

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Enfermagem – Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde

Larissa Oliveira de Assis

Estado nutricional e inflamação em indivíduos com COVID-19 de três cidades do Brasil.

Belo Horizonte

2023

Larissa Oliveira de Assis

Estado nutricional e inflamação em indivíduos com COVID-19 de três cidades do Brasil.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Área de Concentração: Nutrição e Saúde

Linha de Pesquisa: Nutrição Clínica e Experimental

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Caetano de Faria

Co-orientadora: Profa. Dra. Gabriela Silveira Nunes Abreu

Belo Horizonte

2023

Assis, Larissa Oliveira de.

AS848e Estado nutricional e inflamação em indivíduos com COVID-19 de três cidades do Brasil [recursos eletrônicos]. / Larissa Oliveira de Assis. -- Belo Horizonte: 2023.

100.: il.

Formato: PDF.

Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Ana Maria Caetano de Faria. Coorientador (a): Gabriela Silveira Nunes Abreu. Área de concentração: Nutrição e Saúde.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

I. COVID-19. 2. Inflamação. 3. Estado Nutricional. 4. Dissertação Acadêmica. I. Faria, Ana Maria Caetano de. II. Abreu, Gabriela Silveira Nunes. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: WY 153.7

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENFERMAGEM
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

ATA DE NÚMERO 88 (OITENTA E OITO) DA SESSÃO DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA DISSERTAÇÃO APRESENTADA PELA CANDIDATA LARISSA OLIVEIRA DE ASSIS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

Aos 30 (trinta) dias do mês de janeiro de dois mil e vinte e três, às 14:00 horas, realizou-se por videoconferência, a sessão pública para apresentação e defesa da dissertação "ESTADO NUTRICIONAL E INFLAMAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM COVID-19 DE TRÊS CIDADES DO BRASIL", da aluna **Larissa Oliveira de Assis**, candidata ao título de "Mestre em Nutrição e Saúde", linha de pesquisa "Nutrição Clínica e Experimental". A Comissão Examinadora foi constituída pelas professoras doutoras Ana Maria Caetano de Faria, Gabriela Silveira Nunes Abreu, Adaliene Versiani Matos Ferreira e Jacqueline Isaura Alvarez Leite, sob a presidência da primeira. Abrindo a sessão, a Senhora Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

- APROVADO;
 APROVADO COM AS MODIFICAÇÕES CONTIDAS NA FOLHA EM ANEXO;
 REPROVADO.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela Senhora Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Mateus Gomes Pedrosa, Secretário do Colegiado de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 30 de janeiro de 2023.

Prof^ª. Dr^ª Ana Maria Caetano de Faria
Orientadora (UFMG)

Prof^ª. Dr^ª. Gabriela Silveira Nunes Abreu
Membro Titular (UFJF)

Prof^ª. Dr^ª. Adaliene Versiani Matos Ferreira
Membro Titular (UFMG)

Prof^ª. Dr^ª. Jacqueline Isaura Alvarez Leite
Membro Titular (UFMG)

Mateus Gomes Pedrosa
Secretário do Colegiado de Pós-Graduação



Documento assinado eletronicamente por **Ana Maria Caetano de Faria, Professora do Magistério Superior**, em 06/02/2023, às 08:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gabriela Silveira Nunes Abreu, Usuário Externo**, em 06/02/2023, às 14:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jacqueline Isaura Alvarez Leite, Professora do Magistério Superior**, em 06/02/2023, às 15:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adaliene Versiani Matos Ferreira, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 08/02/2023, às 09:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mateus Gomes Pedrosa, Assistente em Administração**, em 08/02/2023, às 09:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2063294** e o código CRC **8085B1A8**.

RESUMO

A COVID-19 é uma doença pandêmica provocada pelo vírus SARS-CoV-2. Em algumas pessoas, o processo inflamatório do organismo para combater essa enfermidade é exacerbado, gerando piora no prognóstico e, conseqüentemente, a morte de milhares de pessoas em todo mundo. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de uma maior gravidade dessa doença está a obesidade e as comorbidades associadas a ela. Assim, a identificação do perfil inflamatório de acordo com o estado nutricional pode possibilitar a identificação de pessoas com maior risco de internação nos primeiros dias de sintomas e possibilitando uma intervenção mais rápida. Este trabalho teve, como objetivo, a avaliação do impacto do estado nutricional no desfecho da COVID-19 e, identificar se o perfil inflamatório nos primeiros dias de sintomas, avaliado pela medida de citocinas e quimiocinas no plasma e de proteínas de fase aguda no soro desses indivíduos e verificar se esse perfil está associado ao prognóstico da COVID-19 em adultos das cidades de Belo Horizonte, Governador Valadares e São Paulo. Neste estudo transversal, foram incluídos 123 voluntários com COVID-19 e 95 com síndrome gripal não provocada pelo SARS-CoV-2. Esses indivíduos foram segregados também pelo seu índice de massa corporal em eutróficos, com sobrepeso e obesos. Os resultados deste trabalho mostram que há correlação entre obesidade e aumento de internação e, que ocorrem alterações no perfil inflamatório dessas pessoas caracterizada por maiores concentrações plasmáticas de IL-2, TNF e IL-6, IL-5 e IL-10 que os grupos com sobrepeso ou eutrofia. Os indivíduos com obesidade ou sobrepeso infectadas com o SARS-CoV-2 apresentaram concentrações mais altas de CXCL10, CCL2 e ferritina em comparação com os eutróficos e níveis mais altos de IL-1ra que os eutróficos com COVID-19. Na avaliação global pelo gráfico em radar, observamos que aproximadamente metade dos obesos com COVID-19 eram altos produtores para todas citocinas e quimiocinas avaliadas. Nossos dados mostram, assim, que a obesidade se associa à produção exacerbada de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias que foram avaliadas nos primeiros dias de sintomas de COVID-19. Esses resultados confirmam que a obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento das formas graves da COVID-19 e sugerem que esse desfecho pode estar associado à hiper-reatividade imunológica observada na infecção pelo SARS-CoV-2.

Palavras-chaves: COVID-19; Inflamação; Estado nutricional

ABSTRACT

COVID-19 is a pandemic disease caused by the SARS-CoV-2 virus. In some people, the body's inflammatory process to combat this disease is exacerbated, leading to worse prognosis and, consequently, the death of thousands of people around the world. Among the risk factors for the development of a greater severity of this disease is obesity and the comorbidities associated with it. Thus, the identification of the inflammatory profile according to the nutritional status can make it possible to identify people with a higher risk of hospitalization in the first days of symptoms, allowing for a faster intervention. This study aimed to assess the impact of nutritional status on the outcome of COVID-19 and to identify whether the inflammatory profile in the first days of symptoms, assessed by measuring cytokines and chemokines in plasma and acute phase proteins in serum of these individuals and verify whether this profile is associated with the prognosis of COVID-19 in adults in the cities of Belo Horizonte, Governador Valadares and São Paulo. In this cross-sectional study, 123 volunteers with COVID-19 and 95 with flu syndrome not caused by SARS-CoV-2 were included. These individuals were also segregated by their body mass index into eutrophic, overweight and obese. The results of this study show that there is a correlation between obesity and increased hospitalization, and that changes occur in the inflammatory profile of these people characterized by higher plasma concentrations of IL-2, TNF and IL-6, IL-5 and IL-10 than the groups overweight or eutrophic. Obese or overweight individuals infected with SARS-CoV-2 had higher concentrations of CXCL10, CCL2 and ferritin compared to eutrophic individuals and higher levels of IL-1ra than eutrophic individuals with COVID-19. on radar, we observed that approximately half of the obese with COVID-19 were high producers for all cytokines and chemokines evaluated. Our data thus show that obesity is associated with the exacerbated production of inflammatory and anti-inflammatory cytokines that were evaluated in the first days of COVID-19 symptoms. These results confirm that obesity is a risk factor for the development of severe forms of COVID-19 and suggest that this outcome may be associated with the immune hyperreactivity observed in SARS-CoV-2 infection.

Keywords: COVID-19; Inflammation; Nutritional status

ABREVIATURAS

AGEs	Produtos finais de glicação avançada
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
C°	Graus Celsius
CCL	Ligante de quimiocina C-C
CONEP	Comitê Nacional de Ética em Pesquisa
CXCL	Quimiocina com motivo C-X-C
DCV	Doenças cardiovasculares
DHGNA	Esteatose hepática gordurosa não alcoólica
DM	Diabetes mellitus
DRC	Doença renal crônica
E	Envelope
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
G-CSF	Fator estimulador de colônias granulocitárias
HAS	Hipertensão arterial
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IC	Insuficiência cardíaca
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
JNKs	c-Jun N-terminal quinases
Kg	Quilograma
M	Matriz
m ²	Metros quadrados
N	Nucleocapsídeo
NF-κB	Factor nuclear kappa B
NK	Natural Killer
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Proteína C reativa
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Teste Transcrição Reversa Seguida de Reação em Cadeia da Polimerase

S	Spike
SA- β -gal	β -galactosidase associada à senescência
SASP	Fenótipo secretor associado à senescência
SG	Síndrome Gripal não provocada pelo vírus SARS-COV-2
SNS	Sistema nervoso simpático
SRA	Sistema renina angiotensina
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Th	T helper
TMPRSS-2	Enzima protease transmembrana serina 2
TNF	Fator de Necrose Tumoral
Tregs	T reguladores
UPA	Unidade de Pronto Atendimento
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Evolução da COVID-19 para resolução ou agravamento do quadro	4
Figura 2:	Alterações imunometabólicas provocadas pela obesidade que pioraram o desfecho na infecção por SARS-CoV-2	10
Figura 3:	Delineamento do estudo	15
Figura 4:	Percentual de indivíduos internados segundo o estado nutricional	26
Figura 5:	Carga viral SARS-CoV-2 de acordo com o IMC	27
Figura 6	Carga viral de SARS-CoV-2 em indivíduos com COVID-19 estratificados de acordo com a gravidade (leves ou internados).	27
Figura 7:	Concentrações plasmáticas dos biomarcadores IL-2, TNF-alfa, IL-6, IL-5, IL-10, INF-gama, CXCL10, CCL2, IL-1ra de acordo com o estado nutricional e classificação clínica.	30
Figura 8:	Concentrações plasmáticas dos biomarcadores CXCL8, IL-12, CCL3, CCL4 e GM-CSF de acordo com o estado nutricional e classificação clínica	32
Figura 9:	Concentrações plasmáticas do biomarcador IL-13	33
Figura 10:	Concentrações plasmáticas dos biomarcadores IL-2, IL-6, IL-10, CCL2 e eotaxina de acordo com a gravidade segundo o estado nutricional	35
Figura 11:	Concentrações plasmáticas dos biomarcadores IL-10, G-SCF, IL-5, IL-12 de acordo com a gravidade segundo o estado nutricional	37
Figura 12:	Correlação entre os biomarcadores e o IMC segundo a classificação clínica	38
Figura 13:	Correlação dos 27 marcadores no grupo com SG, segundo o estado nutricional	41
Figura 14:	Correlação dos 27 marcadores no grupo com COVID-19, segundo o estado nutricional	42
Figura 15:	Análise do perfil global das citocinas e quimiocinas	44
Figura 16:	Questionário de Frequência Alimentar no grupo com COVID-19	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Caracterização da população global segundo a classificação clínica	22
Tabela 2:	Caracterização da população de estudo no grupo SG	23
Tabela 3:	Caracterização da população de estudo no grupo COVID-19	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Fisiopatologia do COVID-19	14
1.2. Obesidade e sistema imune	17
1.3. Obesidade e fatores de risco para COVID-19	19
1.4. Obesidade e COVID-19	22
2. JUSTIFICATIVA	24
3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo geral	25
3.2. Objetivos específicos	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. Desenho de estudo e seleção dos participantes	26
4.1.1. Critérios de inclusão e exclusão	28
4.1.2. Teste RT-PCR	28
4.1.3 Telemonitoramento	29
4.2. Coleta e tratamento das amostras	29
4.3. Medidas de citocinas no plasma	30
4.4 Medidas de proteínas de fase aguda no soro	30
4.5. Análise do Questionário de Frequência Alimentar	31
4.6. Análise estatística	31
4.6.1. Cálculo Amostral	32
5. RESULTADOS	33

5.1. Caracterização da amostra	33
5.2. Internação e estado nutricional	37
5.3. Carga viral de acordo com IMC	38
5.4. Avaliação de mediadores de acordo com a classificação clínica e estado nutricional	40
5.5. Mediadores associados à resposta Imunológica de indivíduos com COVID-19 de acordo com a gravidade e o estado nutricional	45
5.6. Análise de correlação	50
5.7. Análise global do perfil inflamatório	56
5.8. Questionário de Frequência Alimentar	58
6. DISCUSSÃO	59
7. CONCLUSÃO	66
8. FINANCIAMENTO	66
REFERÊNCIAS	67
Anexo 1: Termo de Consentimento Livre Esclarecido	75
Anexo 2: Questionário Clínico	79
Anexo 3: Questionário de Frequência Alimentar	82
APÊNDICE A - Artigo	83

1. INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, quando ocorreu um aumento de pacientes gravemente enfermos com pneumonia na cidade de Wuhan na China, o país notificou uma infecção viral de causa desconhecida para Organização Mundial de Saúde (OMS) em 31 de dezembro do mesmo ano e, em nove de janeiro de 2020, a OMS comunicou a identificação de um novo coronavírus (WHO, 2020a). No mês seguinte, o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus denominou o novo vírus como SARS-CoV-2 devido à sua semelhança genética com o SARS-CoV (Coronaviridae Study, 2020) e a OMS cunhou o termo COVID-19 como nome da doença causada pelo vírus SARS-Cov-2.

Nas semanas seguintes, ocorreu uma rápida disseminação dessa infecção e um mês depois, a OMS declarou oficialmente a COVID-19 uma pandemia, que se tornou uma crise sanitária e humanitária em escala global (WHO, 2020a).

Até o momento, acredita-se que os morcegos são os prováveis hospedeiros naturais do SARS-CoV-2, existindo também a possibilidade de que os pangolins sejam os hospedeiros intermediários entre o morcego e os humanos e que o contrabando de pangolins contribuiu para o início da infecção em humanos (LAM, et al., 2020).

A principal via de transmissão entre humanos ocorre por meio de gotículas secretadas pelo sistema respiratório de pessoas infectadas que são expelidas pelo espirro, pela tosse ou pela fala. A transmissão também acontece pelo contato com gotículas expelidas de indivíduos previamente infectados. Há ainda outras formas menos comuns, como fecal-oral (WHO, 2020b).

Em todo mundo, mais de seis milhões de pessoas foram a óbito em decorrência da infecção pelo SARS-Cov-2, o que tornou esta pandemia a mais letal dos últimos 100 anos. No Brasil, o primeiro caso de COVID-19 foi registrado em 26 de fevereiro de 2020, na cidade de São Paulo, em um homem que regressava de viagem pela Itália (BRASIL, 2022). A primeira morte pela doença ocorreu em 12 de março do mesmo ano e até o momento já se somam quase 700 mil mortes no país (CONASS, 2022).

Dentre os fatores de risco descritos para o agravamento da COVID-19 e maior risco de morte estão a idade avançada, sexo masculino, obesidade, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares (DCV), doença pulmonar crônica, doença renal crônica (DRC), câncer e doença hepática crônica (STEFAN et al., 2021).

1.1. Fisiopatologia do COVID-19

O SARS-CoV-2 é um beta-coronavírus envelopado, com estrutura esférica, composto por uma fita simples de RNA e quatro proteínas estruturais, sendo elas, a proteína Spike (S), proteína do nucleocapsídeo (N), proteína da “matriz” (M) da membrana e proteínas do envelope (E) (Lu et al., 2020; Kang et al., 2020).

A infecção ocorre pela interação da proteína S viral com receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), localizada principalmente nos pneumócitos tipo II, presentes nos alvéolos. A ativação proteolítica da proteína S pela enzima serinoproteases transmembrana 2 (TMPRSS-2) permite a fusão do vírus com a célula hospedeira. Em seguida, a proteína M viral realiza a ligação do RNA viral à superfície da célula hospedeira, permitindo a entrada do vírus. Após entrar na célula, a proteína N separa-se e o RNA viral é liberado para a tradução nos ribossomos do hospedeiro. Ao mesmo tempo, as proteínas S, M e E são encaminhadas para a membrana do retículo endoplasmático da célula hospedeira e, em seguida, elas são unidas à proteína N. Enfim, essas proteínas são processadas no complexo de Golgi formando um vírion maduro que sofre exocitose na membrana celular, liberando novas partículas de SARS-CoV-2 e desencadeando a COVID-19 (MACHHI, et al., 2020; Yuki et al. 2020).

O período de incubação do vírus é de aproximadamente 3 a 5 dias após a infecção. O aparecimento dos sintomas iniciais ocorre após este período devido ao aumento da carga viral. Alguns indivíduos combatem o vírus sem apresentarem indícios da infecção e são assintomáticos (Lauer et al., 2020; LI, Q. et al. 2020).

Entre 5 a 7 dias pós-infecção, ocorre o pico da carga viral, estimulando a piroptose. Nesse momento, há liberação de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) que, ao serem reconhecidos por células epiteliais vizinhas, ativam a via do fator nuclear kappa B (NF- κ B). Ademais, macrófagos residentes das vias aéreas respondem liberando citocinas, por exemplo, a interleucina (IL)-6 e o Fator de necrose tumoral (TNF). Ao mesmo tempo, células dendríticas apresentam os antígenos virais às células T residentes que respondem secretando quimiocinas, como o CXCL (quimiocina C-X-C) 5, CXCL8, CXCL10, CCL (ligante de quimiocina C-C) 2 e CCL5, aumentando o recrutamento de neutrófilos (Zheng et al., 2021; KIM et al., 2020; PAN et al., 2020).

Há também a liberação de interferons do tipo 1 (IFN- α e β) que interferem com a replicação

viral e aumentam o recrutamento de neutrófilos, macrófagos e células Natural Killer (NK) causando uma resposta anti-viral local caracterizada pela produção de espécies reativas de oxigênio, granzimas e perforinas. Esses mediadores, junto às células T citotóxicas, provocam dano e a morte das células infectadas (Yuki et al. 2020; HEWITT et al., 2021).

Após aproximadamente 8 dias do início da infecção, ocorre a resposta inflamatória tardia. Nessa fase, há um aumento de plasmócitos, de linfócitos T efetores, linfócitos T citotóxicos que colaboram para a destruição das células já infectadas, além de linfócitos T reguladores (Tregs) que controlam a inflamação. A maior parte dos indivíduos infectados apresentam esse tipo de resposta equilibrada que permite o combate eficaz à infecção viral ao mesmo tempo que impede a exacerbação do processo inflamatório. Por essa razão, a maioria dos indivíduos desenvolvem sintomas leves da doença, caracterizados principalmente por sintomas gripais como cefaléia, febre, tosse, congestão nasal, mal-estar e dor no corpo. Podem ocorrer também sintomas gastrointestinais, como náusea, vômito e diarreia (Yuki et al. 2020; Larsen et al., 2020; Maucourant et al., 2020; Veras et al., 2020).

Entretanto, em algumas pessoas, a resposta pró-inflamatória continua sendo ativada com infiltração desordenada de células no pulmão, aumento da produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, redução na atividade das células Tregs responsáveis por liberarem citocinas anti-inflamatórias que inibem a inflamação (HEWITT et al., 2021).

Dessa forma, há uma resposta inflamatória e citotóxica descontrolada, caracterizada por um aumento de citocinas como IL-6, CXCL10, TNF, fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF) além de outros mediadores inflamatórios. Essa resposta exacerbada foi denominada tempestade de citocinas e gera lesão tecidual e apoptose das células que compõem o epitélio pulmonar, o extravasamento do conteúdo intracelular com alta concentração de exsudato proteico, provocando edema local e prejuízo da função alveolar. Os pneumócitos respondem a esse processo aumentando a produção de surfactante, um composto que reduz a tensão local e permite a expiração, mas que, em excesso, induz a formação de uma membrana hialina que prejudica a troca gasosa aumentando a gravidade da doença (Bösmüller et al., 2020; TAY et al., 2020). Esse processo inflamatório pode ser visualizado na **Figura 1**.

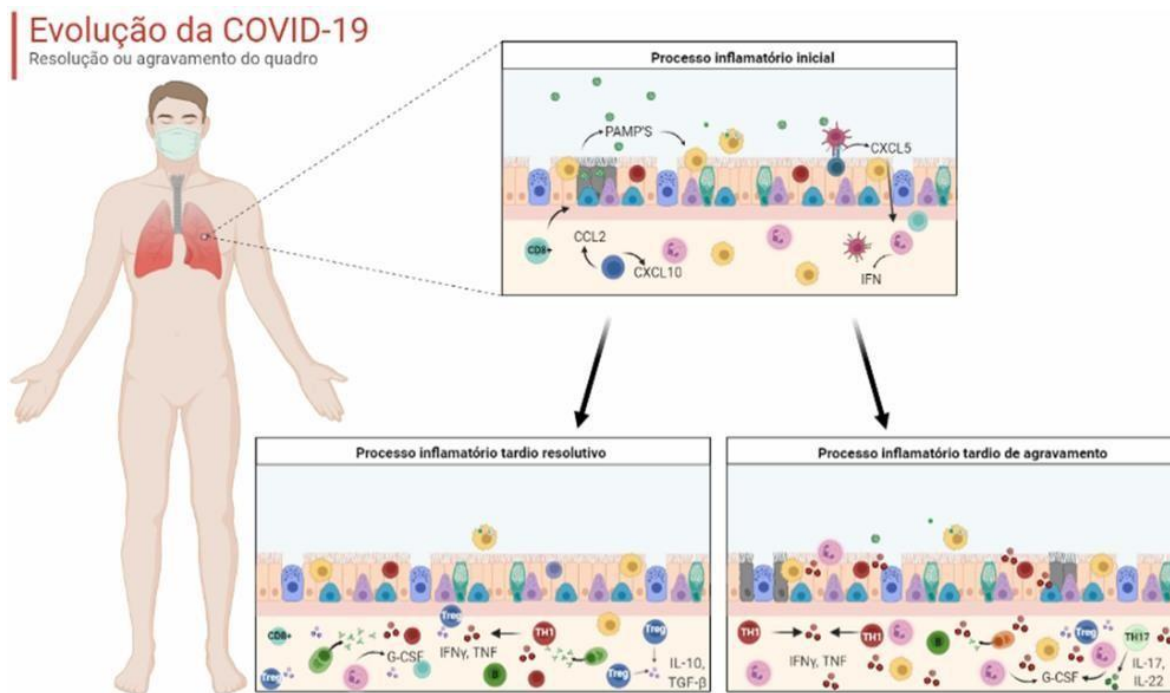


Figura 1: Evolução da COVID-19 para resolução ou agravamento do quadro (Original autora). O processo inflamatório para o combate da COVID-19 pode ser dividido entre etapa inicial e etapa tardia, sendo que a etapa inicial é caracterizada pela produção de PAMPs e quimiocinas e a etapa tardia corresponde ao aumento de citocinas e fatores de crescimento que podem induzir a recuperação do quadro após a redução do processo inflamatório ou exacerbação da inflamação e consequente agravamento do quadro.

