor independente da PIM, com significância estatística, ou seja,

pacientes do sexo feminino apresentaram valores significativamente menores de PIM em comparação aos do sexo masculino (β = -8,52). A variável idade apresentou correlação positiva com a PIM, porém, é necessário cautela na interpretação pois apresentou um valor de p limítrofe (p=0,05). O índice de comorbidades de Charlson (β = -1,94), o escore SOFA (β = -0,57) e cluster (β = +0,76) não apresentaram associação estatisticamente significativa. Na avaliação do tempo 6 e 12 meses também não houve associação estatística com a PIM, ou seja, não houve variação no valor da PIM durante o seguimento.

**Tabela 8** – Fatores preditores da PIM medida 12 meses após a alta hospitalar.

| **Variável** | **Coeficiente β** | **Intervalo de confiança 95%** | **Valor de p** |
|---|---|---|---|
| **Idade** | +0.34 | [-0.001, 0.68] | 0.05 |
| **Sexo** | -8.52 | [-13.75, -3.30] | 0.002 |
| **CCI** | -1.94 | [-5.45, 1.56] | 0.27 |
| **SOFA** | -0.57 | [-1.89, 0.74] | 0.38 |
| **Tempo do seguimento** | <0.0001 | NA | 1.00 |
| **Cluster** | +0.76 | [-4.62,6.14] | 0.78 |

CCI: Escore de comorbidades de Charlson; IMC: Índice de massa corporal; IQR: Amplitude interquartil; SAPS: Escore Fisiológico Agudo Simplificado; SOFA: Avaliação sequencial da disfunção orgânica.

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como principal finalidade investigar se existem fenótipos inflamatórios diferentes de pacientes com COVID-19, a repercussão na função pulmonar a longo prazo, e encontrar preditores de risco para impacto nos desfechos de função pulmonar em um ano após a internação hospitalar por COVID-19.

Esse estudo mostrou que o perfil de pacientes hospitalizados por COVID-19 foi masculino (61%), com média de idade de 54 anos e com sobrepeso (IMC médio 27 $Kg/m^2$), condizente com a maioria dos estudos (Benedetto et al., 2023; De Azevedo et al., 2022; Sahin; Satar; Ergün, 2024). Como esse estudo incluiu pacientes com necessidade de oxigênio suplementar, ventilação não invasiva e ventilação invasiva, cerca de 78% dos casos fizeram uso de corticosteroide sistêmico, provavelmente pela gravidade dos casos. O tempo prolongado de internação hospitalar (média de 21 dias), condiz com outros estudos (Sahin; Satar; Ergün, 2024; Schmidt; Piva; Sbruzzi, 2022).

O escore SOFA total foi em média 4,4 pontos, porém, com média de 3 pontos no SOFA respiratório, mostrando uma disfunção orgânica com predomínio de comprometimento no sistema respiratório. Estudo realizado por Macuzo et al (2021), mostrou uma média do SOFA de 2,3 (DP $\pm$ 2,1) em pacientes hospitalizados por COVID-19 (Mancuzo et al., 2021). Estudo realizado na China com paciente graves hospitalizados, com perfil de idade e sexo semelhantes, mostrou escore SOFA mediana 3 (DP $\pm$ 1) nos casos graves (Yang et al., 2021).

Ao realizar a clusterização não-hierárquica, foram encontrados dois clusters distintos baseados no perfil de citocinas inflamatórias associadas aos perfis Th1, Th2 e Th17, sugerindo que existe um fenótipo de pacientes com COVID-19 que apresentam um estado hiperinflamatório, que pode estar associado a “tempestade de citocinas”, diferente de outros estudos que encontraram um número maior de cluster ótimos como citado abaixo.

Um estudo realizou uma clusterização hierárquica baseada nos níveis plasmáticos de 42 biomarcadores diversos, e encontrou três clusters distintos, denominados cluster de ativação imune limitada, cluster de ativação imune inata, e cluster de ativação imune sistêmica (Dhingra et al., 2024). Esses clusters apresentaram níveis contrastantes de inflamação e com perfil clínico e demográfico

distintos. Isso diverge do nosso estudo, que apesar de mostrar dois clusters distintos, sendo o cluster denominado $T^{high}$ com citocinas elevadas, o perfil demográfico e clínico dos participantes era semelhantes nos nossos clusters, mostrando que, mesmo semelhantes clinicamente, é necessário diferenciar o perfil inflamatório dos pacientes para uma provável condução terapêutica diferente.