Nos casos mais graves de COVID-19, a inflamação tem consequências sistêmicas devido ao aumento de citocinas na corrente sanguínea. Podem ocorrer, por exemplo, alterações no sistema nervoso central tais como déficit neurológico, perda do olfato e paladar, cefaléia, dor de cabeça, perda de memória. Além disso, alterações psiquiátricas como depressão e ansiedade também foram observadas. Alguns estudos sugerem que o SARS-CoV-2 pode induzir a síndrome da tempestade de citocinas intracranianas que resulta no prejuízo na função da barreira hematoencefálica (Mao et al., 2020; Rogers et al., 2020; Machhi, 2020).

O fígado pode ser afetado por infecções em outros tecidos, principalmente por infecções de vias áreas superiores, e isto pode ser demonstrado por um aumento sanguíneo das enzimas hepáticas e a presença de citocinas regulando a produção de proteínas de fase aguda (ADAMS e HUBSCHER, 2006). Outros fatores, como drogas utilizadas na terapêutica, podem sobrecarregar o fígado. Além disso, pode ocorrer lesão hepática por interações imunológicas envolvendo células T citotóxicas intra-hepáticas e células de Kupffer. Altos níveis de pressão expiratória final positiva utilizados na terapêutica de doenças infecciosas

respiratórias podem contribuir para o dano hepático e o aumento das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) (SAINI et al., 2020).

Além disto, a hiperinflamação e o aumento de dímero D, um produto de degradação da fibrina e marcador de coagulação que se eleva na COVID-19, pode estimular a coagulopatia e a trombose venosa profunda, derrame de grandes vasos, embolia pulmonar e tromboembolismo arterial e venoso sistêmico (ZHOU, 2021; Tavazzi et al. 2020; MACHHI, 2020). O processo fisiopatológico da doença pode aumentar ainda os níveis de angiotensina II, afetando o funcionamento dos podócitos e pode causar disfunção renal (Martinez-Rojas et al., 2020).

Assim, a COVID-19 é uma doença complexa que ocasiona prejuízos a diversos órgãos e tecidos, onde a inflamação exacerbada com aumento descontrolado da síntese de citocinas e quimiocinas parece ter um papel central.

1.2. Obesidade e sistema imune

A obesidade é uma doença crônica definida pela OMS como o excesso de gordura corporal, em quantidade que determina prejuízos à saúde (WHO, 2021). Essa enfermidade é caracterizada pelo acúmulo de triglicérides e uma expansão do tecido adiposo e tem origem multifatorial, sendo influenciada pela genética, preferências alimentares, questões psicossociais, ambientais, dentre outros (Wanderley et al., 2010)

Essa enfermidade aumentou nas últimas décadas em todo mundo devido a mudanças no sistema global de alimentação provocada por uma transição nutricional decorrente de alterações na reprodução e produção agrícola, fabricação, processamento, preservação e marketing de alimentos, além de modificações na frequência e horários dos episódios de comer e beber, sendo a obesidade considerada uma epidemia em vários países do mundo (Jaacks et al., 2019; Jackson et al., 2020).

Uma das formas de caracterizar a obesidade, segundo a OMS (2000), é por meio do Índice de Massa Corporal (IMC), o qual considera o indivíduo adulto com 18,5 a 24,9 quilogramas / metros quadrados (kg / m^2) eutrófico, entre 25,0 a 29,9 kg / m^2 sobrepeso e acima de 30,0 kg / m^2 obeso. Atualmente cerca 19,5% das pessoas no mundo apresentam obesidade sendo que o

Brasil apresenta uma média maior que a global, ultrapassando os 20% da população (Blüher et al., 2019).

O tecido adiposo possui várias células em sua composição, as principais células deste tecido são denominadas adipócitos e podem ser classificadas em três tipos: primeiro são os adipócitos brancos que correspondem cerca de 90% dessas células e possui um importante papel endócrino, o segundo é o adipócito marrom que corresponde aproximadamente de 1 a 2% desse tipo celular e é mais propenso a oxidação de ácidos graxos, consequentemente maior termogênese, o terceiro é caracterizado tecido adiposo bege, o qual é uma mistura de adipócitos brancos e marrons, que foi formando, possivelmente devido a mudança de alguns adipócitos brancos, mediante a estímulos, como a temperatura e a ativação de receptores adrenérgicos (Chait et al., 2020; Kahn et al., 2019). Entre 30 a 40% das células que compõem o tecido adiposo não são adipócitos, mas fibroblastos e células do sistema imune.

O tecido adiposo também apresenta uma capacidade endócrina, devido à sua habilidade em secretar adipocinas, entre as quais estão a adiponectina (sensibilizador de insulina, possui efeitos anti-inflamatórios em macrófagos) que está reduzida na obesidade, a leptina (suprime o apetite e aumenta inflamação mediada por $\text{INF-}\gamma$) que está aumentada na obesidade, a resistina (parece ser secretada por macrófagos residentes do tecido adiposo, prejudica a ação da insulina, tem um papel na inflamação pois regula positivamente as citocinas TNF e IL-6) e a omentina (é negativamente relacionada à produção de citocinas inflamatórias). Assim, a produção hormonal desse tecido interfere na ativação do sistema imunológico (Brennan et al., 2021; Chait et al., 2020).

O aumento do tecido adiposo ocorre por processos de hipertrofia e hiperplasia de suas células, sendo que a hipertrofia está associada a um aumento da produção de citocinas induzido pela hipóxia no tecido. Essa falta de oxigenação provoca a atração de mais células imunes (Ghaben e Scherer, 2019; Schipper et al., 2012).

Na obesidade hipertrófica, há ainda maior infiltração de neutrófilos e macrófagos classicamente ativados (M1) que secretam citocinas como o TNF (Schmidt et al., 2015). O TNF inibe a adipogênese, mas não a lipogênese hepática, assim, estimula o armazenamento de uma quantidade maior de triacilgliceróis em uma quantidade menor de adipócitos induzindo um ciclo onde a inflamação potencializa cada vez mais o processo inflamatório (Ghaben e Scherer, 2019).

Os macrófagos também agem aumentando a deposição de colágeno e provocando fibrose e aumento do estresse oxidativo que é potencializado pela presença de resistência à insulina, provocada pelas adipocinas e citocinas inflamatórias, gerando maior quantidade de ácidos graxos livres. Dessa forma, o estresse oxidativo ativa as vias c-Jun N-terminal quinases (JNKs) e NF- κ B induzindo a ativação do inflamassoma e elevação da liberação de citocinas IL-6, TNF, IL-1 β e IL-18 (Chait et al., 2020; Schipper et al., 2012).

Assim, a obesidade induz uma resposta inflamatória que aumenta a proporção de células CD4⁺ e CD8⁺ e a resposta inflamatória T helper (TH) 1 e diminui o número de células Tregs FOXP3⁺ (Schipper et al., 2012). A obesidade também aumenta a liberação de citocinas IL-5, IL-12, IL-13, IFN- γ sistemicamente provocando um processo inflamatório de baixo grau com consequências em todo o corpo tais como resistência à insulina e hipertensão (Schipper et al., 2012; Schmidt et al., 2015).

1.3. Obesidade e fatores de risco para COVID-19

O processo inflamatório de baixo grau provocado pela obesidade induz uma disfunção sistêmica que prejudica o funcionamento de diversos órgãos e tecidos e, assim, predispõe ao aparecimento de várias doenças crônicas associadas ao desfecho grave na COVID-19.

Entre as principais enfermidades provocadas pela obesidade está o diabetes mellitus tipo 2 que é a forma mais comum do diabete e representa cerca de 90% dos casos. O processo de desenvolvimento dessa condição está relacionado a uma metainflamação frequentemente observada nos obesos. Foi demonstrado que a hiperglicemia reduz a eficiência da fagocitose e da diapedese de macrófagos, além de afetar a apresentação de antígenos pelas células dendríticas e auxiliar na maior diferenciação de células Th1 e Th17, enquanto suprime a ação das células Tregs (Mauriello et al 2014; JIN et al., 2015; Grohová et al., 2019; Yao et al., 2006; Dáňová et al., 2017). A hiperglicemia também está associada ao aumento de produtos finais de glicação avançada (AGEs), que tem um papel importante na inflamação pulmonar ao ativar a via do NF- κ B (JIN et al., 2015; Oczypok et al., 2017). Consistente com esses achados, a ativação do receptor de AGEs em humanos com Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) foi relacionada com a gravidade da lesão pulmonar e aumento da mortalidade (Oczypok et al., 2017). Dessa forma, a glicemia e a hemoglobina glicada quando aumentadas

têm capacidade de contribuir na inflamação exacerbada contra a infecção por SARS-CoV-2, e induzir desfechos menos favoráveis.

Outro grupo de enfermidades relacionadas ao excesso de peso são as DCV's, para a qual a obesidade é um fator de risco independente. A DCV mais comum é a hipertensão arterial (HAS), caracterizada por elevação dos níveis pressóricos $\geq 140/90$ mmHg, a qual tem uma maior probabilidade de ocorrer em indivíduos com maior adiposidade devido a disfunções imuno-metabólicas e neuroendócrinas, incluindo aumento da produção de citocinas pelas células imunes e de noradrenalina mediada pelo sistema nervoso simpático (SNS). Estima-se que, para cada aumento de 5% da massa corporal, há uma elevação de 20 a 30% do risco de desenvolver hipertensão arterial (Mills et al., 2020; DeMarco et al., 2014). Essas alterações provocam disfunções no débito cardíaco, da resistência periférica e do sistema renina-angiotensina (SRA) e, desse modo, induzem descontrole da pressão arterial provocando uma disfunção vascular que por sua vez está associada a maior risco de hospitalização e morte por COVID-19 (Gallo et al., 2022).

As DCVs também causam uma disfunção vascular que aumenta a formação de placas ateromatosas e o processo de aterosclerose induzindo a doença arterial coronariana, considerada a doença que gera a maior despesa hospitalar do SUS. As DCVs se manifestam em especial como infarto agudo do miocárdio (IAM), podendo evoluir para insuficiência cardíaca (IC). A COVID-19 induz uma descompensação de uma série de doenças cardiovasculares que anteriormente estavam compensadas pois está associada a maior estímulo para a formação de placas ateromatosas, uma vez que induz a degradação da fibrina e aumento do dímero-D (Zhao et al., 2021).

O diabetes e a hipertensão são também as principais causas de DRC, outro fator de risco para a COVID-19 na forma grave por aumentar a pressão glomerular e sua destruição progressiva. A obesidade por si também está associada à vasodilatação renal e à hiperfiltração glomerular para compensar o volume de sódio e manter a normotermia. No entanto, essas compensações somadas a alterações metabólicas induzem um ciclo vicioso que potencializa ainda mais a probabilidade da injúria renal (Hall et al., 2014). Assim, a DRC induz um estado pró-inflamatório e de hipercoagulabilidade com possibilidade de alterações nas populações de células imunes no sangue, tais como linfocitopenia e leucocitose, fatores que aumentam o risco de desenvolvimento da forma grave da COVID-19 (Pecly et al., 2021).

Além disso, a obesidade, principalmente a obesidade visceral, está relacionada à redução da função do sistema respiratório. Dentre os motivos sugeridos para esse efeito estão o aumento da pressão abdominal que gera elevação do diafragma e, dessa maneira, redução do volume dos pulmões, ainda que a capacidade de insuflar e desinsuflar estejam preservadas nesses indivíduos. Além disso, a obesidade também aumenta o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono; assim, o trabalho mecânico é mais extenuante e pode ocorrer leve hipoxemia mesmo em indivíduos eucápnicos. O número de mastócitos no tecido pulmonar também está aumentado nos obesos, podendo provocar maior probabilidade de alergias respiratórias (Salome et al., 2010, Souza et al., 2012; Bais et al., 2017). Essas alterações provocam sintomas como sibilos, dispneia, ortopneia, síndrome da apneia obstrutiva do sono, síndrome da hipoventilação da obesidade, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, embolia pulmonar e pneumonia aspirativa, alergias e SRAG (Dixon et al., 2018; Zammit et al., 2010).

A obesidade com a inflamação, a resistência insulina e o padrão alimentar que a acompanham podem afetar o acúmulo de gordura no fígado causando a esteatose hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), onde ocorre um depósito de lipídios no citoplasma dos hepatócitos. Pacientes com DHGNA parecem ser mais propensos a danos hepáticos induzido pelo SARS-CoV-2. Ademais, pacientes cirróticos podem apresentar uma alteração na oxidação de lipídeos, estado pró-fibrótico e uma imunodeficiência sistêmica que os prejudica na ativação adequada do sistema imune para combater o vírus. De fato, esses indivíduos são mais propensos a necessitar de ventilação mecânica (Marjot et al., 2021; WU e SONG et al., 2020; Russo et al., 2022)

A obesidade também aumenta o risco de câncer devido à metainflamação, resistência à insulina e secreção hormonal anormal. Segundo o Instituto Nacional do Câncer, o excesso de peso pode causar cânceres de esôfago, estômago, pâncreas, vesícula biliar, fígado, colorretal, rins, mama, ovário, endométrio, meningioma, tireoide e mieloma múltiplo. O tratamento do câncer, seja ele quimioterápico, radioterápico ou cirúrgico leva à imunossupressão e este também é um dos fatores que aumentam o risco de redução da imunidade protetora na COVID-19. Pacientes com câncer e COVID-19 apresentam uma maior probabilidade de necessitarem de internação na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) em comparação com aqueles que não têm câncer, entretanto a influência da localização do câncer no desfecho ainda não é bem elucidado (Salunke et al., 2020).

Neste sentido, a obesidade além de ser um fator de risco para desenvolver a forma grave da COVID-19, ela também aumenta o risco de desenvolvimento de outras doenças que também são um fator de risco (**Figura 2**). Dessa forma, pode-se dizer que o aumento da adiposidade observada na obesidade provoca um grupo de distúrbios heterogêneos com implicações sistêmicas.

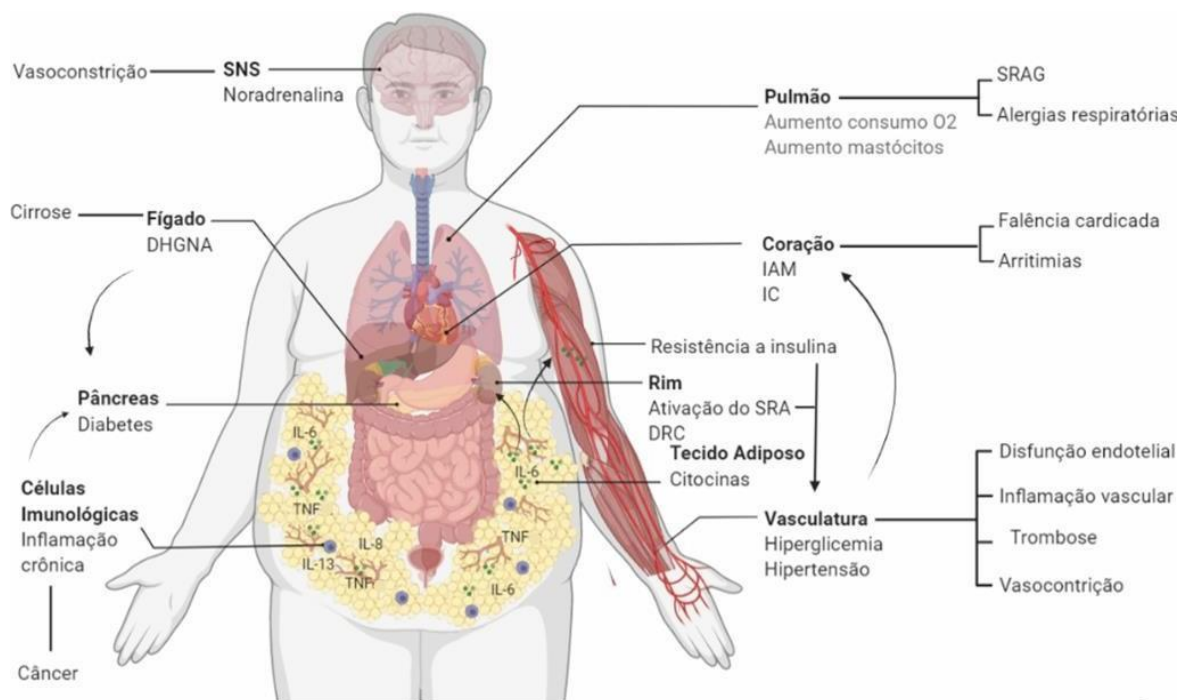


Figura 2: Alterações imunometabólicas provocadas pela obesidade que pioraram o desfecho na infecção por SARS-CoV-2 (Original autora). A inflamação de baixo grau induzida pelo excesso de adiposidade interfere no funcionamento sistêmico do organismo e, assim, aumenta o risco de desenvolvimento de várias doenças relacionadas ao pior prognóstico na COVID-19, como é o caso do DM, HAS, doenças pulmonares, DCV e câncer.

1.4. Obesidade e COVID-19

A obesidade está associada a distúrbios endócrino-metabólicos, inflamação subclínica sistêmica e a várias disfunções imunológicas que comprometem imunidade protetora frente a infecções virais, bacterianas e parasitárias (Karlsson e Beck, 2010; Sanoudou et al., 2022).

Na infecção por SARS-CoV-2, o excesso de adiposidade demonstrou ser um fator de risco independente para a doença grave. Além disso, ela predispõe ao desenvolvimento de outras comorbidades associadas ao pior desfecho da COVID-19, por exemplo, doença cardiovascular e diabetes. Ademais, foi demonstrado que obesos possuem maior risco de

internação, necessidade de suporte respiratório mecânico, ocorrência de síndrome respiratória aguda grave e morte, quando comparado com indivíduos eutróficos (Maurya et al., 2021; Simonnet et al., 2020; Yu et al., 2020).

Dentre os motivos sugeridos para a gravidade da COVID-19 nos indivíduos com obesidade está o quadro inflamatório crônico de baixo grau que contribui para a disfunção imunológica e para um maior risco para a tempestade de citocinas (Ramos et al., 2018). Pessoas com obesidade também apresentam níveis mais elevados de proteína C reativa (PCR), indicando um processo inflamatório (McNeill et al., 2020). Além disto, a pressão intra-abdominal que ocorre na obesidade e a dificuldade de insuflar e desinsuflar o pulmão piora o padrão respiratório e assim dificulta a manutenção da saturação de oxigênio em valores adequados (Sanoudou et al., 2022).

A disfunção do sistema imune presente no excesso de adiposidade também afeta o desenvolvimento de leucócitos, o número total e a função de linfócitos interferindo na produção de anticorpos e na eficácia da vacinação. Indivíduos obesos também se tornam mais propensos a um prejuízo na resposta imune adequada mediada por plasmócitos (Sanoudou et al., 2022; Luzi et al., 2020). Já foi relatado que a COVID-19 em indivíduos obesos está associada ao maior risco de disfunção endotelial, renal e hepática mediada por citocinas inflamatórias já presente em níveis elevados nesses indivíduos (Dragon-Durey et al., 2021).

Além disto, alguns autores sugerem que o tecido adiposo funciona como um reservatório natural para o vírus, proporcionando uma disseminação mais prolongada e a possibilidade de maior replicação viral devido à maior concentração de ECA2 neste tecido (Yu et al., 2020; Krams et al., 2020).

Outros fatores podem contribuir para a piora do quadro da COVID-19 em indivíduos obesos, a disfunção endotelial, hipercoagulabilidade e disbiose intestinal tornam os indivíduos obesos consideravelmente mais vulneráveis à infecção por SARS-CoV-2 (Sanoudou et al., 2022).

Assim, a inflamação mediada pelo tecido adiposo e suas consequências sistêmicas geram respostas imunometabólicas disfuncionais que pioram a resposta à infecção, incluindo na COVID-19, em pessoas obesas.

Tendo em vista todos esses dados mostrando que a obesidade pode contribuir como um fator de risco para os quadros graves de COVID-19, nosso estudo teve como objetivo investigar se

o estado nutricional de indivíduos de diferentes populações da região sudeste do Brasil, na fase inicial da infecção por SARS-CoV2, está associado a distúrbios importantes no seu perfil inflamatório sistêmico que possam contribuir para o desfecho da doença.

2. JUSTIFICATIVA

A infecção por SARS-CoV-2 provocou uma repercussão negativa global na saúde e no desenvolvimento socioeconômico, por isso despertou um interesse mundial na identificação de fatores que impactam o desfecho da doença. O processo fisiopatológico relacionado a esta enfermidade demonstrou que a inflamação exacerbada é a causa da doença grave (Del Valle et al., 2020; Pons et al., 2021).

Neste sentido, a obesidade foi proposta como um dos principais fatores de risco que contribui para maior gravidade e mortalidade da COVID-19. Dentre os motivos sugeridos para este fato está a metainflamação que ocorre pela abundância de células imunes inflamatórias que podem acumular no tecido adiposo hipertrofiado e secretar citocinas, gerando um desequilíbrio na resposta imunológica do organismo (Maurya et al., 2021; Simonnet et al., 2020; Yu et al., 2020; Ramos et al., 2018).

Entretanto, de forma geral, os trabalhos que se propuseram avaliar os mediadores inflamatórios na COVID-19 não consideram os dias de sintoma relatados. Além disso, poucos estudos até o momento avaliam as citocinas e quimiocinas de acordo com o estado nutricional e, quando realizado, foi desenvolvido apenas em pacientes hospitalizados que apresentavam a forma crítica da doença (Dragon-Durey et al., 2021).

Assim, apesar da obesidade ser bem descrita como fator de risco para piores desfechos, há uma lacuna na literatura referente aos distúrbios imunológicos já presentes nos indivíduos obesos ou com sobrepeso e ao seu impacto no desenvolvimento das diferentes formas clínicas da COVID-19. Desse modo, é importante avaliar se o perfil imunológico e nutricional pode contribuir para a identificação de indivíduos com maior possibilidade de internação, especialmente nos primeiros dias de sintomas, possibilitando uma intervenção mais rápida no curso da doença.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Estudar o impacto do estado nutricional no desfecho da COVID-19 e no perfil inflamatório de indivíduos infectados durante os primeiros dias de sintomas em três cidades do sudeste brasileiro.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar os indivíduos de acordo com o seu estado nutricional;
- Avaliar se o estado nutricional está associado ao risco de internação;
- Analisar se a carga viral de indivíduos com COVID-19 é influenciada pelo estado nutricional;
- Analisar a relação entre os níveis de mediadores inflamatórios no plasma (citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento) e as proteínas de fase aguda no soro (PCR e ferritina) e, a classificação clínica da doença e o estado nutricional;
- Correlacionar o perfil inflamatório de acordo com o estado nutricional;
- Correlacionar a produção de citocinas, quimiocinas e proteínas de fase aguda com o estado nutricional.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Desenho de estudo e seleção dos participantes

Trata-se de um estudo transversal no qual foram coletadas amostras biológicas (esfregaço nasofaríngeo por *swab* e sangue periférico) e dados sociodemográficos e de saúde de indivíduos de ambos os sexos na faixa etária de 20 a 59 anos, que procuraram o serviço de saúde com sintomas gripais no período de fevereiro a julho de 2021. Os voluntários foram recrutados em Belo Horizonte (Unidade de Pronto Atendimento Centro-Sul – UPA-CS e Hospital Risoleta Tolentino Neves), Governador Valadares (Hospital UNIMED) e São Paulo (Hospital Emílio Ribas).

As três cidades selecionadas possivelmente contribuem para melhor identificação das respostas imunológicas referente a população brasileira, visto que o estado de Minas Gerais e a cidade de Belo Horizonte estão localizados em uma região central do país. Ademais, Governador Valadares é uma cidade endêmica para diversas doenças infecciosas que podem acelerar a imunossenescência (SILVEIRA-NUNES et al., 2020; DURSO et al., 2022). Com relação a cidade de São Paulo, esta representa a localização do país com maior diversidade étnica e cultural.

Todos os participantes foram informados sobre os objetivos do projeto e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo 1) aprovado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o número CAAE 40208320.3.1001.5149. Um número de identificação foi atribuído a cada um dos voluntários para respeitar sua privacidade.

As amostras de esfregaço nasofaríngeo por *swab* foram utilizadas para detecção do SARS-CoV-2 por Real Time - Polimerase Chain Reaction (RT-PCR), as amostras de sangue para análises bioquímicas e dosagem de citocinas/quimiocinas no plasma por imunoensaio de Luminex e os dados sociodemográficos e de saúde foram obtidas através de questionário (Anexo 2) e prontuário médico.

No questionário foram obtidas informações sobre os sintomas, presença de comorbidades, doenças existentes e uso de medicamentos. O peso corporal e a estatura foram mensurados para o cálculo do índice de massa corporal – IMC.

Realizou-se também o telemonitoramento dos indivíduos com COVID-19 para acompanhamento de sua evolução clínica através de coleta de informações de sintomas e necessidade de internação.

Também foram incluídos indivíduos que chegaram aos locais de coleta em busca de atendimento com o RT-PCR positivo para COVID-19.

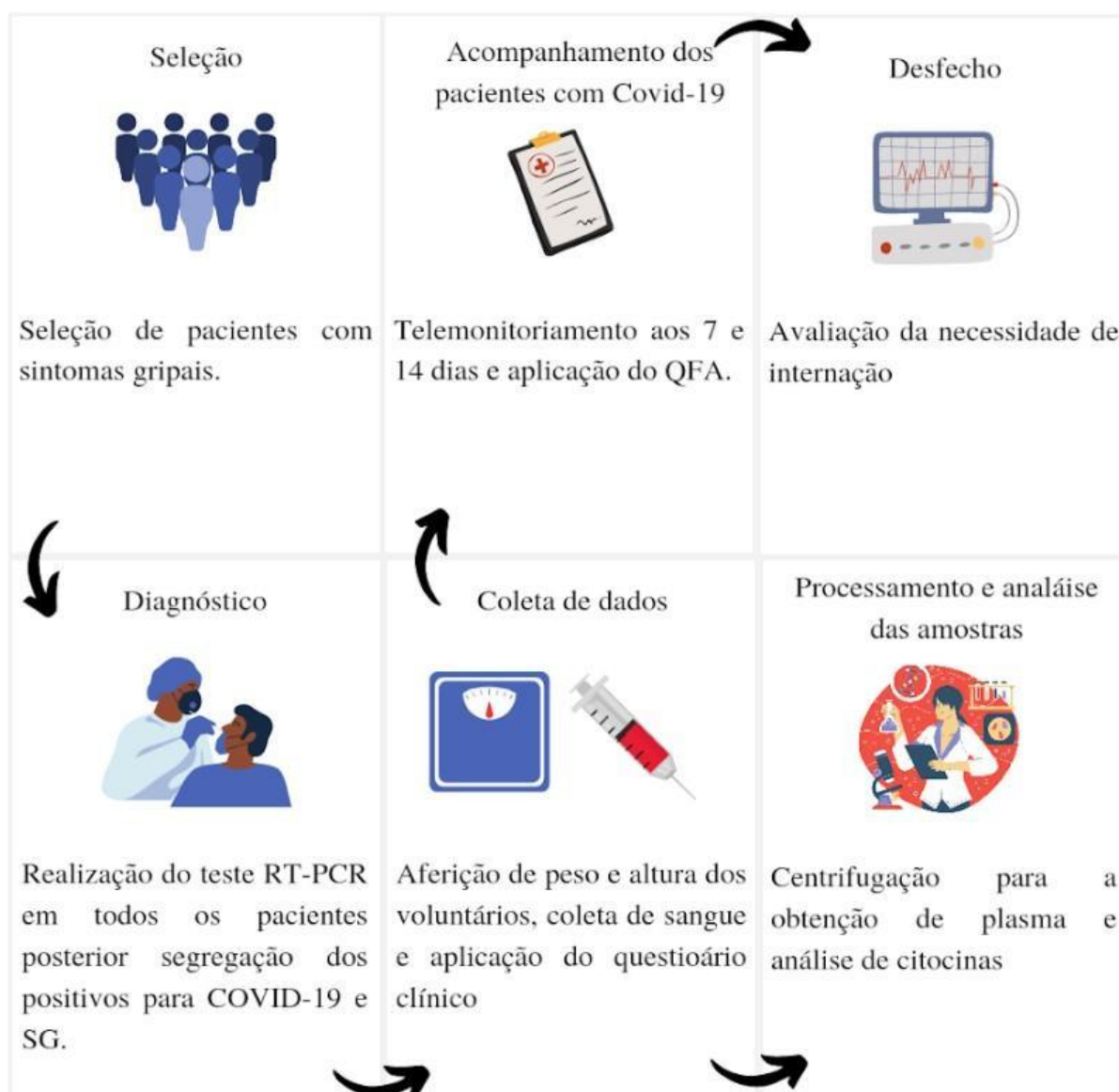


Figura 3: Delineamento do estudo. Após a identificação de pessoas com sintomas gripais, foi realizado o teste RT-PCR para segregar os indivíduos com COVID-19 daqueles com SG. Em seguida, foi realizada a coleta de sangue e antropometria para análise de biomarcadores e separação segundo o estado nutricional dos grupos SG e COVID-19.

4.1.1. Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão dos grupos com sintomas gripais foram ter idade entre 20 a 59 anos, possuir no máximo 7 dias de sintomas gripais relatados.

Os critérios de exclusão foram pessoas vacinadas contra a COVID-19, indivíduos convalescentes, HIV positivo, câncer, idosos, crianças e adolescentes.

4.1.2. Teste RT-PCR

Para o diagnóstico dos indivíduos com COVID-19, foram coletadas amostras de esfregaço nasofaríngeo por swab dos voluntários para a realização do teste Real Time - Polimerase Chain Reaction. As amostras dos voluntários de Belo Horizonte e Governador Valadares foram processadas e analisadas no Laboratório do Centro de Tecnologia em Vacinas (Centro de Pesquisa UFMG/FIOCRUZ/BH-TEC) em Belo Horizonte. Já os testes dos indivíduos recrutados no Hospital Emílio Ribas, foram realizados no Instituto Adolfo Lutz em São Paulo.

Para a realização desse teste as amostras coletadas receberam uma solução a base de isotiocianato de guanidina, desenvolvida pelo próprio CT Vacinas, desnaturante do vírus sem afetar a integridade do RNA para serem transportadas ao laboratório, onde ocorreu um cadastro das amostras e dos solicitantes.

Após a identificação das amostras tem início o processo de extração e purificação do RNA. Para tanto, é adicionado um tampão que realiza a lise de células presentes, em seguida o material passa por uma coluna de purificação que filtra o RNA para então ter sua eluição e purificação.

Posteriormente a essa fase, teve início o processo de amplificação de detecção do RNA viral. Para a realização do teste de RT-PCR o CT vacinas utiliza dois tipos de protocolos, o protocolo CHARITÉ do hospital de Berlim (tem como alvo o gene do envelope viral) e o protocolo do Centers for Disease Control and Prevention dos Estados Unidos (que tem como gene alvo duas regiões no gene do nucleocapsídeo). Também é utilizado a RNaseP humana como controle para verificação de que amostra foi coletada de forma correta.

Primeiramente ocorre a etapa de transcrição reversa, onde um prime liga-se a região complementar de interesse, desencadeando a ação da transcriptase reversa, que sintetiza uma fita de DNA complementar, sob a temperatura de 45° graus celsius por 15 minutos.

Na sequência, a temperatura é elevada a 95° graus celsius por 3 minutos pra fazer a dissociação da dupla fita, uma vez separada, a fita de DNA complementar passa pelo processo de amplificação, na qual novamente um prime se liga de maneira específica na região de interesse, e a DNA polimerase começa sua atividade. Esse processo ocorre a 58° graus celsius durante 1 minuto. Assim no final do primeiro ciclo de amplificação uma fita gera duas fitas, o processo permanece ocorrendo em uma progressão geométrica. A cada amplificação é gerado uma fluorescência a qual é captada pelo equipamento. O equipamento gera um gráfico que avalia se a fluorescência alcançou o limiar Threshold. Ao alcançar esse limiar é gerado um valor de CT, que corresponde ao ciclo de amplificação, onde quanto menor o CT, maior a carga viral.

4.1.3 Telemonitoramento

O telemonitoramento foi realizado por membros da equipe do projeto, previamente treinados, por meio de ligação telefônica aos indivíduos com COVID-19 aos 7 e 14 dias após o recrutamento. Nessas ligações, foram aplicados novamente o questionário de saúde (que incluía perguntas de história de saúde pregressa, comorbidades e uso de medicamento) e um questionário de frequência alimentar qualitativo.

Nos casos nos quais foram informados o agravamento do quadro e necessidade de internação, as informações foram obtidas em prontuário médico no hospital ao qual os indivíduos foram encaminhados.

No telemonitoramento realizou-se apenas coleta de informações e esclarecimento de dúvidas sobre a COVID-19 e os serviços de saúde, não sendo realizadas como teleconsultas.

4.2. Coleta e tratamento das amostras

Foram coletados cerca de 40 ml de sangue periférico (3 tubos de heparina, 1 tubo ativador de coágulo), as amostras foram processadas no Instituto René Rachou - FIOCRUZ quando

coletas em Belo Horizonte, no Núcleo de Pesquisa em Imunologia quando coletadas em Governador Valadares e no ICB-USP quando coletadas em São Paulo, o processamento do material biológico ocorria em até 24 horas após a coleta. O sangue foi processado em 3000 rpm com 9 minutos de aceleração e 4 minutos de desaceleração na centrífuga refrigerada de mesa Sorvall modelo ST16R - Thermo scientific. As alíquotas do soro e do plasma foram congeladas em um freezer com temperatura a -80° celsius (C) para posterior análise dos biomarcadores.

4.3. Medida de citocinas no plasma

As alíquotas do plasma foram descongeladas no banho maria a 37° C sendo na sequência homogeneizadas em vórtex por 5 segundos, em seguida, foram pipetados 200 μ L da amostra para ressaltar-se da presença de debris que poderiam influenciar nas concentrações de marcadores no plasma. Na sequência, as amostras foram centrifugadas a $14.000\times g$ por 5 minutos. Para realizar a quantificação dos mediadores plasmáticos foi realizado por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27, um ensaio multiplex que forneceu informação simultaneamente sobre 27 citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento (sendo elas Eotaxina, FGF basic, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, CXCL8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, CXCL10, CCL2, CCL3, CCL4, PDGF, CCL5, TNF- α , VEGF) mediante um imunoenensaio magnético à base de esferas (beads). Os dados foram analisados usando o software Bioplex™ (Bio-Rad).

4.4 Medida de proteínas de fase aguda no soro

Para a análise das proteínas de fase aguda ferritina e PCR, uma alíquota com o soro dos voluntários foram encaminhadas a um laboratório Hermes Pardini para realização de sua dosagem. A dosagem de ferritina foi realizada pela coleta do soro pelo método de quimioluminescência, que ocorre pela análise da liberação de luz após oxidação e para PCR ultrasensível.

4.5. Análise do Questionário de Frequência Alimentar

O consumo alimentar foi avaliado por meio da aplicação de um QFA qualitativo validado por Giacomello et al (2008) para a população brasileira adaptado, o qual foi respondido pelos voluntários durante a primeira ligação do telemonitoramento. As respostas do QFA foram agrupadas em 11 grupos segundo sua classificação alimentícia, sendo eles: Leite e derivados, Ovos, frangos e peixes, Carne de boi, Carne de porco, Cereais integrais, Cereais, Leguminosas, Hortaliças, Industrializados; Frutas e sucos naturais de frutas sem açúcar e por último, sobremesa, doces e bebidas adoçadas.

Para análise das informações, as respostas foram divididas segundo a frequência de ingestão alimentar, sendo considerado consumo alto (todos os dias), frequente (5 a 6 vezes por semana), moderado (2 a 4 vezes por semana) e baixo (1 vez por semana ou menos).

4.6. Análise estatística

As análises estatísticas foram feitas utilizando o programa GraphPad Prism versão 8.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Os dados descritivos referentes a sexo, idade, altura, peso, IMC e comorbidades foram apresentados considerando a frequência e/ou média \pm DP.

Foi realizado o teste Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos dados. Para os dados paramétricos foram utilizadas análise de variância (ANOVA) seguidas do teste post-hoc de Tukey e, para dados não paramétricos, Mann-Whitney quando comparado dois grupos ou Kruskal-Wallis para três grupos seguido do post-hoc Dunn's com o objetivo de identificar as fontes das diferenças significativas. As tabelas de descrição da amostra foram expressas em média e desvio padrão, enquanto os gráficos dos biomarcadores foram expressos em mediana e intervalo interquartilico (percentis 25 e 75). A análise de correlação foi feita pela fórmula de SPEARMAN para dados não paramétricos

Foi realizado um gráfico em radar para identificar frequências baixas ($<$ mediana global) e altas (\geq mediana global) das citocinas para cada estado nutricional considerando os grupos síndrome gripal e COVID-19.

A análise do QFA foi feita pelas comparações entre as frequências médias de consumo com a utilização da fórmula ANOVA two-way.

O valor de significância das análises realizadas foi definido como $P < 0,05$ e, os asteriscos nas figuras estão representados em: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$ **** = $p < 0,0001$.

4.6.1. Cálculo Amostral

O cálculo amostral foi realizado através do software Stata, versão 12.0 (StataCorp LP, College Station, USA), considerando o número cumulativo de casos identificados pelo Ministério da Saúde até a data de 05/09/2020 nas três cidades (Belo Horizonte, São Paulo e Governador Valadares) e utilizando um nível de confiança de 95% e um intervalo de confiança de 9,33%, assim, o tamanho mínimo necessário da amostra foi de 111 indivíduos com COVID-19, divididos em casos leves e internados.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização da amostra

Ao todo foram recrutadas 753 pessoas com sintomas gripais nas cidades de Belo Horizonte, São Paulo e Governador Valadares. Após a realização do teste RT-PCR, testaram positivo para COVID-19 um total de 369 pessoas e 368 tiveram resultado negativo, outros 16 indivíduos tiveram o resultado do exame inconclusivo. Após excluir aqueles que apresentavam mais de 7 dias de sintomas gripais relatados, restaram 178 indivíduos com COVID-19 e 131 com SG. Após a aplicação dos critérios de exclusão, a população final do estudo foi composta por 123 indivíduos com COVID-19 (sendo 74 pessoas de Belo Horizonte, 30 de Governador Valadares e 19 de São Paulo) e 95 com SG (sendo 58 indivíduos de Belo Horizonte, 33 de Governador Valadares e 4 de São Paulo).

Os voluntários selecionados foram segregados de acordo com o IMC em eutróficos, com sobrepeso e obesos. As características da amostra estão representadas na **Tabela 1**. A média e o desvio padrão referente ao sexo, idade, peso, altura e IMC, bem como a quantidade de indivíduos com DM, HAS, doenças respiratórias e doenças cardíacas também foram descritas na mesma tabela.

No grupo com SG, das 95 pessoas que integraram a amostra, 1,05% tinham DM, 13,68% possuíam HAS ou doença respiratória e 11,58% apresentavam alguma doença cardíaca. No grupo com COVID-19, 5,69% apresentavam diabetes, 10,57% HAS, 12,2% doenças respiratórias e 1,63% doença cardiovascular.

Não houve diferença na presença de DM, HAS e doenças respiratórias entre os grupos. Por outro lado, o grupo com SG era constituído por um número maior de indivíduos com algum tipo de doença cardíaca quando comparados ao grupo com COVID-19.

Tabela 1: Caracterização demográfica e de saúde da população de estudo segundo a classificação clínica

Dados	GRUPOS		TOTAL	P valor
	SG	COVID-19		
N	95	123	218	-
Sexo				
F	52	59	111	0,3414
M	43	64	107	
Idade (Média ± desvio padrão)	37,55 ± 11,91	39,23 ± 10,63		0,2714
Peso (Média ± desvio padrão)	76,32 ± 15,94	78,13 ± 16,22		0,3816
Altura (Média ± desvio padrão)	1,67 ± 0,11	1,67 ± 0,09		>0,9999
IMC (Média ± desvio padrão)	27,3 ± 4,27	27,9 ± 5,23		>0,9999
DM (n)	1	7	8	0.0807
HAS (n)	13	13	26	>0,9999
Doenças respiratórias (n)	13	15	28	>0,9999
Doenças cardíacas (n)	11	2	13	0,0028**

F = sexo feminino; M = sexo masculino

** Diferença significativa pelo Mann Whitney definido como $P < 0,05$ e, os asteriscos nas figuras estão representados em ** = $p < 0,01$.

No grupo com SG, 32 indivíduos eram eutróficos (desses, 19 eram de Belo Horizonte, 13 e Governador Valadares e nenhum voluntário de São Paulo apresentou essa classificação), 43 apresentavam sobrepeso (sendo 26 de Belo Horizonte, 14 de Governador Valadare e 3 de São Paulo) e, 20 foram classificados com obesidade (que incluíam 13 pessoas de Belo Horizonte, 6 de Governador Valadares e 1 de São Paulo), não havia diferença entre sexo, idade, altura, DM, doenças respiratórias (**Tabela 2**). Nenhum indivíduo eutrófico ou com sobrepeso apresentava diabetes. O grupo de indivíduos obesos apresentava um número maior de indivíduos portadores de HAS do que o grupo com sobrepeso e mais indivíduos com doenças cardíacas do que o grupo eutrófico.