Outro estudo multicêntrico na Irlanda encontrou 4 clusters distintos, sendo um com baixa inflamação; o cluster 2 de reparo tecidual, com ativação Th1 e Th2 e níveis elevados de fatores de crescimento, mostrando uma resposta inflamatória sistêmica adequada com resposta regulatória proporcional; o cluster 3 de lesão tecidual, apresentou níveis elevados de marcadores precoces de lesão epitelial alveolar, com maior risco de desenvolver doença grave e o cluster 4 com inflamação sistêmica, que desenvolveram a típica tempestade de citocinas, com alto risco também de desenvolver doença grave, entretanto, também estava aumentado as citocinas imunomodulatórias, que podem limitar a gravidade (Kenny et al., 2024).

Ao complementar a análise de clusterização nesse estudo através da análise de mais 52 biomarcadores inflamatórios, houve uma diferença estatística significativa no nível dos biomarcadores entre os clusters, reforçando o achado inicial dos clusters por K-means, pois os 22 biomarcadores elevados, foram novamente no cluster $T^{high}$. Isto reforça a possibilidade dos pacientes do cluster $T^{high}$ apresentarem um estado pró-inflamatório sistêmico mais acentuado. Os biomarcadores elevados no cluster $T^{high}$ em relação ao outro cluster foram: as citocinas INF-α, IL-1α, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-15, IL-31, LIF, MSCF e TNF-beta; as quimiocinas CCL2, CCL11, CCL20, CXCL9, CXCL-10, CXCL-11, CXCL-12 e CX3CL1; os fatores de crescimento SCF e VEGFα; e o receptor solúvel CD30.

Estudos prévios mostraram que IFN-γ, IL-4 e IL-8 tem papel na progressão da COVID-19, causando uma resposta inflamatória exagerada (IFN-γ, IL-8) ou nos processos de regeneração e modulação imunológica que ocorrem na fase tardia da doença (IL-4) (Leal et al., 2024). Outro estudo mostrou que existe uma associação bem definida entre citocinas e COVID-19 grave (aumento de IL-2, IL-6, TNFα, IL-1β e IL-10), além de IP-10, G-CSF e IL-33 (Hawerkamp et al., 2023).

Estudo mostrou que a modulação da resposta imune e suas modificações causadas pela infecção têm importante papel no desfecho clínico do paciente. Diversas citocinas (IL-1β, IL-1RA, IL-6 IL-7, IL-8, IL-9, IL-10) e os marcadores inflamatórios associados (LDH, GM-CSF, IFN-γ, IP10, TNF-α, e VEGF) nos auxiliam

na compreensão de como o SARS-CoV-2 deprime a resposta imune sadia e predispõe a um estado pró-inflamatório e auto-reativo, propagando a inflamação e favorecendo danos teciduais em múltiplos órgãos (Leal et al., 2024).

Neste sentido, após a definição dos clusters inflamatórios, foi realizado um modelo misto linear para avaliar de forma robusta a associação entre as variáveis clínicas iniciais, perfis inflamatórios e a recuperação funcional pulmonar no COVID longa (após 1 ano da alta hospitalar).

Na análise multivariada da função pulmonar após 12 meses da alta hospitalar por COVID-19, observou-se que o aumento da idade esteve associado à redução da DLCO, da capacidade pulmonar total (CPT) e do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1). No entanto, essas associações não atingiram significância estatística, o que sugere uma tendência que pode estar relacionada ao envelhecimento natural da função pulmonar, mas sem confirmação robusta neste conjunto amostral. Curiosamente, a pressão inspiratória máxima (PImáx) apresentou comportamento inverso: o aumento da idade associou-se a valores mais elevados de PImáx, com significância estatística limítrofe ($p = 0,05$). Esse achado pode refletir uma preservação ou compensação da força muscular respiratória em idosos sobreviventes à COVID-19, embora também possa estar relacionado a viés amostral ou diferenças na reabilitação pós-alta.

No que se refere ao sexo biológico, verificou-se que o sexo feminino apresentou valores significativamente mais baixos de PImáx em comparação aos homens (diferença média de 8 unidades, $p = 0,002$), o que aponta para possível maior comprometimento da musculatura inspiratória em pacientes do sexo feminino. Embora tenham sido observadas outras variações em função do sexo, como redução da DLCO e aumento da CPT e do VEF1 em mulheres, nenhuma dessas diferenças foi estatisticamente significativa. Esses achados estão em consonância com a literatura recente, que descreve normalização dos parâmetros espirométricos e da força muscular respiratória mesmo na presença de sintomas persistentes como fadiga e dispneia em pacientes do sexo feminino após infecção por SARS-CoV-2 (Rebouças, 2024; De Sousa et al., 2024).

A relação entre a gravidade da COVID-19 aguda e as sequelas pulmonares tardias foi explorada por meio da pontuação no escore SOFA, amplamente utilizado para quantificar disfunção orgânica em pacientes críticos. Neste estudo, observou-se que o aumento de 1 ponto no escore SOFA esteve associado a uma redução média

de 1,4 unidades na DLCO, com significância estatística (p = 0,03), evidenciando o impacto negativo da disfunção multissistêmica sobre a troca gasosa pulmonar. Embora tendências de redução também tenham sido observadas para CPT, VEF1 e PImáx, essas não foram estatisticamente significativas. Esses dados corroboram com achados prévios que associam escores elevados no SOFA com maior gravidade da COVID-19 e maior risco de desenvolvimento de sintomas persistentes ou COVID longa (Esmaeili Tarki et al., 2023; Yang et al., 2021; Zhou et al., 2020).

Um achado inesperado foi a associação entre maior escore de comorbidades pelo índice de Charlson (CCI) e valores mais altos de VEF1 (p = 0,01). Essa correlação positiva contraria a expectativa de que o aumento do número de comorbidades se associaria a pior função pulmonar, podendo refletir viés de sobrevivência ou subgrupo de pacientes com acompanhamento mais rigoroso e maior adesão a intervenções de reabilitação, o que teria contribuído para a preservação da função ventilatória.

Quanto ao tempo de seguimento, os parâmetros de função pulmonar avaliados (DLCO, CPT, VEF1 e PImáx) não apresentaram diferença significativa entre os exames realizados aos 6 e 12 meses após a alta hospitalar. Isso sugere uma estabilização funcional a partir do sexto mês de recuperação, mesmo entre pacientes que continuam a relatar sintomas respiratórios persistentes. Tal padrão já foi descrito em estudos anteriores, que demonstram que, apesar de até 70% dos pacientes referirem dispneia após 6 meses, os parâmetros espirométricos e de força muscular respiratória frequentemente se mantêm dentro da normalidade (Schmidt, Piva e Sbruzzi, 2022; Rebouças, 2024; De Sousa et al., 2024).

Por fim, na análise de cluster, observa-se que ser do cluster com citocinas inflamatórias aumentadas (cluster $T^{high}$) reduziu cerca 7 unidades a DLCO (p=0,004). Além disso, contraditoriamente, aumentou a CPT cerca de 5 unidades (p=0,017) sugerindo uma maior recuperação da CPT após 12 meses no cluster $T^{High}$. Diante do fato que os paciente mais críticos evoluem com mais fibrose pulmonar, espera-se que a CPT estaria reduzida, porém, esses quadros também reduzem troca gasosa (DLCO), compatível com o que foi encontrado no nosso estudo.

Com relação ao VEF1 e PImax, ser do cluster $T^{high}$ houve correlação positiva, porém sem significância estatística. Esses achados reforçam a importância da resposta inflamatória sistêmica como determinantes da recuperação pulmonar no longo prazo.