Tabela 2: Caracterização da população de estudo no grupo SG

Dados	GRUPOS			P valor
	Eutrófico	Sobrepeso	Obeso	
N	32	43	20	-
Sexo				>0,9999
F	17	23	12	0,7756
M	15	20	8	0,7864
Idade (Média ± desvio padrão)	37,81 ± 13,84	36,98 ± 10,84	38,35 ± 11,35	>0,9999 >0,9999 >0,9999
Peso (Média ± desvio padrão)	63,28 ± 7,89	77,64 ± 11,12	94,52 ± 15,17	<0,0001**** <0,0001**** 0,0052**
Altura (Média ± desvio padrão)	1,66 ± 0,1	1,68 ± 0,11	1,67 ± 0,12	>0,9999 >0,9999 >0,9999
IMC (Média ± desvio padrão)	22,88 ± 1,35	27,24 ± 1,61	33,6 ± 2,69	<0,0001**** <0,0001**** <0,0001****
DM (n)	0	0	1	>0,9999 0,3846 0,3175
HAS (n)	6	2	5	0,0663 0,7300 0,0285*
Doenças respiratórias (n)	3	5	5	>0,9999 0,2346 0,2659
Doenças cardíacas (n)	1	5	5	0,2308 0,0263* 0,2659

F = sexo feminino; M = sexo masculino

* Diferença significativa pelo teste kruskal wallis. O valor de P foi apresentada na comparação, respectivamente: entre os eutróficos e sobrepeso; entre eutróficos e obesos; comparação dos indivíduos com sobrepeso e obesos.

Os * foram definidos como $P < 0,05$ e, os asteriscos nas figuras estão representados em: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$ **** = $p < 0,0001$.

Dentre os 123 indivíduos com COVID-19, 38 eram eutróficos (com 27 pessoas da cidade de Belo Horizonte, 11 de Governador Valadares e 0 de São Paulo), 51 estavam com sobrepeso (sendo 31 de Belo Horizonte, 11 de Governador Valadares e 9 de São Paulo) e, 34 apresentavam obesidade (com 16 pessoas de Belo Horizonte, 8 de Governador Valadares e 10 de São Paulo (**Tabela 3**).

No grupo com eutrofia e COVID-19, o medicamento mais comum utilizado foi o anticoncepcional, o qual quatro mulheres relataram ingerir. Além disso, uma pessoa disse fazer uso dos medicamentos clenil e Salbutamol (para asma), duas pessoas tomam medicamento para depressão, sendo um deles sertralina e o outro Revoc, um indivíduo diabético aplica insulina, e uma pessoa com hipertensão relatou que toma losartana, ainda há outra pessoa hipertensa não soube responder com relação a ingestão de medicamentos, além disso, dipirona e paracetamol também foram relatados como uso frequente.

No grupo com sobrepeso e COVID-19 quatro pessoas faziam uso de anticoncepcional e, quatro pessoas relataram o uso de medicamento para a hipercolesterolemia, sendo que três faziam uso de sinvastatina e uma de ciprofibrato. Ainda há uma pessoa que ingere o glifage devido ao diabetes, um indivíduo com hipotireoidismo que faz uso do puran, três pessoas com problemas respiratórios, sendo que uma faz uso do Aerolin e Clenil, uma Bromoprida e Brometo de Penavilha e, uma salbutamol. Devido a depressão, uma pessoa faz uso de Clonazepam e Fluoxetina,.Por questões de doenças autoimunes também havia uma pessoa que fazia o uso de Prednisona, Metotrexato e Leflunomida, além disso, esse indivíduo também fazia uso de Azitromicina e Metoclopramida. Quatro pessoas eram hipertensas sendo que duas faziam o uso de losartana e duas não soube informar sobre qual medicamento utilizam, uma pessoa com DM também não soube informar

No grupo com obesidade e COVID-19 um indivíduo relatou estar ingerindo Hidroxicloroquina, Prednisona e Omeprazol. Ademais, sete pessoas tinham hipertensão, sendo que uma tomava enalapril, uma hidroclorotiazida e enalapril e, uma Losartana, Anlodipino e Hidroclorotiazida, outras quatro pessoas não souberam relatar qual medicamento faziam ingestão. Além disso, das pessoas com DM, uma relatou fazer o uso de glifage, e outras três não souberam informar os medicamentos. Das três pessoas com depressão, uma usa o amitriptilina, uma Duloxetina, Lorazepam e uma não soube informar quanto a medicamentos. Além disso, um indivíduo relatou uso de Colírio para Glaucoma, um usa sinvastatina, um utiliza com frequência Omeprazol.

Não houve diferença significativa entre sexo, altura ou comorbidades entre os grupos. Os indivíduos eutróficos eram mais jovens que os indivíduos com sobrepeso ou obesidade.

Tabela 2: Caracterização da população de estudo no grupo COVID-19

Dados	GRUPOS			P valor
	Eutrófico	Sobrepeso	Obeso	
N	38	51	34	-
Sexo				>0,9999
F	17	23	19	0,4791
M	21	28	15	0,3801
Idade (Média ± desvio padrão)	34 ± 9,07	40,71 ± 10,39	42,88 ± 10,66	>0,079** >0,011** >0,9999
Peso (Média ± desvio padrão)	65,34 ± 10,13	78,01 ± 9,44	94,07 ± 16,77	<0,0001**** <0,0001**** <0,0001****
Altura (Média ± desvio padrão)	1,68 ± 0,09	1,68 ± 0,09	1,66 ± 0,1	>0,9999 >0,9999 >0,9999
IMC (Média ± desvio padrão)	22,6 ± 1,63	27,51 ± 1,35	34,62,6 ± 4,19	<0,0001**** <0,0001**** <0,0001****
DM (n)	1	2	4	>0,9999 0,1817 0,2119
HAS (n)	2	4	7	0,0663 0,0746 0,1068
Doenças respiratórias (n)	8	5	2	0,3733 0,1767 0,6970
Doenças cardíacas (n)	1	1	0	>0,9999 >0,9999 >0,9999

F = sexo feminino; M = sexo masculino

* Diferença significativa pelo teste kruskal wallis. O valor de P foi apresentada na comparação, respectivamente: entre os eutróficos e sobrepeso; entre eutróficos e obesos; comparação dos indivíduos com sobrepeso e obesos.

Os * foram definidos como $P < 0,05$ e, os asteriscos nas figuras estão representados em: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$ **** = $p < 0,0001$.

5.2. Internação e estado nutricional

No grupo dos indivíduos eutróficos com COVID-19, apenas 2 internaram, ambos do sexo masculino, enquanto no grupo dos indivíduos com sobrepeso, ocorreram 8 hospitalizações, sendo 6 homens e 2 mulheres. No grupo de indivíduos obesos, houve 14 internações, sendo 6 homens e 8 mulheres. Não houve diferença significativa na internação de indivíduos de sexos diferentes. Além disso, também não houveram internações nos grupos com SG.

A presença de obesidade apresentou associação positiva com a internação por COVID-19 quando comparados os indivíduos obesos com aqueles eutróficos ($p=0,0047$) ou com sobrepeso ($p=0,0469$). Não houve diferença significativa entre o grupo eutrófico e com sobrepeso (**Figura 4**).

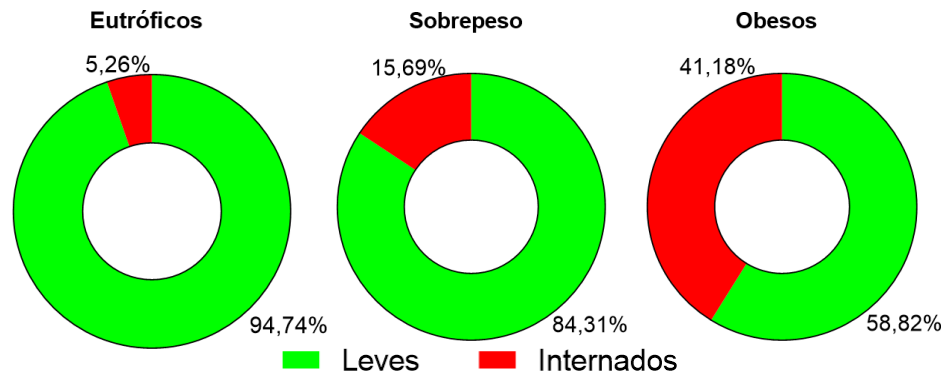


Figura 4: Percentual de indivíduos internados com COVID-19 segundo o estado nutricional. O estado nutricional foi avaliado pela medida do índice de massa corporal (IMC). Os indivíduos com sobrepeso são aqueles com $IMC > 25$ e $< 24,9$ e os obesos aqueles com $IMC > 30$. Um número maior de indivíduos obesos necessitou de hospitalização quando comparados aos indivíduos eutróficos ou com sobrepeso. A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste de qui-quadrado.

5.3. Carga viral de acordo com IMC

Quando comparado o valor da carga viral nasofaríngea indicado pelo teste RT-PCR dos indivíduos com COVID-19, de acordo com o estado nutricional, não houve diferenças significativas entre os grupos (**Figura 5**).

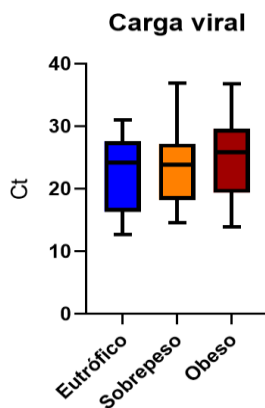


Figura 5: Carga viral de SARS-CoV-2 em indivíduos com COVID-19 estratificados de acordo com o IMC. A carga viral foi calculada a partir dos testes de rt-PCR realizados no swab nasal dos indivíduos. Não houve diferença entre a carga viral segundo a classificação do estado nutricional. Ct = número de ciclos de replicação da genética viral para a identificação do SARS-CoV-2. A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis para três grupos seguido do post-hoc Dunn's com o objetivo de identificar as fontes das diferenças significativas. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

Quando avaliado segundo internação, também não foram localizadas diferenças significativas nem no grupo com sobrepeso ($p = 0,0814$) nem no grupo com obesidade ($p=0,3711$), ambos com COVID-19 (**Figura 6**). Essa análise no grupo com eutrofia não foi possível devido ao baixo número de internações.

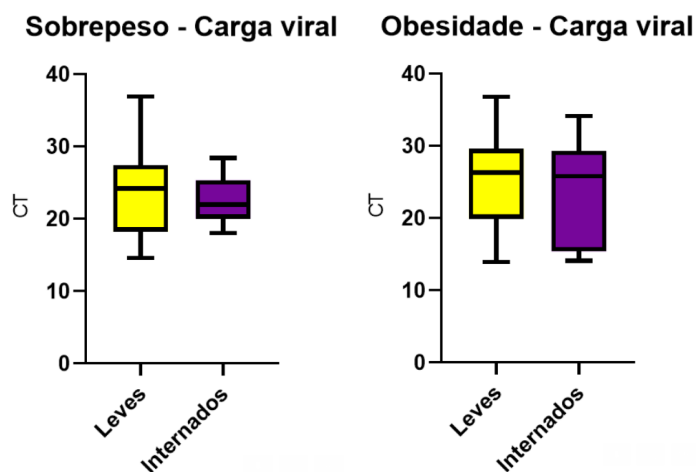


Figura 6: Carga viral de SARS-CoV-2 em indivíduos com COVID-19 estratificados de acordo com a gravidade (leves ou internados). A carga viral foi calculada a partir dos testes de rt-PCR realizados no swab nasal dos indivíduos. Não houve diferença entre a carga viral segundo a classificação do estado nutricional. Ct = número de ciclos de replicação da genética viral para a identificação do SARS-CoV-2. A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste de Mann Whitney. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

5.4. Avaliação de mediadores inflamatórios de acordo com a classificação clínica e estado nutricional

Como mostrado na **Figura 7**, as concentrações das citocinas IL-2, TNF e IL-6 e IL-5 foram mais altas nos grupos com COVID-19 obesos em comparação com seus pares eutróficos e com sobrepeso (para IL-2 $p=0,0200$ e $p=0,0007$ e para TNF $p=0,0042$ e $p=0,0052$ respectivamente, e para IL-6 $p=0,0031$ e $p=0,0181$ respectivamente, para IL-5 $p=0,0144$ e $0,0079$). A concentração de TNF também foi maior nos obesos com COVID-19 quando comparados com os obesos com SG ($p= 0,0001$).

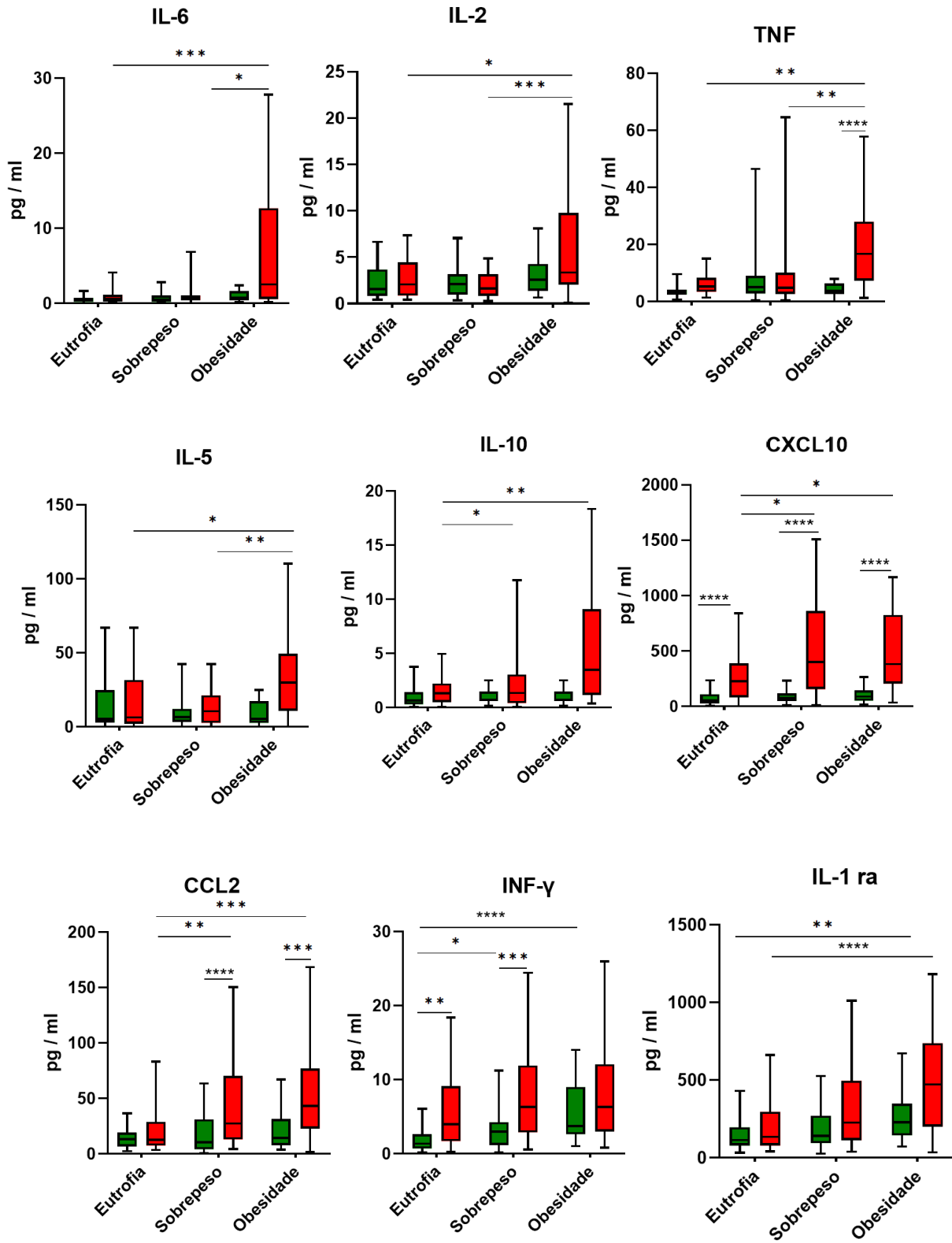
As concentrações dos mediadores IL-10, CXCL10 e CCL2 foram maiores nos indivíduos com COVID-19 obesos e com sobrepeso e em comparação ao grupo eutrófico (para IL-10 $p=0,0031$ e $p=0,0143$ respectivamente, para CXCL10 $p=0,0299$ e $p=0,0318$ respectivamente e, para CCL2 $p=0,004$ e $p=0,0082$ respectivamente). A concentração de INF- γ foi maior nos indivíduos com SG obesos (para INF- γ $p=0,0081$ e $p=0,0216$ respectivamente). Ainda em relação a CXCL10, sua concentração foi mais elevada em indivíduos com COVID-19 em comparação com aqueles com SG para todas as classificações de IMC analisadas, com $p<0,0001$.

A concentração da quimiocina CCL2 foi maior nos indivíduos com COVID-19 e excesso de peso em comparação com os indivíduos com excesso de peso e SG (sendo $p<0,0001$ para sobrepeso e, $p=0,0007$ para obesidade).

A concentração de INF- γ foi maior nos indivíduos com SG obesos e com sobrepeso em comparação ao grupo eutrófico ($p=0,0372$ e $p<0,0001$, respectivamente). A concentração dessa citocina também foi maior no grupo com COVID-19 em comparação ao grupo SG nos indivíduos eutróficos ($p=0,0016$) e com sobrepeso ($p=0,0003$). Essa diferença não foi observada no grupo com obesidade.

A concentração da citocina IL-1ra, que regulador a ação de IL-1 β , foi maior no grupo com COVID-19 obeso em comparação ao grupo com eutrófico com a mesma infecção ($p=0,0031$), mas isso também ocorreu no grupo com SG ($p=0,0049$). No que diz respeito às proteínas de fase aguda, os grupos com COVID-19 e sobrepeso ou obesidade, apresentaram maiores concentrações de ferritina ($p=0,0003$ e $p=0,0007$, respectivamente). A concentração de ferritina também foi maior no grupo com COVID-19 e sobrepeso em comparação ao grupo SG com o mesmo estado nutricional.

A concentração de ferritina foi maior nos indivíduos com COVID-19 e excesso de peso em comparação com os eutróficos ($p=0,0003$ quando avaliado entre eutróficos e com sobrepeso e $p=0,0007$ para análise entre eutróficos e obesos). Nos indivíduos com sobrepeso, a concentração de ferritina foi maior naqueles indivíduos que apresentavam infecção por SARS-CoV-2 que naqueles com SG ($p=0,0014$). Em relação a PCR, foi verificado que indivíduos com COVID-19 obesos apresentavam uma maior concentração dessa proteína em comparação ao grupo eutrófico com COVID-19 ($p<0,0001$). O valor de PCR também foi significativamente diferente entre os indivíduos com COVID-19 e com sobrepeso em comparação com aqueles eutróficos com COVID-19 ($p=0,0014$). Os gráficos dessas citocinas podem ser visualizados na **Figura 6**.



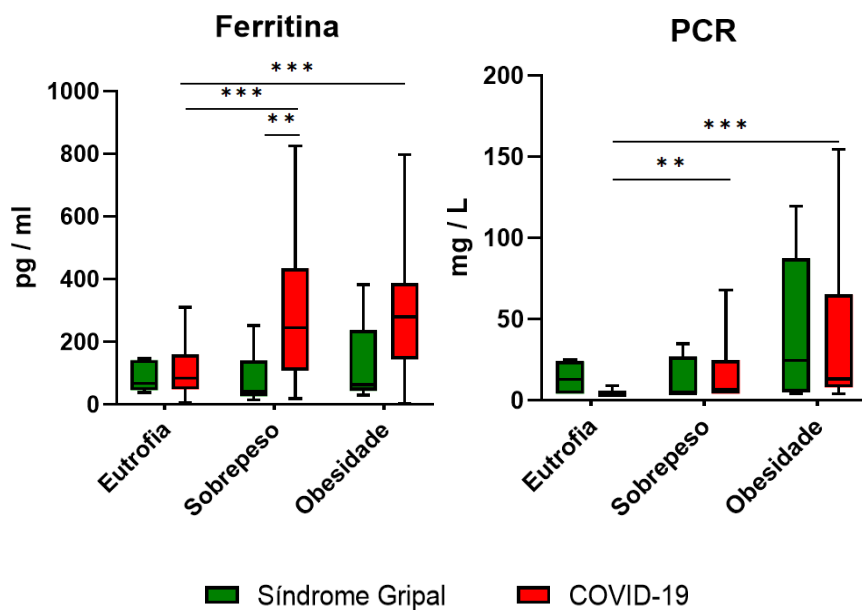


Figura 7: Concentrações plasmáticas dos biomarcadores IL-2, TNF-alfa, IL-6, IL-5, IL-10, INF-gama, CXCL10, CCL2, IL-1ra de acordo com o estado nutricional e classificação clínica. Os asteriscos nas figuras estão representados em: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$ **** = $p < 0,0001$. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

Os indivíduos com COVID-19 obesos apresentaram concentrações maiores de CXCL8 ($p=0,0106$), IL-12 ($p=0,0056$), CCL3 ($p=0,0094$), CCL4 ($p=0,0203$), GM-CSF ($p=0,0010$) em comparação aos indivíduos com sobrepeso e não houve diferença com relação aos eutróficos (**Figura 8**).