Confirmando a hipótese deste estudo, existem pacientes com perfil clínico e demográfico semelhantes, porém, com fenótipos diferentes baseado no perfil inflamatório, e o fenótipo com biomarcadores inflamatórios elevados apresentou pior troca gasosa, que pode justificar os sintomas respiratórios persistentes na COVID longa.

O presente estudo tem como limitações um tamanho de amostra reduzido devido aos óbitos e perda de seguimento para realização de função pulmonar aos doze meses e foi restrito a um único hospital, limitando a generalização dos achados. Além disso, durante a avaliação não foi realizado coleta de dados sobre reabilitação, tabagismo, uso de medicamentos inalatórios e suporte pós-hospitalar, que podem interferir nos desfechos respiratórios e função pulmonar. Houve ainda a limitação de estudos correlacionando perfis inflamatórios e preditores de função pulmonar para comparação.

## 6. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que há uma associação significativa entre os perfis inflamatórios sistêmicos na fase aguda da COVID-19 e a função pulmonar um ano após a alta hospitalar. Através da clusterização de pacientes com base em citocinas dos perfis Th1, Th2 e Th17, foi possível identificar dois grupos distintos: um grupo com alta expressão inflamatória ($T^{High}$) e outro com baixa expressão inflamatória ($T^{Low}$). Pacientes pertencentes ao grupo $T^{High}$ apresentaram piores índices de capacidade de difusão pulmonar (DLCO) após 12 meses, reforçando a hipótese de que o estado hiperinflamatório inicial pode influenciar negativamente a recuperação funcional pulmonar no longo prazo.

Entre os fatores analisados, o escore SOFA na admissão hospitalar também se mostrou um preditor independente de pior função pulmonar, especificamente com impacto negativo sobre a DLCO. Esses achados indicam que a gravidade clínica durante a fase aguda da doença e a resposta imunológica exacerbada, representada por níveis elevados de citocinas inflamatórias, estão associadas a sequelas respiratórias tardias. Tal evidência é coerente com a literatura recente sobre COVID longa e contribui para o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes às disfunções pulmonares crônicas observadas nesses pacientes.

Os resultados deste estudo destacam a existência de diferentes vias inflamatórias na COVID-19, gerando fenótipos distintos com consequências variáveis para a recuperação pulmonar. Esses achados representam uma contribuição valiosa para a medicina de precisão, ao fornecer subsídios para identificar pacientes com maior risco de desenvolver disfunções pulmonares tardias. Além disso, reforçam a importância da avaliação precoce de biomarcadores inflamatórios durante a internação como ferramenta prognóstica, possibilitando o planejamento de intervenções terapêuticas mais personalizadas e o aprimoramento de estratégias de reabilitação na COVID longa, com foco na estratificação de risco e na melhoria da qualidade de vida dos sobreviventes.

## REFERÊNCIAS

ACOSTA-AMPUDIA, Yeny *et al.* Persistent Autoimmune Activation and Proinflammatory State in Post-Coronavirus Disease 2019 Syndrome. **Journal of Infectious Diseases**, v. 225, n. 12, p. 2155–2162, 15 jun. 2022.

AL-ALY, Ziyad. **Long Covid is a significant health crisis in China too**. **The Lancet Regional Health - Western Pacific**Elsevier Ltd, , 1 nov. 2024.

ALBERTO, Carlos *et al.* Novos valores de referência para espirometria forçada em brasileiros adultos de raça branca*. **J Bras Pneumol**, v. 33, n. 4, p. 397–406, 2007.

ALMEIDA, Amanda Bócoli de *et al.* Marcadores bioquímicos na COVID-19: Uma revisão na literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e6310313045, 6 mar. 2021.

ALVES DE SOUZA, Luiz Fernando *et al.* Biomarcadores inflamatórios em pacientes com diabetes e COVID-19. **Concilium**, v. 22, n. 6, p. 251–263, 1 nov. 2022.

AMDAL, Cecilie Delphin *et al.* **Health-related quality of life issues, including symptoms, in patients with active COVID-19 or post COVID-19; a systematic literature review**. **Quality of Life Research**Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 dez. 2021.

BENEDETTO, Igor Gorski *et al.* Impact of impaired pulmonary function on clinical outcomes in survivors of severe COVID-19 without pre-existing respiratory disease. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 49, n. 3, 2023.

BLAIR, Paul W. *et al.* Distinct blood inflammatory biomarker clusters stratify host phenotypes during the middle phase of COVID-19. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.

BRETAS, Daniel Cruz *et al.* Lung function six months after severe COVID-19: Does time, in fact, heal all wounds? **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, n. 3, 1 maio 2022.

CAMPOS, Mônica Rodrigues *et al.* Burden of disease from COVID-19 and its acute and chronic complications: Reflections on measurement (DALYs) and prospects for the Brazilian Unified National Health System. **Cadernos de Saude Publica**, v. 36, n. 11, 2020.

CARVALHO, Ronaldo *et al.* **Aspectos Radiológicos Pulmonares da Covid de Longa Duração Lung Radiological Aspects of Long-Term Covid**. *[S.l.: S.n.]*.

CHARLSON, Mary E. *et al.* A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. **Journal of Chronic Diseases**, v. 40, n. 5, p. 373–383, jan. 1987.

CROOK, Harry *et al.* **Long covid - Mechanisms, risk factors, and management**. **The BMJ**BMJ Publishing Group, , 26 jul. 2021.

CRUZ, Izadora Lima da *et al.* Síndrome pós-COVID-19 e suas complicações a longo prazo: Uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 13, n. 2, p. e11613240285, 26 fev. 2024.

DE AZEVEDO, Helena Moraes Jardim *et al.* Persistence of symptoms and return to work after hospitalization for COVID-19. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 48, n. 6, 2022.

DHINGRA, Shaurya *et al.* Identification of inflammatory clusters in long-COVID through analysis of plasma biomarker levels. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 2024.

DIAS ALVES, Janine. **Avaliação de marcadores bioquímicos na Síndrome Pós-COVID**. *[S.l.: S.n.]*.

ESPÍN, Estefanía *et al.* **Cellular and molecular biomarkers of long COVID: a scoping review**. **eBioMedicine**Elsevier B.V., , 1 maio 2023.

HAWERKAMP, Heike C. *et al.* Characterisation of the pro-inflammatory cytokine signature in severe COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 2023.

HOLMES, Edward C. *et al.* **The origins of SARS-CoV-2: A critical review**. **Cell**Elsevier B.V., , 16 set. 2021.

HU, Ben *et al.* **Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19**. **Nature Reviews Microbiology**Nature Research, , 1 mar. 2021.

IBA, Toshiaki *et al.* **Coagulopathy in COVID-19**. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**Blackwell Publishing Ltd, , 1 set. 2020.

JACKSON, Cody B. *et al.* **Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells**. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**Nature Research, , 1 jan. 2022.

KATZ-AGRANOV, Nurit; ZANDMAN-GODDARD, Gisele. **Autoimmunity and COVID-19 – The microbiotal connection**. **Autoimmunity Reviews**Elsevier B.V., , 1 ago. 2021.

KENNY, Grace *et al.* Early inflammatory profiles predict maximal disease severity in COVID-19: An unsupervised cluster analysis. **Heliyon**, v. 10, n. 15, 15 ago. 2024.

LEAL, Guilherme Guimarães *et al.* **Imunopatologia inflamatória da COVID-19 e sua correlação com a gravidade da doença.** , 4 jan. 2024. Disponível em: <https://preprints.scielo.org/index.php/scielo/preprint/view/7798/version/8245>

LEE, Jong Hyuk; YIM, Jae Joon; PARK, Jimyung. Pulmonary function and chest computed tomography abnormalities 6–12 months after recovery from COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Respiratory Research**, v. 23, n. 1, 1 dez. 2022.

LESSA, Thamine; DE CASTRO PEREIRA, Carlos Alberto; SOARES, Maria Raquel. Reference equations for plethysmographic lung volumes in White adults in Brazil as derived by linear regression. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 47, n. 1, p. 1–2, 2021.

LIMA, Ana Paula Sokolowski de *et al.* Análise dos níveis de biomarcadores inflamatórios em pacientes internados em unidade de terapia intensiva, em diferentes períodos da pandemia do Covid-19. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 55, n. 3, 2023.