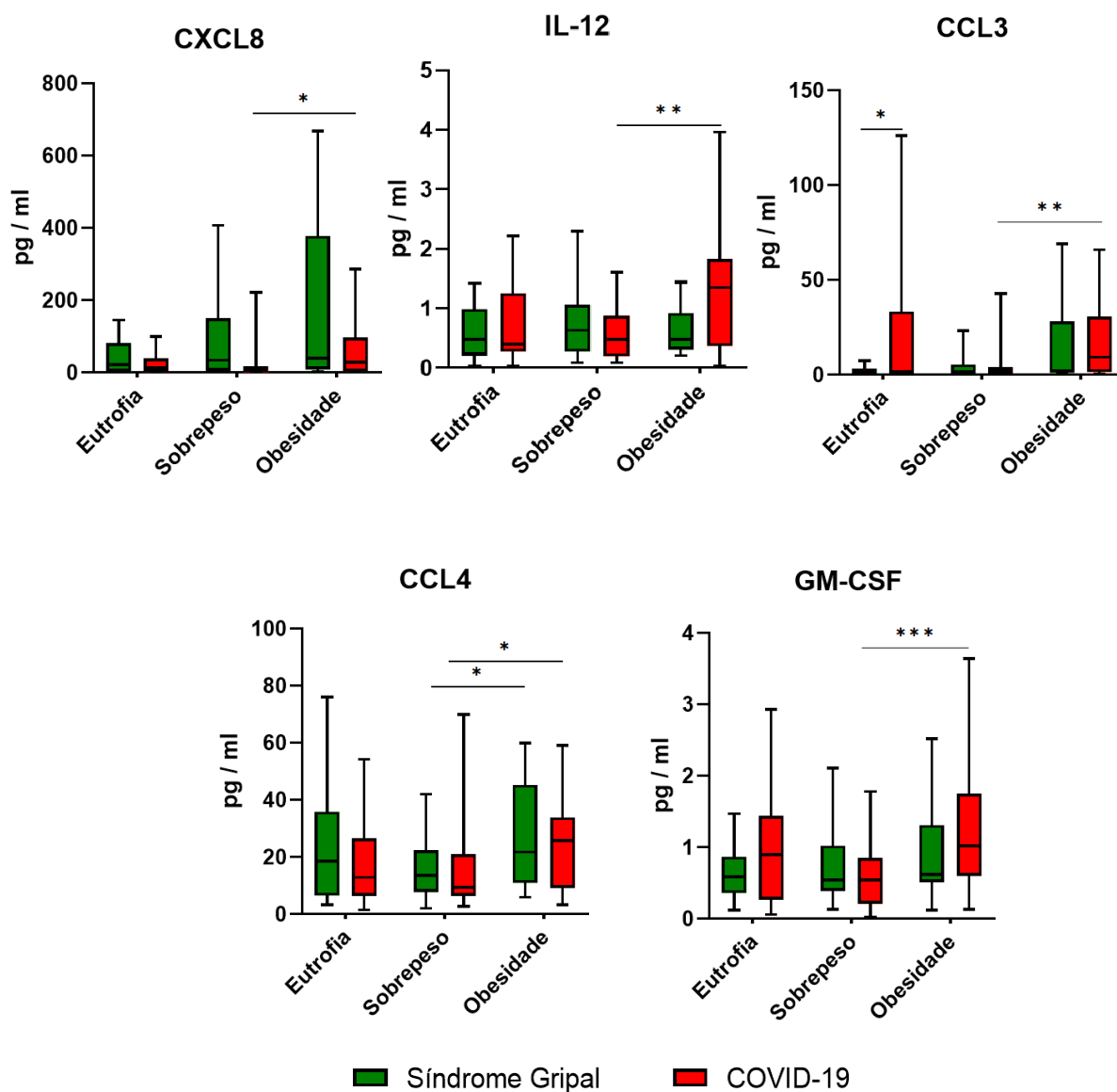


Figura 8: Concentrações plasmáticas dos mediadores CXCL8, IL-12, CCL3, CCL4 e GM-CSF de acordo com o estado nutricional e classificação clínica de COVID-19 ou SG. Os indivíduos COVID-19 com obesidade e tinham a concentração dos biomarcadores CXCL8, IL-12, CCL3, CCL4 e GM-CSF em comparação aos indivíduos com sobrepeso com a mesma infecção. Os asteriscos nas figuras estão representados em: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$ **** = $p < 0,0001$. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

A concentração da citocina IL-13 estava mais elevada no grupo com COVID-19 em comparação aos SG nos indivíduos com sobrepeso ($p=0,0035$) e no grupo com obesidade ($p=0,0037$) (**Figura 9**), mas não houve diferenças com relação ao grupo eutrofico ou obeso.

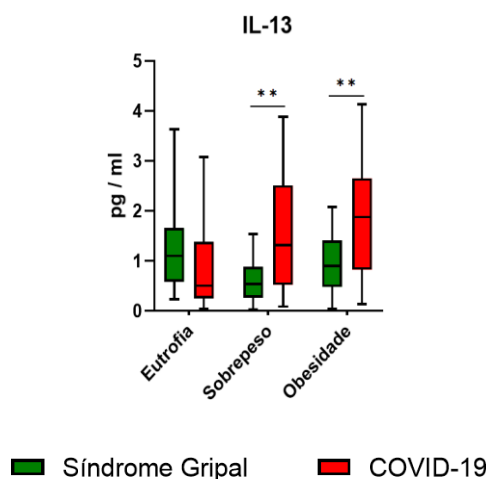


Figura 9: Concentrações plasmáticas do biomarcador IL-13 em pacientes eutróficos, com sobrepeso ou com obesidade com COVID-19 em comparação a SG. Medida dos biomarcadores plasmáticos foi realizada por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27. Os grupos com sobrepeso e COVID-19 e obesidade e COVID-19 possuíam concentrações de IL-13 mais elevadas que o grupo com SG e sobrepeso e, SG e obesidade, respectivamente. A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis para três grupos seguido do post-hoc Dunn's com o objetivo de identificar as fontes das diferenças significativas. ** $P < 0,01$. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

Não houve diferenças significativas em relação aos mediadores CCL5, IL-1beta, IL-17, IL-4, FGF-basic, IL-7, PDGF, eotaxina, G-CSF, IL-7, IL-9, IL-15.

5.5. Mediadores associados à resposta imune de indivíduos com COVID-19 de acordo com a gravidade da doença (leves ou internados) e o estado nutricional

A concentração da quimiocina CCL2 foi maior nos indivíduos com excesso de peso em comparação aos indivíduos eutróficos ($p=0,0109$ para sobrepeso e $p=0,0133$ para obesos). Com relação à PCR, observamos que o grupo com COVID-19 eutrófico possuía menor concentração dessa proteína que seus pares com sobrepeso ($p=0,0038$) e obesos ($p=0,0011$). Com relação à ferritina, o grupo eutrófico apresentou menores concentrações em comparação aos grupos com sobrepeso ($p=0,0028$) sem diferença para os obesos (**Figura 9**).

No que diz respeito à IL-2, a concentração dessa citocina também foi maior nos indivíduos com COVID-19 leve obesos em comparação àqueles com sobrepeso também com a forma leve da doença ($p=0,0447$), mas essa alteração não foi observada no grupo eutrófico. Isso

também foi verificado com o mediador GM-CSF ($p=0,0025$). A concentração de eotaxina foi menor nos eutróficos que nos indivíduos com sobrepeso ($p=0,0146$) sem apresentar diferenças com os obesos. Em relação à IL-6, indivíduos obesos que necessitaram de interação por COVID-19 apresentaram maior concentração dessa citocina no soro que os indivíduos com COVID-19 na forma leve ($p=0,0014$). A análise desses mediadores pode ser visualizada na **Figura 10**.

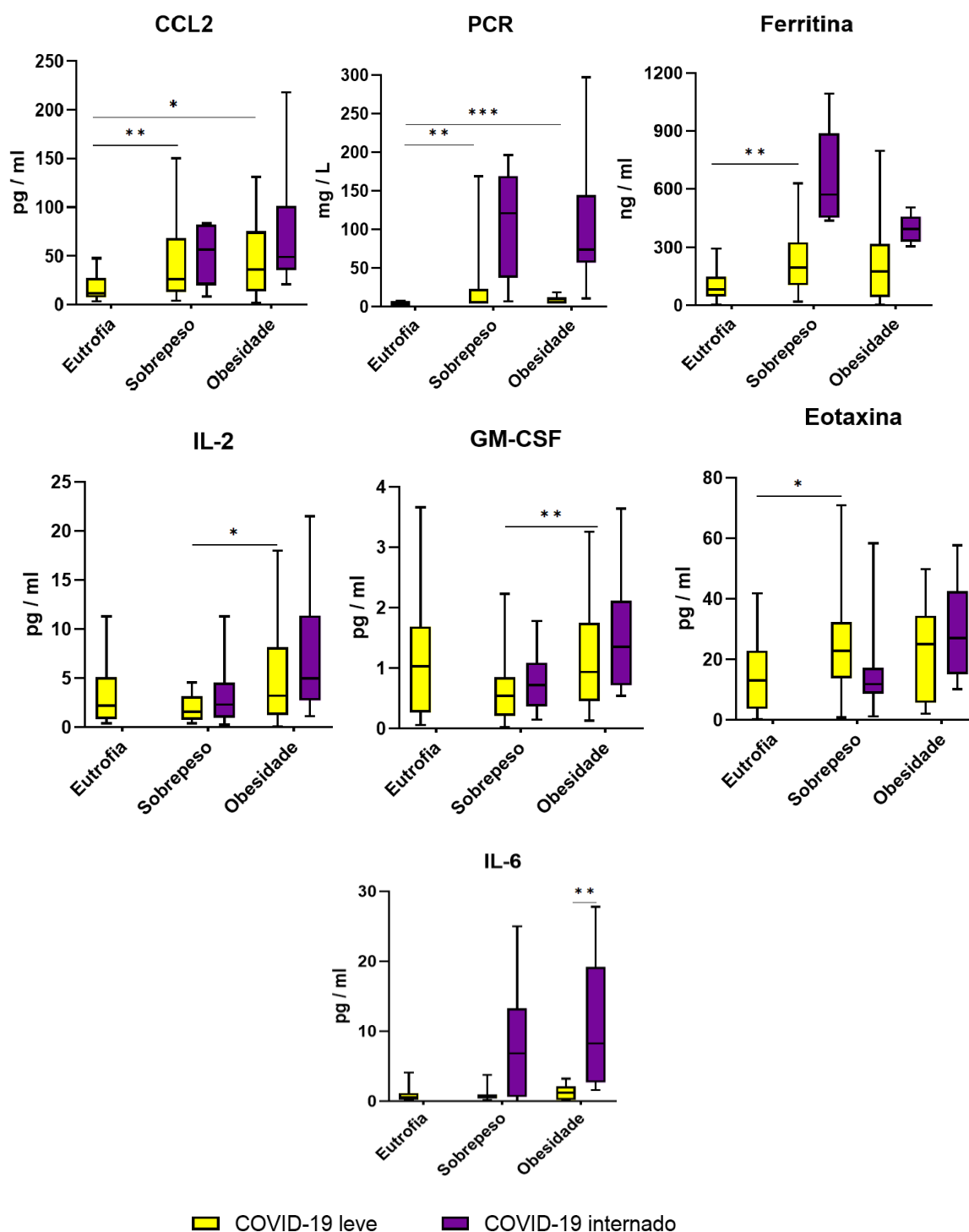


Figura 10: Concentrações plasmáticas dos biomarcadores IL-2, IL-6, IL-10, CCL2 e eotaxina de acordo com a gravidade da COVID-19 e segundo o estado nutricional. A medida dos biomarcadores plasmáticos foi realizada por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27, as proteínas de fase aguda foram mensuradas no soro por meio de quimioluminescência. No grupo com a forma leve da COVID-19, indivíduos com excesso de peso tinham maiores concentrações de CCL2 e PCR que as pessoas eutróficas também com a forma leve. Em relação à ferritina, essa proteína foi mais elevada no grupo com sobrepeso e a

forma leve do que no grupo eutrófico. Já o grupo com obesidade apresentou maiores concentrações de IL-2, GM-CSF e eotaxina do que o grupo com sobrepeso, ambos com a forma leve da doença. Além disso, a concentração de IL-6 foi maior no grupo com obesidade que necessitou de internação em comparação àqueles com obesidade e a forma leve da doença. comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis para três grupos seguido do post-hoc Dunn's com o objetivo de identificar as fontes das diferenças significativas. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

Os indivíduos obesos que necessitaram de internação apresentaram maior concentração de IL-10 em relação com à forma leve da doença ($p=0,0005$). Esse mesmo grupo também apresentou maiores concentrações desta citocina do que o grupo de indivíduos com sobrepeso que internaram ($p=0,0189$). As concentrações de G-CSF, IL-5 e IL-12 também foram maiores no grupo com obesidade internados em comparação ao grupo com sobrepeso que também precisou de hospitalização ($p=0,0473$, $p=0,0036$ e $p=0,0334$, respectivamente) como mostrado na **Figura 11**.

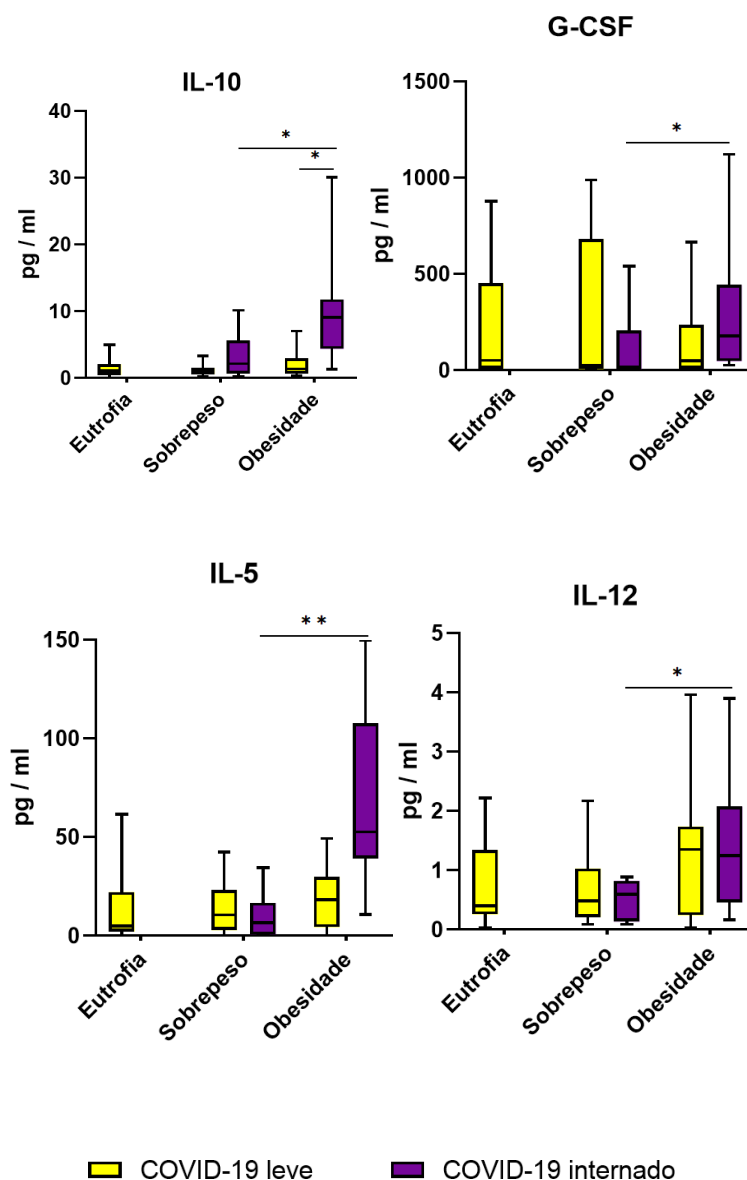
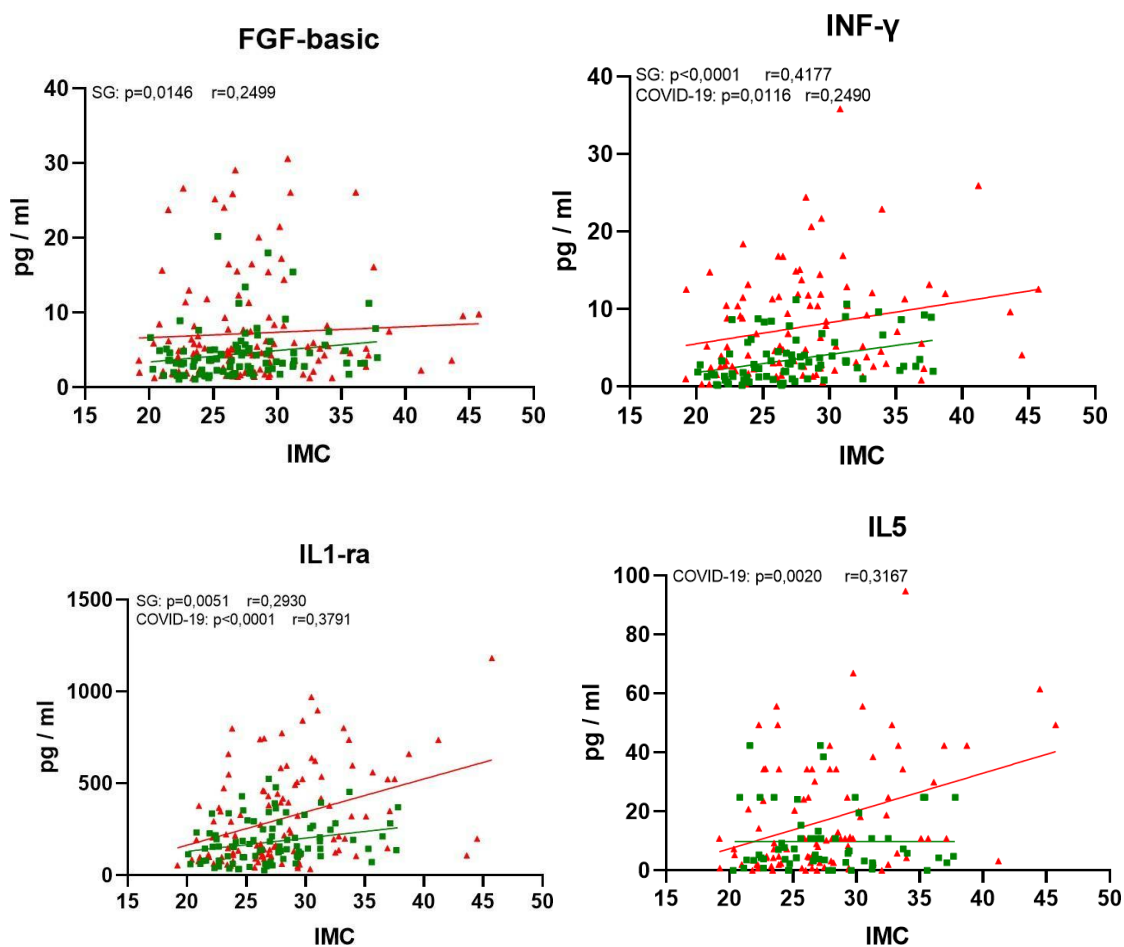
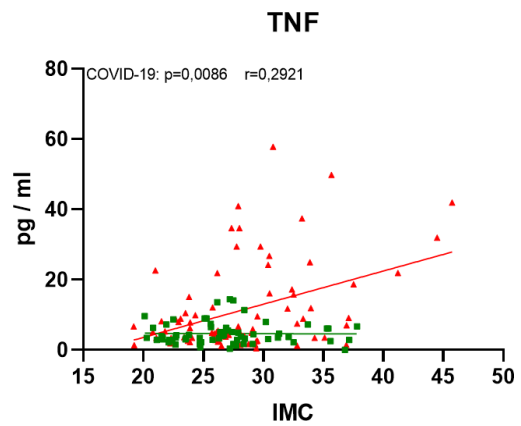
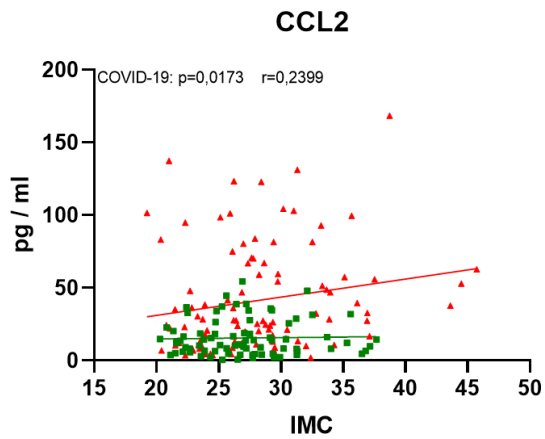
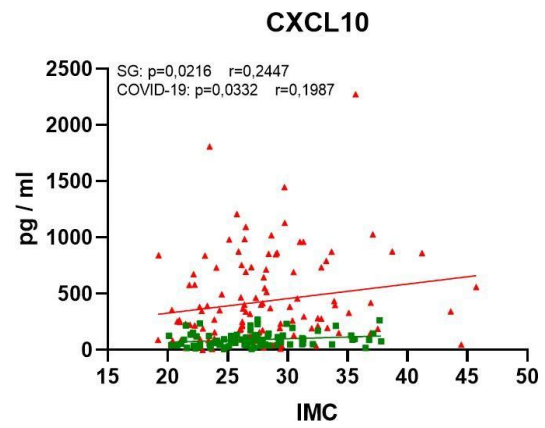
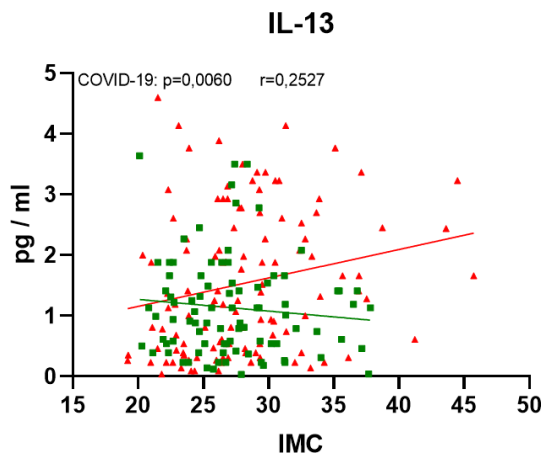
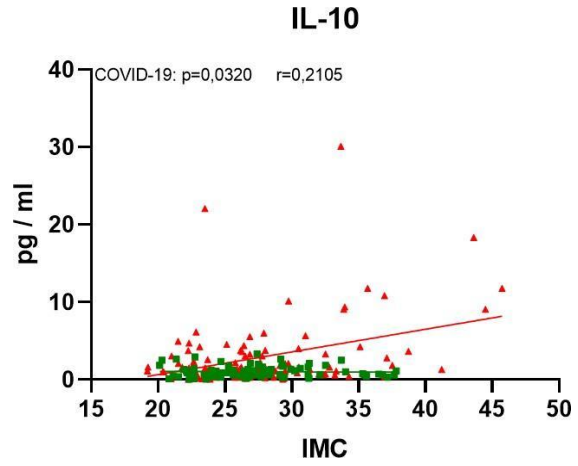
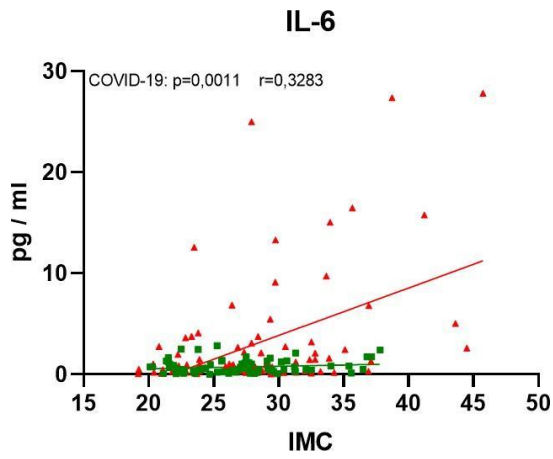


Figura 11: Concentrações plasmáticas dos biomarcadores IL-10, G-SCF, IL-5, IL-12 de acordo com a gravidade (leves ou internados) segundo o estado nutricional. A medida dos biomarcadores plasmáticos foi realizada por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27. As concentrações de IL-10, G-CSF, IL-5 e IL-12 foi maior no grupo com obesidade que internou por COVID-19 em comparação ao grupo com sobrepeso que também necessitou de hospitalização pela doença. A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis para três grupos seguido do post-hoc Dunn's com o objetivo de identificar as fontes das diferenças significativas. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$. No gráfico, a linha inferior de cada box representa o valor mínimo e a linha superior o valor máximo, as linhas do próprio box representam o valor de Q1, Q2 e Q3.