MANCILLA-CEBALLOS, Roberto *et al.* Inflammation associated with lung function abnormalities in COVID-19 survivors. **BMC Pulmonary Medicine**, v. 23, n. 1, 1 dez. 2023.

MANCUZO, Eliane Viana *et al.* Lung function of patients hospitalized with COVID-19 at 45 days after hospital discharge: first report of a prospective multicenter study in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 47, n. 6, 2021.

MERAD, Miriam *et al.* **The immunology and immunopathology of COVID-19**. *[S.l.: S.n.]*. Disponível em: <https://www.science.org>.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo *et al.* **Sistema Imunitário-Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e BRev Bras Reumatol**. *[S.l.: S.n.]*.

MOHAMADIAN, Malihe *et al.* **COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis**. **Journal of Gene Medicine**Blackwell Publishing Inc., , 1 fev. 2021.

MONJE, Michelle; IWASAKI, Akiko. **The neurobiology of long COVID**. **Neuron**Cell Press, , 2 nov. 2022.

MORENO, Rui P. *et al.* SAPS 3 - From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: Development of a prognostic model for hospital mortality at ICU admission. **Intensive Care Medicine**, v. 31, n. 10, p. 1345–1355, 2005.

PAES GOMES, Sharla. **Estratificação das concentrações de interleucina 6 com potencial para identificação de novos biomarcadores de prognóstico na COVID-19**. *[S.l.: S.n.]*.

PRATA, Tarciane Aline. **Avaliação das alterações de função pulmonar e da qualidade de vida após 12 meses da doença aguda pela infecção por SARS-CoV-2 em pacientes hospitalizados**. *[S.l.: S.n.]*.

PRATA, Tarciane Aline *et al.* Lung function and quality of life one year after severe COVID-19 in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 50, n. 2, 2024.

SAHIN, Mustafa Engin; SATAR, Seher; ERGÜN, Pınar. Predictors of reduced incremental shuttle walk test performance in patients with long post-COVID-19. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 49, n. 6, 2024.

SALETTE RINCÓN, María *et al.* **Physiopathology and immunopathology of COVID-19: Narrative review COVID-19: Fisiopatología e inmunopatologíaMED INTERNA (CARACAS) VOLUMEN**. *[S.l.: S.n.]*.

SANCHEZ-RAMIREZ, Diana C. *et al.* **Long-term impact of COVID-19: A systematic review of the literature and meta-analysis**. **Biomedicines**MDPI AG, , 1 ago. 2021.

SCHMIDT, Débora; PIVA, Taila Cristina; SBRUZZI, Graciele. Função pulmonar e força muscular respiratória na alta hospitalar em pacientes com COVID-19 pós internação em Unidade de Terapia Intensiva. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 29, n. 2, p. 169–175, ago. 2022.

SEYED HOSSEINI, Elahe *et al.* The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. **Virology**, v. 551, p. 1–9, 1 dez. 2020.

SHUKLA, Ajay Kumar; MISRA, Saurav. **An overview of post COVID sequelae**. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**De Gruyter Open Ltd, , 1 nov. 2022.

SINGH, Sally J. *et al.* **Respiratory sequelae of COVID-19: pulmonary and extrapulmonary origins, and approaches to clinical care and rehabilitation**. **The Lancet Respiratory Medicine**Elsevier Ltd, , 1 ago. 2023.

SOARES, M. ,. Salluh, J. I. F. ,. Spector, N. ,. et al. SAPS 3 scores for stratification of critically ill patients according to the type of admission: a cohort study. **Critical Care**, 2006.

SOLOMON, Joshua J. *et al.* **CT of Postacute Lung Complications of COVID-19 Manuscript type: Review**. *[S.l.: S.n.]*.

WATANABE, Atsuyuki *et al.* **One-year follow-up CT findings in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis**. **Respirology**John Wiley and Sons Inc, , 1 ago. 2022.

YANG, Zheng *et al.* The prognostic value of the SOFA score in patients with COVID-19: A retrospective, observational study. **Medicine (United States)**, v. 100, n. 32, p. E26900, 13 ago. 2021.