5.6. Análise de correlação

O teste de Spearman para cada uma das citocinas demonstrou que houve uma correlação positiva no grupo SG entre IMC e os biomarcadores FGF-basic, INF- γ e a IL-1ra, enquanto no grupo com COVID-19 ocorreu uma correlação positiva entre IMC e INF- γ , IL-1ra, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, CXCL10, CCL2 e TNF- α , PCR e ferritina (**Figura 12**). Os demais mediadores analisados não mostraram correlação com o IMC nos grupos analisados.





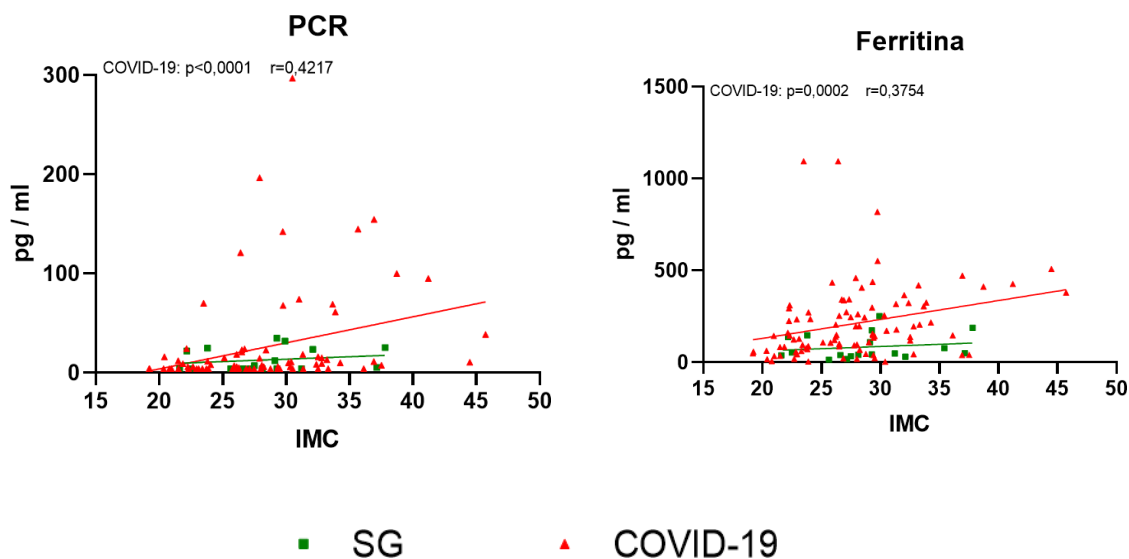


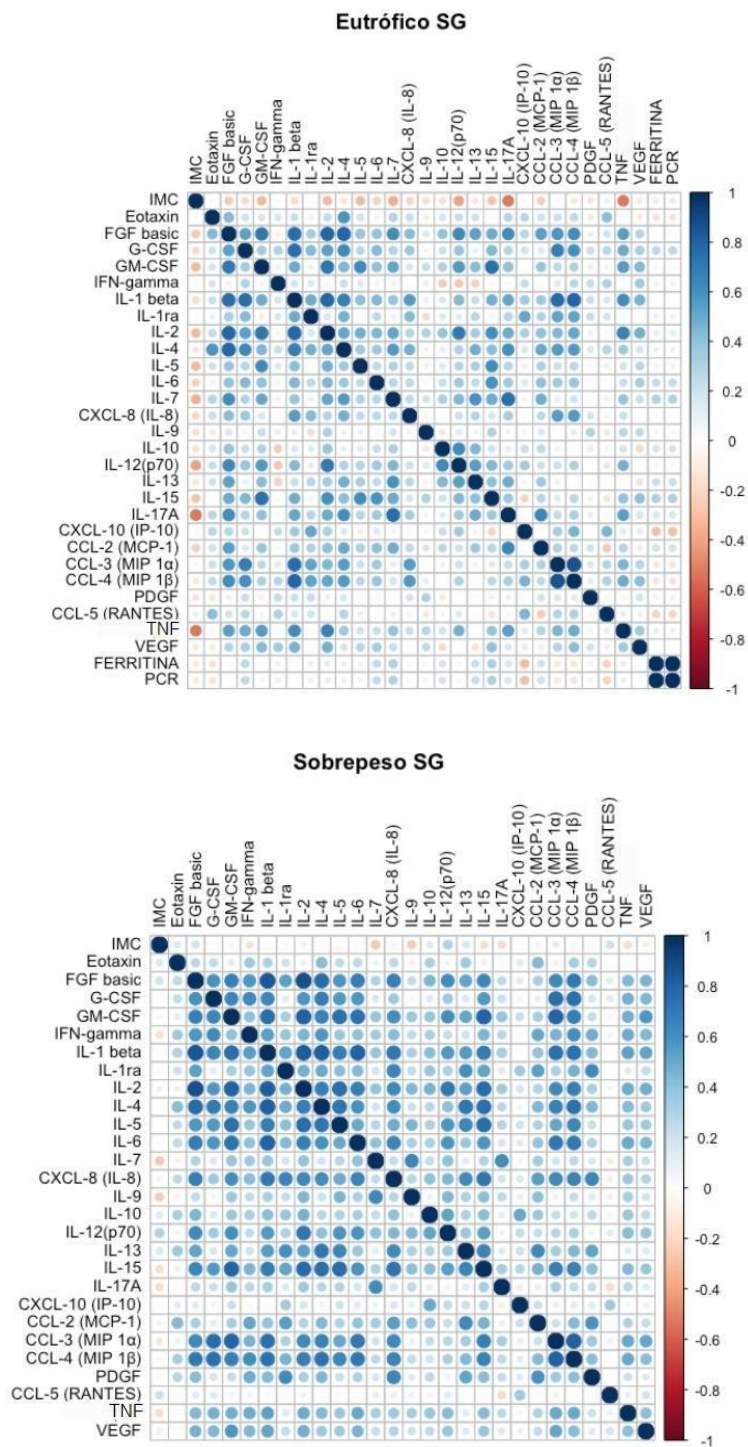
Figura 12: Correlação entre os biomarcadores e o IMC segundo a classificação clínica. A medida dos mediadores plasmáticos foi realizada por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27, as proteínas de fase aguda foram mensuradas no soro por meio de quimioluminescência. Houve uma correlação positiva no entre o IMC e os biomarcadores analisados no grupo SG para FGF-basic, INF- γ e a IL-1ra, enquanto no grupo com COVID-19 ocorreu essa correlação para INF- γ , IL-1ra, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, CXCL10, CCL2 e TNF, PCR e ferritina. A correlação foi feita pela correlação de Spearman e, para as diferenças significativas foi considerado * P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, **** P < 0,0001.

Para analisar a correção dos 29 marcadores em conjunto, foi desenvolvido o gráfico global de correlação de Spearman.

No que diz respeito à análise dos grupos com SG (**Figura 13**), os indivíduos com excesso de peso tinham mais correlações em comparação com o grupo eutrófico, entretanto o grupo com sobrepeso apresentou mais correlações que o grupo obeso, sendo exceção para esse fato a correlação de proteínas de fase aguda entre si.

Uma correlação maior foi observada nos indivíduos com obesidade e COVID-19, identificada no gráfico pela coloração azul escura, em comparação aos demais grupos (**Figura 14**). Ademais, todos os grupos com COVID-19 apresentavam maior correlação entre os biomarcadores que seus pares com o mesmo estado nutricional que estavam com SG. Além disso, os resultados também sugeriram que o excesso de peso também está correlacionado à

expressão elevada dos biomarcadores analisados mesmo em uma circunstância de infecção semelhante.



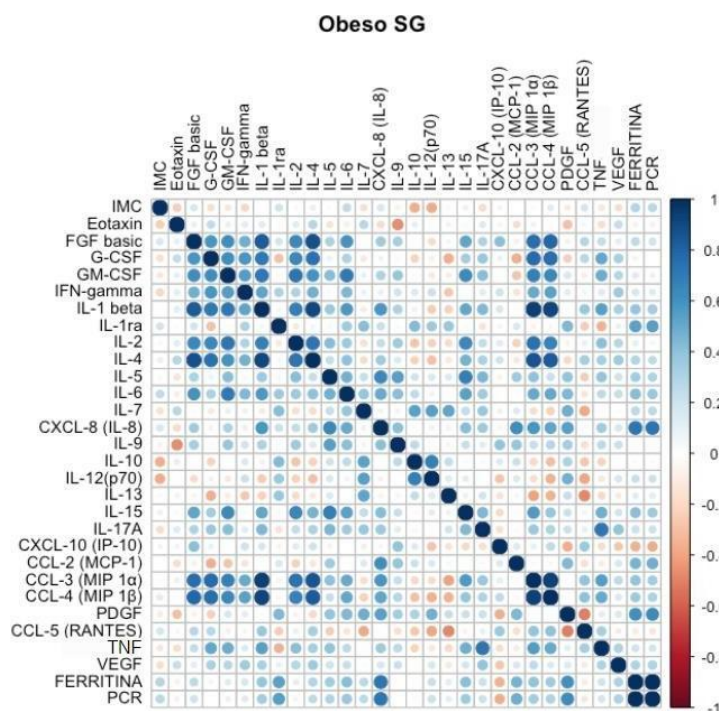
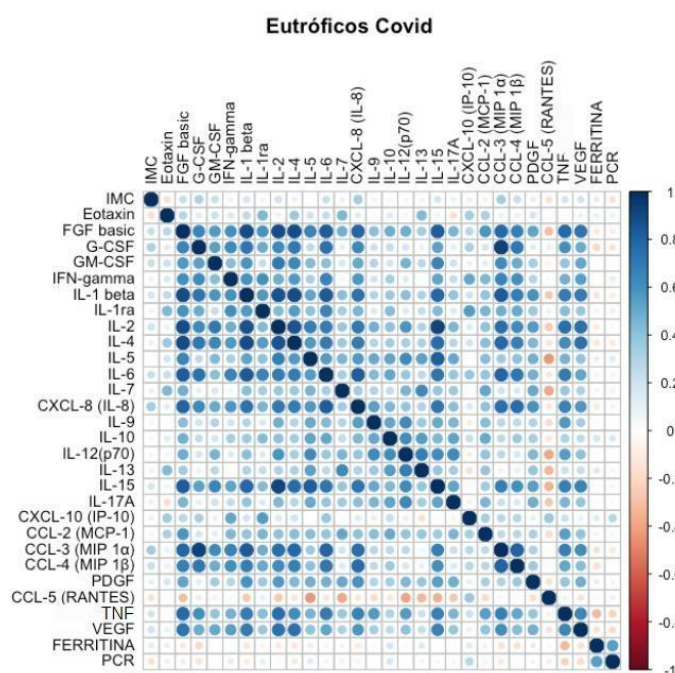


Figura 13: Correlação dos 27 marcadores no grupo com SG, segundo o estado nutricional. A medida dos biomarcadores plasmáticos foi realizada por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27, as proteínas de fase aguda foram mensuradas no soro por meio de quimioluminescência. O grupo com sobrepeso e SG apresentou maiores correlações entre biomarcadores inflamatórios em comparação aos eutróficos e com sobrepeso.



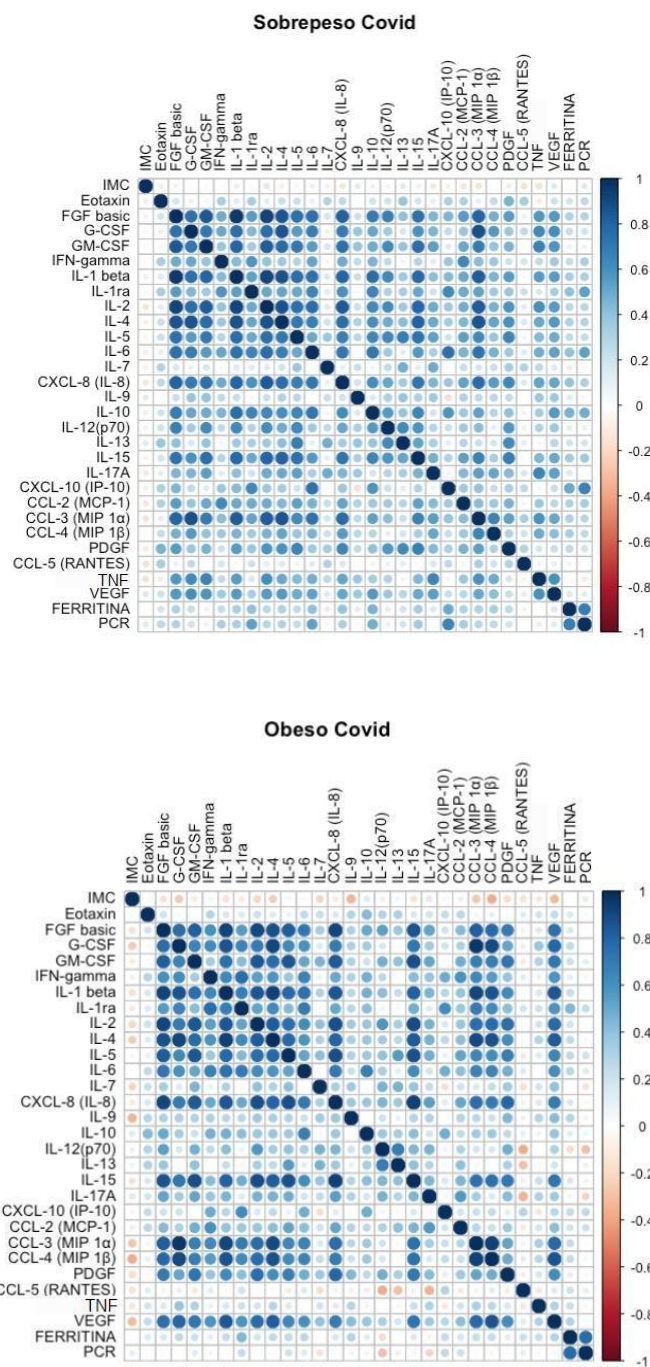


Figura 14: Correlação dos 27 marcadores no grupo com COVID-19, segundo o estado nutricional. A medida dos biomarcadores plasmáticos foi realizada por meio da plataforma Luminex com o kit Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27, as proteínas de fase aguda foram mensuradas no soro por meio de quimioluminescência. As correlações entre os biomarcadores ficam mais forte conforme o aumento de IMC.

5.7. Análise global do perfil inflamatório

Foi desenvolvido um gráfico em radar para análise global de todos os 27 mediadores investigados (**Figura 15**). Desse modo, seus dados ilustram o perfil global de citocinas/quimiocinas dos indivíduos adultos com SG e COVID-19 de acordo com a sua classificação de IMC. Foi observado que a obesidade aumenta a quantidade de alto produtores para a maioria dos mediadores analisados em ambos os grupos (SG e COVID-19). Entretanto, no grupo SG, há uma diminuição de alto produtores de IL-10 conforme o IMC se eleva, diferentemente do que ocorre na COVID-19. É interessante notar que pelo menos 50% dos indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2 obesos eram alto produtores para todos os biomarcadores analisados.

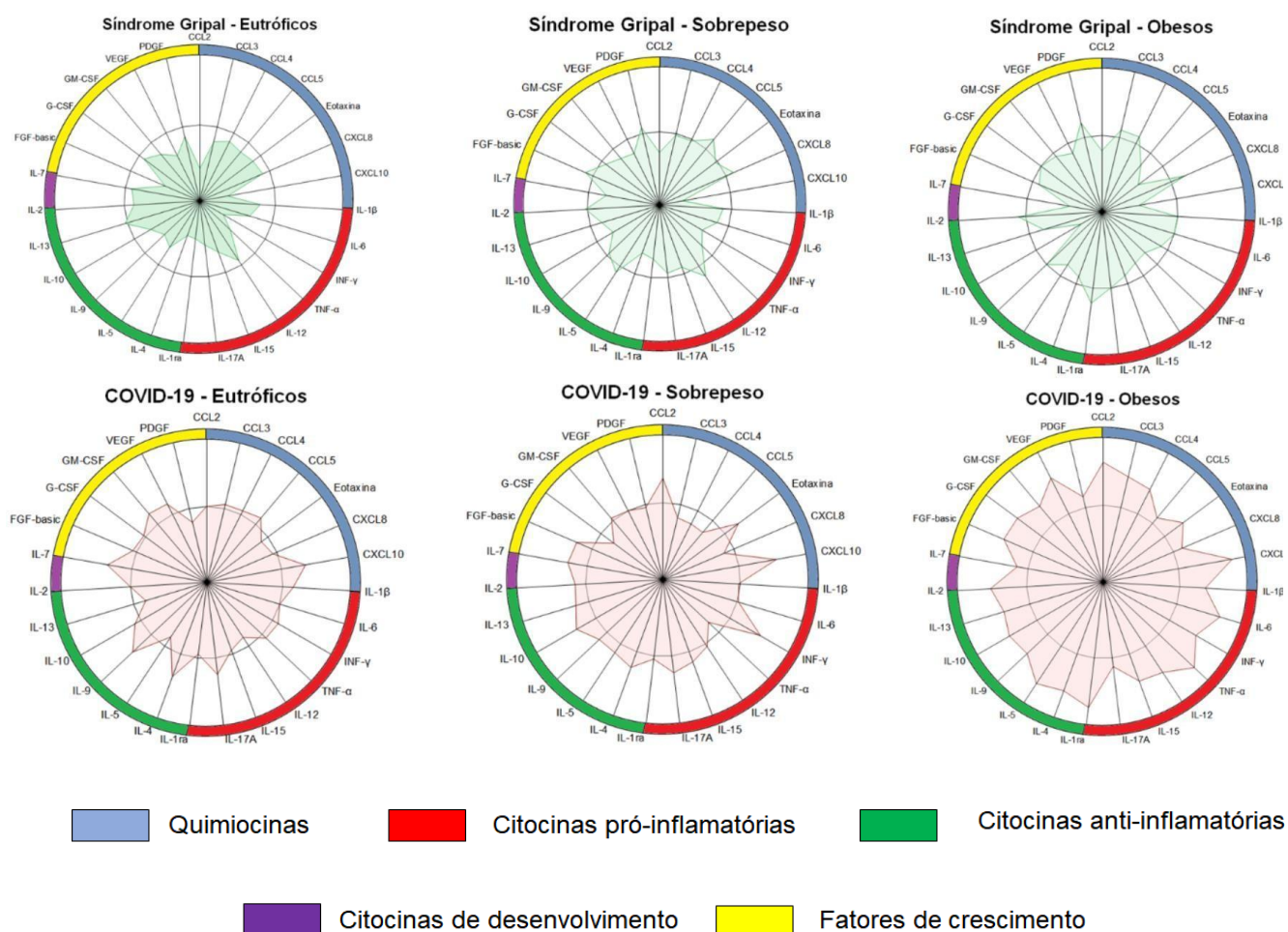


Figura 15: Análise do perfil global das citocinas e quimiocinas. Os grupos com SG aparentam ter menos alto produtores para os biomarcadores analisados que o grupo com COVID-19. Ademais, parece que o aumento de IMC no grupo com COVID-19 se associa a um número mais elevado de alto produtores para os marcadores analisado

5.8. Questionário de Frequência Alimentar

Ao todo, responderam o QFA 115 pessoas com COVID-19, sendo 30 classificadas com eutrofia, 51 com sobrepeso e 34 com obesidade. Os alimentos foram divididos em 11 grupos, sendo eles: 1 - leite e derivados; 2 - Ovos, frangos e peixes; 3 - Carne de Boi; 4 - Carne de Porco; 5 Cereais Integrais; 6 - Cereais; 7 - Leguminosas; 8 - Hortaliças; 9 - Industrializados; 10 - Frutas e Sucos Naturais de frutas sem açúcar; 11 - Sobremesas, Doces e bebidas adoçadas. A frequência de consumo foi transformada em percentual de consumo durante a semana. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos analisados (**Figura 16**).

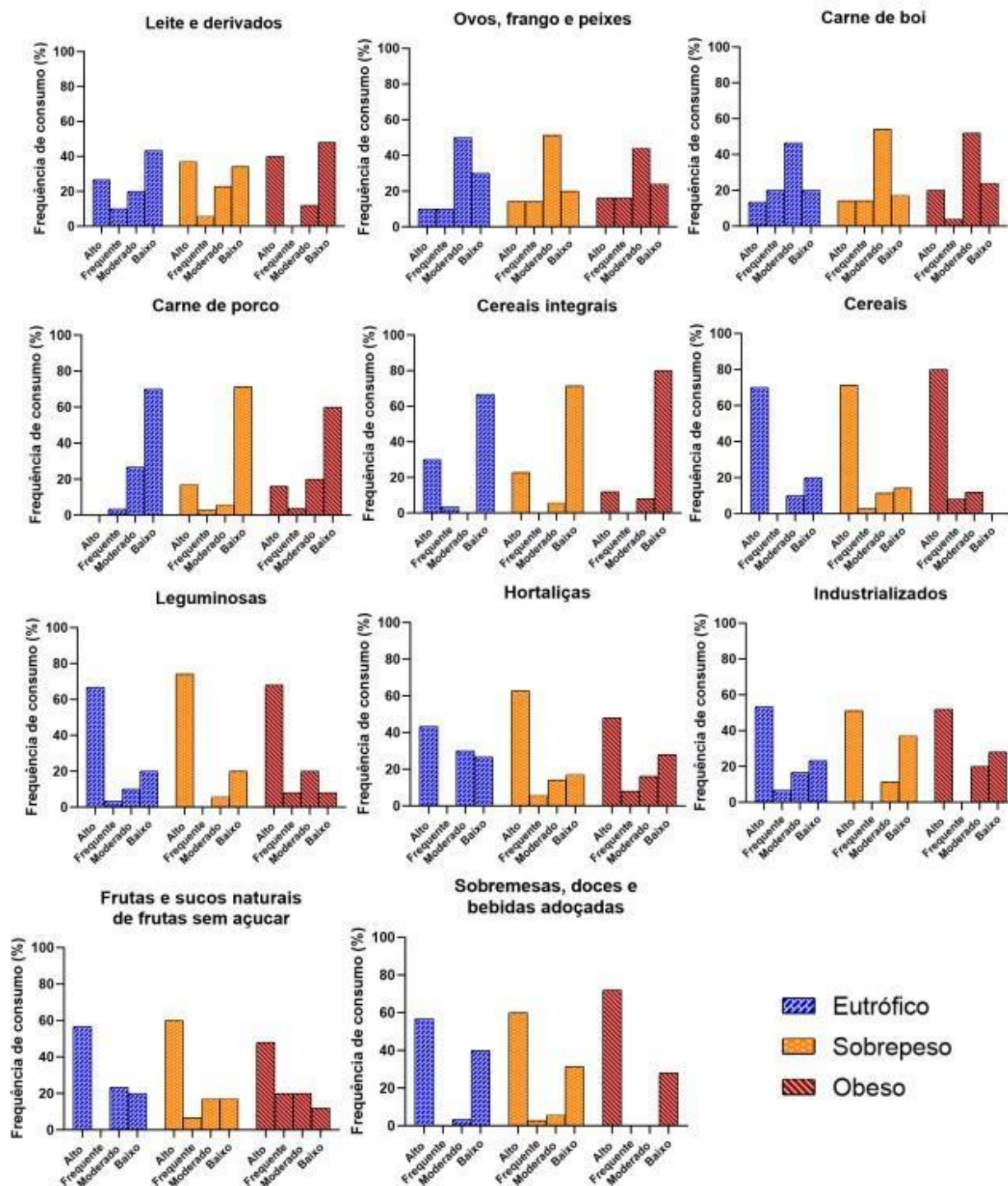


Figura 16: Questionário de Frequência Alimentar no grupo com COVID-19. A análise do QFA foi feita pelas comparações entre as frequências médias de consumo com a utilização da fórmula ANOVA two-way. Foi considerado um consumo alto para ingestão diária, um consumo freqüente para ingestão de 5 a 6x na semana, consumo moderado de 2 a 4x na semana e baixo consumo se menos de 1x na semana

6. DISCUSSÃO

A inflamação crônica de baixo grau é um dos processos fisiopatológicos associados à obesidade e está relacionada à maioria das doenças crônicas mais comuns na sociedade. Ademais, o excesso de peso pode induzir uma disfunção imunológica envolvida na piora das respostas de defesa frente a uma infecção, visto que contribui para a aceleração do envelhecimento imunológico do organismo. Ao mesmo tempo, as comorbidades desencadeadas pelo excesso de peso também induzem uma inflamação crônica, gerando um ciclo de perturbação imunobiológica (Shirakawa et al., 2021). Neste sentido, considerando a inflamação exacerbada é a principal causa da COVID-19 grave, é possível hipotetizar que a causa da obesidade ser considerada um fator de risco para pior prognóstico frente a infecção pelo SARS-CoV-2 está relacionada a inflamação crônica de baixo grau. Entretanto faltam estudos na literatura que investiguem essa possibilidade.

Neste estudo, os grupos de voluntários estudados não apresentavam diferenças estatísticas quanto à presença da maioria das comorbidades analisadas, ou seja, DM, HAS e doenças cardíacas, apesar do grupo com SG incluir um número maior de indivíduos com doença pulmonar que o grupo com COVID-19. Além disso, outras enfermidades que afetam a função imunológica, como a infecção pelo HIV e o câncer, foram critérios de exclusão do estudo.

As implicações imunobiológicas do aumento da adiposidade, como a elevação da inflamação sistêmica e estresse oxidativo e a redução da resposta reguladora, comprometem a imunidade protetora do hospedeiro. De fato, outras infecções respiratórias, tais como infecção por influenza, MERS e outros coronavírus, foram associadas a piores desfechos em obesos com maior probabilidade de internação e morte (Maurya et al., 2021; Morgan et al., 2010; Yu et al., 2020; Moser et al., 2019).

Assim, considerando o impacto da obesidade na resposta imunológica e em outras infecções respiratórias, essa condição clínica foi rapidamente estudada ainda no início da pandemia da COVID-19 por vários pesquisadores no que tange o risco de internação e mortalidade, confirmando que o acúmulo de tecido adiposo estava relacionado a piores desfechos em todo o mundo - hospitalização, necessidade de ventilação mecânica e morte. (Hamer et al., 2020; Cai et al., 2021). No que diz respeito à população brasileira, os resultados foram similares, com maior índice de internação entre os indivíduos obesos. (Houvèssou et al., 2022; Carneiro et al., 2021). Neste estudo, confirmamos esses dados uma vez que o grupo de indivíduos com

obesidade necessitou de internação mais que o grupo de indivíduos eutróficas ou com sobrepeso.

Alguns autores já haviam pontuado que a concentração da carga viral, especialmente a nasofaríngea, não estava relacionada ao risco de hospitalização ou morte. Assim não é possível utilizar esse parâmetro como justificativa da gravidade da doença (Silva et al., 2021). Neste estudo, também avaliamos se a análise da carga viral nos diferentes grupos classificados pelo IMC apresentaria diferenças. Confirmando o que já foi descrito na literatura, não houve diferenças entre os grupos com COVID-19. Além disto, houve uma tendência dos eutróficos a possuírem cargas virais mais elevadas, confirmado que a carga viral não justifica o fato dos obesos necessitarem de maior suporte hospitalar.

Assim, hipotetizamos que o risco elevado de hospitalização dentre os obesos seria devido à disfunção imunobiológica provocada pela hipertrofia do tecido adiposo. Muitos trabalhos avaliaram marcadores da inflamação em pessoas com COVID-19, sendo considerado que a hiperinflamação exerce um papel central na patogênese dessa doença (Lucas et al, 2020; Del Valle et al., 2020; Pons et al., 2021). No entanto, a maioria desses trabalhos não considera o estágio da infecção que os indivíduos estão analisando em conjunto pessoas que se encontram em momentos diferentes de ativação imune. No que diz respeito à atenção do diagnóstico nutricional, há um estudo que considera o IMC na identificação do perfil inflamatório de pacientes críticos na UTI (Dragon-Durey et al., 2020). Os autores deste trabalho não encontraram nenhuma diferença significativa nos mediadores inflamatórios entre os eutróficos, sobrepesos e obesos. Isto pode ser devido ao baixo número de participantes do estudo e pelo fato de todos estarem hospitalizados, sendo a maioria em estado crítico.

Em nosso estudo, analisamos esses dois fatores em conjunto, estado nutricional e perfil inflamatório sistêmico nos primeiros dias de sintomas da doença, com o propósito de criar dados novos que possam contribuir na identificação precoce de pessoas com tendência a apresentarem um pior prognóstico.

Com efeito, os indivíduos com obesidade e com COVID-19 apresentaram maiores concentrações dos biomarcadores IL-6, IL-2, TNF- α , IL-5, IL-10 que indivíduos com eutrofia e sobrepeso também com COVID-19. Com relação a CXCL10 e CCL2, as concentrações dessas quimiocinas foram maiores nos indivíduos com sobrepeso e obesidade em comparação aos eutróficos. Além disto, as concentrações dos mediadores IL-6, TNF, IL-5, IL-10 e CCL2 também foram diretamente correlacionados ao estado nutricional. Trabalhos anteriores

observaram que obesos apresentam maiores concentrações de mediadores da inflamação tais como IL-6, TNF e CCL2, entretanto eles não consideraram o tempo de infecção para a análise (Ellulu et al., 2017; Zatterale et al., 2020).

De forma complementar, outros trabalhos já haviam demonstrado que indivíduos com COVID-19 que possuem maiores concentrações de IL-6, TNF e CCL2 apresentavam pior sobrevida na internação (Del Valle et al., 2020; Pons et al., 2021). Com efeito, a IL-6 e o TNF são citocinas com propriedades pró-inflamatórias que induzem a produção de mais mediadores com propriedade similar potencializando a resposta imunológica. Por outro lado, CCL2 tem como ação principal a quimiotaxia de monócitos e ativação de macrófagos, aumentando a inflamação mediada por essa célula e elevando o risco de desenvolvimento de placas de ateromas (BRADLEY et al., 2008; DESHMANE et al., 2009). No nosso estudo, mostramos que a concentração da citocina IL-6 estava mais elevada precocemente no grupo de pessoas com obesidade e com COVID-19 que se internou em comparação com os indivíduos que apresentaram a forma leve da doença no mesmo estado nutricional.

A IL-2 estimula a diferenciação e proliferação de linfócitos TCD4+ e TCD8+ e tem uma ação seletiva na sobrevivência de linfócitos Tregs CD4+FOXP3+. Linfócitos T efetores e Tregs se acumulam no tecido adiposo expandido na obesidade (Shi et al., 2020), o que explica o fato dos obesos apresentarem níveis mais elevados dessa citocina. Ademais, a elevação da IL-5 pode estar associada à ativação e proliferação de eosinófilos, estimulando sua desgranulação e contribuindo para a inflamação em indivíduos obesos com COVID-19 (AKDIS et al., 2011).

Nos primeiros dias de sintomas da COVID-19 também observamos um aumento de IL-10, uma citocina que tem ação de inibir a produção de mediadores inflamatórios e assim reduzir o dano tecidual. Essa elevação provavelmente é em decorrência de mecanismos reguladores normalmente desencadeados durante o processo inflamatórios que têm o papel de mitigar a lesão epitelial induzida pela hiperinflamação (Islam, 2021).

Além disso, alguns mediadores do sistema imunológico, sintetizados a partir do ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), como as resolvinas, protectinas e maresinas, que agem no controle da magnitude da inflamação, intervindo para a resolução do quadro (Ariel e Serhan, 2007; Kwon, 2020), não foram analisados no nosso trabalho, sugerindo que apesar da elevação da IL-10 e da IL-1ra nos indivíduos com obesidade e COVID-19, talvez a concentração desses outros mediadores anti-inflamatórios possam estar alterados (e reduzidos) já no início da infecção pelo SARS-CoV-2 naqueles indivíduos com obesidade.

A elevação da quimiocina CXCL10 também já foi relacionada à gravidade da doença, especialmente na internação na UTI, sugerindo associação com o dano pulmonar e sendo considerada por alguns autores o principal biomarcador da COVID-19 grave. Essa quimiocina tem como papel induzir a atração de moléculas TH1 (Lorè et al., 2021; Oliviero et al., 2021). Observamos que a CXCL10 aumenta em todos os estados nutricionais quando comparados com seus pares com síndrome gripal, sendo, portanto, um bom biomarcador para segregar a COVID-19 de outras infecções respiratórias. Não obstante, notamos que a CXCL10 está relacionada ao excesso de peso na COVID-19. Indivíduos com sobrepeso e obesidade apresentam maiores concentrações dessa quimiocina que os eutróficos com a mesma infecção.

A CCL2 também estava mais elevada nos indivíduos com excesso de peso. Essa quimiocina atrai monócitos para o local da infecção, sendo que a atração dessas células pelos vasos sanguíneos pode estimular a formação de placas ateromatosas (ANTONELLI et al., 2006). A concentração de CCL2 estava mais elevada nos indivíduos com excesso de peso e naqueles com a forma leve da COVID-19 em comparação com os eutróficos também com a forma leve, sugerindo que, nos indivíduos com excesso de peso, o risco aumentado de formação de placas ateromatosas não está associado a gravidade da COVID-19 (Merad et al., 2020).

De forma complementar, a ferritina também estava mais elevada no grupo com excesso de peso quando comparado ao grupo eutrófico, e esse aumento teve uma correlação positiva com o IMC, sugerindo maior inflamação associada ao sobrepeso e a obesidade. É possível que o aumento na concentração dessa proteína de fase aguda seja um mecanismo protetor anti-infeccioso pois a redução do ferro circulante pode afetar patógenos que dependem deste para sobreviver. O aumento dos níveis de ferritina ativa macrófagos que passam a exibir um fenótipo M1, modulando a expressão de citocinas por essas células. Ocorre também um aumento dos estoques de ferro intracelular que podem induzir uma ferroptose, sendo que a morte dessas células leva a uma elevação dos níveis sanguíneos da ferritina (Gullar, 2021; Edeas et al., 2020). O aumento da concentração sérica dessa proteína já havia sido relacionado à maior gravidade da COVID-19 (Kaushal et al., 2022).

Observamos ainda que a concentração de PCR está mais elevada no grupo de indivíduos com obesidade em comparação aos eutróficos independente da classificação clínica, SG e COVID-19. No entanto, o grupo com COVID-19 apresentou correlação entre IMC e concentração dessa proteína. A concentração de PCR também estava aumentada nos indivíduos com a forma leve da COVID-19 e com excesso de peso em comparação com os eutróficos com a mesma condição clínica. Essa proteína tem a capacidade de ligar-se a vários patógenos, células em degeneração e remanescentes celulares e atua como uma opsonina,

além de ativar o complemento auxiliando, assim, na imunidade protetora do hospedeiro (GULHAR, 2021). Por outro lado, essa proteína também está aumentada na inflamação mediada pela adiposidade, mesmo na ausência de infecção (Visser et al., 1999). No que diz respeito à resposta imunometabólica detectada na COVID-19, o aumento da concentração sérica de PCR também foi associado à mortalidade (Smilowitz et al., 2021).

Também houve correlação entre os níveis elevados da citocina INF- γ com o IMC tanto na SG quanto na COVID-19. Com relação a IL-1ra, na análise de associação é possível verificar que essa citocina está aumentada em todos os grupos obesos analisados quando comparados com os eutróficos. No entanto, na análise de correlação, verificamos esse fato apenas no grupo com COVID-19. Também houve correlação entre o aumento das citocinas IL-5 e IL-13 com o IMC.

Quando avaliado dentre as pessoas internadas por COVID-19, O grupo com COVID-19 obeso que foi hospitalizado apresentou níveis mais elevados de IL-10, G-CSF, IL-5 e IL-12 em comparação com o grupo com COVID-19 e com sobrepeso. Esses dados sugerem que os obesos que internaram estimulavam maior resposta do tipo mista (inflamatória e anti-inflamatória). A citocina IL-5 é típica da resposta TH2, IL-10 é uma citocina anti-inflamatória e IL-12 está relacionada a respostas TH1 (AKDIS *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 1992; CHAN *et al.*, 2006). Assim, pode-se pressupor que os obesos com COVID-19 apresentam elevação nos níveis de vários mediadores imunológicos, alguns responsáveis pela hiper inflamação que pode levar a um quadro grave da doença, outros relacionados a mecanismos de regulação da resposta inflamatória e que possivelmente não são mantido ao longo do tempo de evolução da doença. De fato, um estudo já demonstrou que a IL-10 decresce ao longo do curso da infecção pelo SARS-CoV-2 (Jing et al., 2022).

Devido ao reduzido número de voluntários eutróficos que necessitam de hospitalização, não foi possível compará-los com os demais grupos com relação à internação. Entretanto, esse dado é um importante indicador que a manutenção da massa corporal no nível recomendado é uma forma importante de evitar o desenvolvimento das formas mais graves da infecção por SARS-CoV-2.

Até o momento, um único trabalho na literatura procurou estudar o perfil inflamatório segundo o estado nutricional em pessoas infectadas por SARS-CoV-2 (Dragon-Durey et al., 2020), mas esse estudo não identifica nenhuma associação entre estado nutricional e a expressão de mediadores inflamatórios. Algumas limitações desse estudo, como o pequeno número de indivíduos participantes (52 divididos nos três estados nutricionais) e por ter sido realizado com pessoas internadas sendo a maioria em estado crítico, podem ter dificultado essa identificação.

Os gráficos em radar mostram o percentual de alto produtores para as citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento. Em relação aos indivíduos com SG, a dispersão do gráfico foi muito similar entre elas, sendo que o grupo eutrófico possui uma menor proporção de altos produtores para os mediadores analisados em comparação com os grupos de indivíduos com excesso de peso, sendo que esses últimos apresentam uma resposta muito similar entre eles.

No que diz respeito à análise global dos grupos com COVID-19, observamos que os indivíduos eutróficos possuíam uma menor proporção de altos produtores para os mediadores em comparação com os grupos de indivíduos com sobrepeso e obesidade, sendo que o grupo obeso contava com pelo menos 50% dos indivíduos que eram altos produtores para todos os mediadores analisados. Além desses, altos produtores das citocinas como TNF, IL-5, IL-1ra, IL-6, quimiocinas como CXCL10, CCL3, CCL2 e os fatores de crescimento FGF-basic e G-CSF também estavam mais representados no grupo com obesidade em comparação ao grupo eutrófico.

De forma semelhante, um trabalho já havia demonstrado um aumento na produção de CCL2 e CCL3 em obesos com COVID-19, entretanto esse estudo não verificou outras divergências que podem ser devidas a todos os seus participantes estarem hospitalizados (Dragon-Durey et al., 2020).

Sob outra perspectiva, a inflamação não controlada demonstrou ser fator chave na presença de sintomas como febre, cefaléia e agravamento do quadro, marcado por hospitalização, necessidade de ventilação mecânica e morte na COVID-19.

Na infecção pelo vírus influenza H1N1, foi observado que indivíduos com excesso de peso apresentam um prejuízo na função das células TCD8+, ainda que o número de células permaneça o mesmo, quando comparados com pessoas eutróficas sugerindo que a atividade citotóxica de linfócitos está comprometida (Drożdżyńska et al., 2022). Foi observado também uma diminuição da expressão de CD69 (que regula a ativação e proliferação de linfócitos), CD40 (importante para a ativação das células B e troca de classes das imunoglobulinas) e CD28 (relacionada a resposta de linfócitos T e liberação de citocinas) em células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) de indivíduos obesos infectados (Paich et al., 2013). As células T CD8+ limitam a propagação do vírus e a gravidade da infecção por influenza induzindo apoptose em células infectadas. Assim, a obesidade e o sobrepeso se associam a um controle defeituoso da infecção viral. Além disto, estudos demonstraram que, na obesidade, há uma redução da função das células Tregs durante a infecção por H1N1

sugerindo que esses indivíduos apresentam também defeitos na regulação da resposta inflamatória (Milner et al., 2009). Embora não tenhamos analisado ainda os marcadores fenotípicos de linfócitos que nos permitam comparar nossos dados com estes observados na infecção por H1N1, os dados do perfil de mediadores nos permitem criar uma analogia com a infecção por SARS-CoV-2, outro vírus gripal intracelular.

Em nosso estudo, observamos que ocorre um aumento generalizado da produção de mediadores inflamatórios e anti-inflamatórios nos indivíduos com sobrepeso e obesidade sugerindo um descontrole da atividade imunológica. É notável ainda que essa disfunção imunológica induzida pelo excesso de peso foi detectada nos primeiros dias da contaminação pelo SARS-CoV2 e, portanto, ela não deve se relacionar à resposta imune específica para o vírus. Esse perfil distinto provavelmente está envolvido no pior prognóstico da COVID-19 e na maior taxa de hospitalização apresentada pelos indivíduos obesos e que foi constatada pelo acompanhamento dos indivíduos durante o curso da doença.

Vale ressaltar que o este estudo apresenta algumas limitações: ausência de um grupo controle sem sintomas gripais, a média de idade do grupo com obesidade e COVID-19 foi maior que nos grupos de indivíduos eutróficos e com sobrepeso também infectados pelo SARS-CoV-2 e o tempo de sintomas registrados na coleta foi segundo relato do próprio voluntário. Mais estudos são necessários para verificar o impacto da obesidade na resposta inflamatória induzida pela COVID-19 em diferentes cenários.

7. CONCLUSÃO

A COVID-19 se espalhou rapidamente ao longo do mundo se caracterizando uma pandemia a qual gerou diversas consequências socioeconômicas e de expectativa de vida, visto que se tornou a pandemia mais mortal do século. Dessa forma, a rápida identificação de indivíduos mais propensos a desenvolver a forma grave da doença é fundamental para intervenções assertivas e melhora do desfecho. Nesse sentido, ao considerar a fisiopatologia da doença, a caracterização do perfil inflamatório de indivíduos infectados com SARS-CoV-2 ainda nos primeiros dias de sintomas pode contribuir para identificar esses indivíduos. Nossos dados sugerem que há mudanças nos níveis de mediadores relacionados à inflamação nos obesos. Ao mesmo tempo, esses indivíduos tiveram taxas de hospitalização mais elevadas. Assim, é possível propor que essas diferenças no perfil inflamatório provavelmente relacionadas ao estado nutricional e detectadas no início da infecção contribuíram para um pior prognóstico em indivíduos obesos. Ainda que tenha sido identificada uma elevação nas concentrações de citocinas com potencial anti-inflamatório nesses indivíduos, esse aumento não foi suficiente para controlar a exacerbação da resposta imunológica.

Apesar das limitações já mencionadas, nosso estudo é um trabalho inédito de avaliação de diversos mediadores segundo o estado nutricional no contexto da COVID-19, sendo o primeiro do gênero realizado na população brasileira de três diferentes cidades.

8. FINANCIAMENTO

Este trabalho recebeu suporte financeiro da empresa farmacêutica Merck Sharp & Dohme (MSD), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológicos (CNPq) e da Coordenação de Apoio ao Pessoal de Ensino Superior (CAPES).

9. REFERÊNCIAS

- Adams DH, Hubscher SG. Systemic viral infections and collateral damage in the liver. *The American Journal of Pathology*. 2006 Apr;168(4):1057-9.
- Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011 Mar;127(3):701-21.e1-70.
- Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, Ferrari SM, Paolicchi A, Romagnani P, et al. Increase of CXC chemokine CXCL10 and CC chemokine CCL2 serum levels in normal ageing. *Cytokine*. 2006 Apr;34(1-2):32-8.
- Ariel A, Serhan CN. Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation. *Trends Immunol*. 2007 Apr;28(4):176-83.
- Bais S, Kumari R, Prashar Y, Gill NS. Review of various molecular targets on mast cells and its relation to obesity: A future perspective. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2017 Dec;11 Suppl 2:S1001-S1007.
- Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019 May;15(5):288-298.
- Bösmüller H, Traxler S, Bitzer M, Häberle H, Raiser W, Nann D, et al. The evolution of pulmonary pathology in fatal COVID-19 disease: an autopsy study with clinical correlation. *Virchows Archiv*. 2020 Sep;477(3):349-357.
- Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology*. 2008; 214 (2) 149–160.
- Brasil, Ministério da Saúde. Brasil confirma primeiro caso do novo coronavírus, porém não há motivo para pânico. 2020. <http://conselho.saude.gov.br/ultimas-noticias-cns/1042-brasil-confirma-primeiro-caso-do-novo-coronavirus-porem-nao-ha-motivo-para-panico>
- Brennan E, Kantharidis P, Cooper ME, Godson C. Pro-resolving lipid mediators: regulators of inflammation, metabolism and kidney function. *Nat Rev Nephrol*. 2021 Nov;17(11):725-739.
- Cai Z, Yang Y, Zhang J. Obesity is associated with severe disease and mortality in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *BMC Public Health*. 2021 Aug 4;21(1):1505.
- Carneiro RAVD, Hillesheim D, Hallal ALC. Correlation of overweight condition and obesity with mortality by COVID-19 in Brazil's state capitals. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2021 mai - jun; 65 (3)
- Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2020 Feb 25;7:22.
- Chan CW, Crafton E, Fan HN, Flook J, Yoshimura K, Skarica M, et al. Interferon-producing killer dendritic cells provide a link between innate and adaptive immunity. *Nature Medicine*, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 207–213, 2006. DOI: 10.1038/nm1352.
- Conselho Nacional de Secretários de Saúde [homepage na internet]. PAINEL COSSAS/COVID-19. [acesso em 08 junho de 2022]. Disponível em:

<https://www.conass.org.br/painelconasscovid19/>.

Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 5, 536–544 (2020).

Dáňová K, Anna G, Strnadová P, Funda D, Šumník Z, Lebl J, et al., Tolerogenic Dendritic Cells from Poorly Compensated Type 1 Diabetes Patients Have Decreased Ability To Induce Stable Antigen Specific T Cell Hyporesponsiveness and Generation of Suppressive Regulatory T Cells. *The Journal of Immunology*. 2017 Jan 15;198(2):729-740.

Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*. 2020 Oct;26(10):1636-1643.

DeMarco VG, Aroor AR, Sowers JR. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. *Nature Reviews Endocrinology*. 2014 Jun;10(6):364-76.

Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 2009 Jun;29(6):313-26.

Dixon AE, Peters U. The effect of obesity on lung function. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2018 Sep;12(9):755-767.

Dragon-Durey MA, Chen X, Kirilovsky A, Ben Hamouda N, El Sissy C, Russick J, et al. Differential association between inflammatory cytokines and multiorgan dysfunction in COVID-19 patients with obesity. *PLoS One*. 2021 May 26;16(5):e0252026.

Drożdżyńska J, Jakubowska W, Kemuś M, Krokowska M, Karpezo K, Wiśniewska M, et al., SARS-CoV-2 and Influenza Vaccines in People with Excessive Body Mass-A Narrative Review. *Life (Basel)*. 2022 Oct 17;12(10):1617.

Durso DF, Silveira-Nunes G, Coelho MM, Camatta GC, Ventura LH, Nascimento LS, Caixeta F, Cunha EHM, Castelo-Branco A, Fonseca DM, Maioli TU, Teixeira-Carvalho A, Sala C, Bacalini MJ, Garagnani P, Nardini C, Franceschi C, Faria AMC. Living in endemic area for infectious diseases accelerates epigenetic age. *Mech Ageing Dev*. 2022 Aug 2;207:111713.

Edeas M, Saleh J, Peyssonnaud C. Iron: Innocent bystander or vicious culprit in COVID-19 pathogenesis? *International Journal of Infectious Diseases*. 2020 Aug;97:303-305.

Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*. 2017 Jun;13(4):851-863.

Gallo G, Calvez V, Savoia C. Hypertension and COVID-19: Current Evidence and Perspectives. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*. 2022 Mar;29(2):115-123.

Ghaben AL, Scherer PE. Adipogenesis and metabolic health. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019 Apr;20(4):242-258.

Grohová A, Dáňová K, Špišek R, Palová-Jelínková L. Cell Based Therapy for Type 1 Diabetes: Should We Take Hyperglycemia Into Account? *Frontiers in Immunology*. 2019 Feb 5;10:79.

Gulhar R, Ashraf MA, Jialal I. Physiology, Acute Phase Reactants. *StatPearls*. 2021 abril

Hall ME, do Carmo JM, da Silva AA, Juncos LA, Wang Z, Hall JE. Obesity, hypertension,

and chronic kidney disease. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*. 2014 Feb 18;7:75-88.

Hamer M, Gale CR, Kivimäki M, Batty GD. Overweight, obesity, and risk of hospitalization for COVID-19: A community-based cohort study of adults in the United Kingdom. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020 Sep 1;117(35):21011-21013.

Hewitt, RJ, Lloyd CM. Regulation of immune responses by the airway epithelial cell landscape. *Nature Reviews Immunology*. 2021; 21, 347–362.

Houvèssou GM, Leventhal DGP, Silva EV. Obesity and COVID-19 in-hospital fatality in southern Brazil: impact by age and skin color. *Revista de Saúde Pública* 2022; 56

Islam H, Chamberlain TC, Mui AL, Little JP. Elevated Interleukin-10 Levels in COVID-19: Potentiation of Pro-Inflammatory Responses or Impaired Anti-Inflammatory Action? *Frontiers in Immunology*. 2021 Jun 21;12:677008.

Jaacks LM, Vandevijvere S, Pan A, McGowan CJ, Wallace C, Imamura F, et al. The obesity transition: stages of the global epidemic. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2019 Mar;7(3):231-240.

Jackson SE, Llewellyn CH, Smith L. The obesity epidemic - Nature via nurture: A narrative review of high-income countries. *SAGE Open Medicine*. 2020 Apr 28;8:2050312120918265.

Jin X, Yao T, Zhou Z, Zhu J, Zhang S, Hu W, Shen C. Advanced Glycation End Products Enhance Macrophages Polarization into M1 Phenotype through Activating RAGE/NF- κ B Pathway. *BioMed Research International*; 2015:732450.

Jing X, Xu M, Song D, Yue T, Wang Y, Zhang P, Zhong Y, Zhang M, Lam TT, Faria NR, De Clercq E, Li G. Association between inflammatory cytokines and anti-SARS-CoV-2 antibodies in hospitalized patients with COVID-19. *Immun Ageing*. 2022 Mar 5;19(1):12.

Kahn CR, Wang G, Lee KY. Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*. 2019 Oct 1;129(10):3990-4000.

Kang S, Yang M, Hong Z, Zhang L, Huang Z, Chen X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2020 Jul;10(7):1228-1238.

Karlsson EA, Beck MA. The burden of obesity on infectious disease. *Experimental Biology and Medicine*. 2010 Dec;235(12):1412-24.

Kaushal K, Kaur H, Sarma P, Bhattacharyya A, Sharma DJ, Prajapat M, et al. Serum ferritin as a predictive biomarker in COVID-19. A systematic review, meta-analysis and meta-regression analysis. *Journal of Critical Care*. 2022 Feb;67:172-181.

Kim JM, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Khan TA, Moore KW. Structure of the mouse IL-10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, [S. 56 l.], v. 148, n. 11, p. 3618–23, 1992.

Kim JY, Ko JH, Kim Y, Kim YJ, Kim JM, Chung YS, et al. Viral Load Kinetics of SARS-CoV-2 Infection in First Two Patients in Korea. *Journal of Korean Medical Science*. 2020 Feb 24;35(7):e86.

Krams IA, Luoto S, Rantala MJ, Jõers P, Krama T. Covid-19: Fat, Obesity, Inflammation,

Ethnicity, and Sex Differences. *Pathogens*. 2020 Oct 26;9(11):887.

Kwon Y. Immuno-Resolving Ability of Resolvins, Protectins, and Maresins Derived from Omega-3 Fatty Acids in Metabolic Syndrome. *Mol Nutr Food Res*. 2020 Feb;64(4):e1900824.

Lam TTY, Shum MHH, Zhu HC, Tong YG, Ni XB, Liao YS, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 2020. Jul;583(7815):282-285.

Larsen JR, Martin MR, Martin JD, Kuhn P, Hicks JB. Modeling the Onset of Symptoms of COVID-19. *Frontiers in Public Health*. 2020 Aug 13;8:473.

Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Annals of Internal Medicine*. 2020 May 5;172(9):577-582.

Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 2020 Mar 26;382(13):1199-1207.

Lorè NI, De Lorenzo R, Rancoita PMV, Cugnata F, Agresti A, Benedetti F, et al., CXCL10 levels at hospital admission predict COVID-19 outcome: hierarchical assessment of 53 putative inflammatory biomarkers in an observational study. *Molecular Medicine*. 2021 Oct 18;27(1):129.

Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020 Feb 22;395(10224):565-574.

Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020 Aug;584(7821):463-469.

Luzi L, Radaelli MG. Influenza and obesity: its odd relationship and the lessons for COVID-19 pandemic. *Acta Diabetologica*. 2020 Jun;57(6):759-764.

Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2020 Sep;15(3):359-386.

Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurology*. 2020 Jun 1;77(6):683-690.

Marjot T, Webb GJ, Barritt AS, Moon AM, Stamataki Z, Wong VW, Barnes E. COVID-19 and liver disease: mechanistic and clinical perspectives. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2021 May;18(5):348-364.

Martinez-Rojas MA, Vega-Vega O, Bobadilla NA. Is the kidney a target of SARS-CoV-2? *American Journal of Physiology*. 2020 Jun 1;318(6):F1454-F1462.

Maucourant C, Filipovic I, Ponzetta A, Aleman S, Cornillet M, Hertwig L, et al. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Science Immunology*. 2020 Aug 21; 5(50):eabd6832.

Mauriello CT, Hair PSR, Rohn RD, Rister NS, Krishna NK, Cunnion KM. Hyperglycemia Inhibits Complement-Mediated Immunological Control of *S. aureus* in a Rat Model of

Peritonitis. *Journal of Diabetes Research*; 2014: 762051.

Maurya R, Sebastian P, Namdeo M, Devender M, Gertler A. COVID-19 Severity in Obesity: Leptin and Inflammatory Cytokine Interplay in the Link Between High Morbidity and Mortality. *Frontiers in Immunology*. 2021 Jun 18;12:649359.

McNeill JN, Lau ES, Paniagua SM, Liu EE, Wang JK, Bassett IV. The role of obesity in inflammatory markers in COVID-19 patients. *Obesity Research & Clinical Practice*. 2021 Jan-Feb;15(1):96-99.

Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nature Reviews Immunology*. 2020 Jun;20(6):355-362.

Mills KT, Stefanescu A, He J. The global epidemiology of hypertension. *Nature Reviews Nephrology*. 2020 Apr;16(4):223-237.

Milner JJ, Sheridan PA, Karlsson EA, Schultz-Cherry S, Shi Q, Beck MA. Diet-induced obese mice exhibit altered heterologous immunity during a secondary 2009 pandemic H1N1 infection. *J Immunol*. 2013 Sep 1;191(5):2474-85.

Morgan OW, Bramley A, Fowlkes A, Freedman DS, Taylor TH, Gargiullo P, et al. Morbid obesity as a risk factor for hospitalization and death due to 2009 pandemic influenza A(H1N1) disease. *PLoS One*. 2010 Mar 15;5(3):e9694.

Moser JS, Galindo-Fraga A, Ortiz-Hernández AA, Gu W, Hunsberger S, Galán-Herrera JF, et al. Underweight, overweight, and obesity as independent risk factors for hospitalization in adults and children from influenza and other respiratory viruses. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2019 Jan;13(1):3-9.

Oczypok EA, Perkins TN, Oury TD. All the “RAGE” in lung disease: The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is a major mediator of pulmonary inflammatory responses. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2017 Jun;23:40-49.

Oliviero A, de Castro F, Coperchini F, Chiovato L, Rotondi M. COVID-19 Pulmonary and Olfactory Dysfunctions: Is the Chemokine CXCL10 the Common Denominator? *Neuroscientist*. 2021 Jun;27(3):214-221.

Paich HA, Sheridan PA, Handy J, Karlsson EA, Schultz-Cherry S, Hudgens MG, et al. Overweight and obese adult humans have a defective cellular immune response to pandemic H1N1 influenza A virus. *Obesity (Silver Spring)*. 2013 Nov;21(11):2377-86.

Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020 Apr;20(4):411-412.

Pecly IMD, Azevedo RB, Muxfeldt ES, Botelho BG, Albuquerque GG, Diniz PHP, Silva R, Rodrigues CIS. COVID-19 and chronic kidney disease: a comprehensive review. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2021 Jul-Sep;43(3):383-399.

Pons MJ, Ymaña B, Mayanga-Herrera A, Sáenz Y, Alvarez-Erviti L, Tapia-Rojas S, et al. Cytokine Profiles Associated With Worse Prognosis in a Hospitalized Peruvian COVID-19 Cohort. *Frontiers in Immunology*. 2021 Sep 1;12:700921.

Ramos Muniz MG, Palfreeman M, Setzu N, Sanchez MA, Saenz Portillo P, et al. Obesity Exacerbates the Cytokine Storm Elicited by Francisella tularensis Infection of Females and Is Associated with Increased Mortality. *Biomed Res Int*. 2018 Jun 26;2018:3412732.

Robertson CM, Coopersmith CM. The systemic inflammatory response syndrome. *Microbes Infect.* 2006 Apr;8(5):1382-9. doi: 10.1016/j.micinf.2005.12.016. Epub 2006 Mar 23. PMID: 16679040.

Rogers JP, Chesney E, Oliver D, Pollak TA, McGuire P, Fusar-Poli P, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry.* 2020 Jul;7(7):611-627.

Russo FP, Burra P, Zanetto A. COVID-19 and liver disease: where are we now? *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* 2022 Mar 17:1–2.

Saini RK, Saini N, Ram S, Soni SL, Suri V, Malhotra P, et al. COVID-19 associated variations in liver function parameters: a retrospective study. *Postgraduate Medical Journal.* 2020 Nov 12:postgradmedj-2020-138930.

Salome CM, King GG, Berend N. Physiology of obesity and effects on lung function. *Journal of Applied Physiology.* 2010 Jan;108(1):206-11.

Salunke AA, Nandy K, Pathak SK, Shah J, Kamani M, Kottakota V, et al. Impact of COVID-19 in cancer patients on severity of disease and fatal outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr.* 2020 Sep-Oct;14(5):1431-1437.

Sanoudou D, Hill MA, Belanger MJ, Arao K, Mantzoros CS. Editorial: Obesity, metabolic phenotypes and COVID-19. *Metabolism.* 2022 Mar;128:155121.

Schipper HS, Prakken B, Kalkhoven E, Boes M. Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 2012 Aug;23(8):407-15.

Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *PLoS One.* 2015 Mar 17;10(3):e0121971.

Shi H, Wang W, Yin J, Ouyang Y, Pang L, Feng Y. The inhibition of IL-2/IL-2R gives rise to CD8⁺ T cell and lymphocyte decrease through JAK1-STAT5 in critical patients with COVID-19 pneumonia. *Cell Death & Disease.* 2020 Jun 8;11(6):429.

Shirakawa K, Sano M. T Cell Immunosenescence in Aging, Obesity, and Cardiovascular Disease. *Cells.* 2021 Sep 15;10(9):2435.

Silva J, Lucas C, Sundaram M, Israelow B, Wong P, Klein J, et al. Saliva viral load is a dynamic unifying correlate of COVID-19 severity and mortality. *medRxiv [Preprint].* 2021 Jan 10:2021.01.04.21249236.

Silveira-Nunes G, Durso DF, Jr LRAO, Cunha EHM, Maioli TU, Vieira AT, et al. Hypertension Is Associated With Intestinal Microbiota Dysbiosis and Inflammation in a Brazilian Population. *Frontiers in Pharmacology.* 2020 Mar 12;11:258.

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 (Silver Spring).* 2020 Jul;28(7):1195-1199.

Smilowitz NR, Kunichoff D, Garshick M, Shah B, Pillinger M, et al. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. *European Heart Journal.* 2021 Jun

14;42(23):2270-2279.

Souza C. A. César C. L. G. Barros M, B, A. Carandina L. Goldbaum M. Pereira J. C. R. Doenças respiratórias e fatores associados: estudo de base populacional em São Paulo, 2008-2009. *Revista de Saúde Pública*. 2012;46(1):16-25

Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB. Global pandemics interconnected - obesity, impaired metabolic health and COVID-19. *Nature Reviews Endocrinology*. 2021 Mar;17(3):135-149.

Tavazzi G, Pellegrini C, Maurelli M, Belliato M, Sciutti F, Bottazzi A, et al. Myocardial localization of coronavirus in COVID-19 cardiogenic shock. *European Journal of Heart Failure*. 2020 May;22(5):911-915.

Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology*. 2020 Jun;20(6):363-374.

Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, Toller-Kawahisa JE, de Lima M, Nascimento DC, et al. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *Journal of Experimental Medicine*. 2020 Dec 7; 217(12):e20201129.

Wanderley EM, Ferreira VA. Obesidade: uma perspectiva plural. *Revista Ciência & Saúde Coletiva*. 2010 jan; 15 (1).

WHO Consultation on Obesity (1999: Geneva, Switzerland) & World Health Organization. Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO consultation. 2000.

Wong LLR, Carvalho JA. O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. *Revista Brasileira de Estudos de População*. 2006; 23 (1): 5-26.

World Health Organization [homepage na internet]. Listings of WHO's response to COVID-19. [acesso em 27 maio 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/29-06-2020-covidtimeline>

World Health Organization [homepage na internet]. Obesity and overweight. [acesso em 14 junho 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

World Health Organization [homepage na internet]. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. [acesso em 27 maio 2021]. Disponível em : <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions>

Wu J, Song S, Cao HC, Li LJ. Liver diseases in COVID-19: Etiology, treatment and prognosis. *World Journal of Gastroenterology*. 2020 May 21;26(19):2286-2293.

Yao K, Ge JB, Sun AJ, Hong XW, Shi HY, Huang RC, et al. . Effects and mechanism of hyperglycemia on development and maturation and immune function of human monocyte derived dendritic cells. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2006 Jan;34(1):60-4.

Yu W, Rohli KE, Yang S, Jia P. Impact of obesity on COVID-19 patients. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2021 Mar;35(3):107817.

Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology*.

2020 Jun;215:108427.

Zammit C, Liddicoat H, Moonsie I, Makker H. Obesity and respiratory diseases. *International Journal of General Medicine*. 2010 Oct 20;3:335-43.

Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, Beguinot F. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Physiol*. 2020 Jan 29;10:1607.

Zhao R, Su Z, Komissarov AA, Liu SL, Yi G, Idell S, Matthay MA, Ji HL. Associations of D-Dimer on Admission and Clinical Features of COVID-19 Patients: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression. *Frontiers in Immunology*. 2021 May 7;12:691249.

Zheng J, Wong LR, Li K, Verma AK, Ortiz ME, Wohlford-Lenane C, et al. COVID-19 treatments and pathogenesis including anosmia in K18-hACE2 mice. *Nature*. 2021 Jan;589(7843):603-607.

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 Mar 28;395(10229):1054-1062.

Anexo 1:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1 - Identificação da pesquisa:

Título do Projeto: Impacto do perfil de imunossenescência no desfecho da COVID19.

2 - Informações ao participante ou responsável:

1. Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa intitulada “*Impacto da imunossenescência no desfecho da COVID-19*”. O tempo de duração desta pesquisa será de 22 meses, sendo que a coleta de dados terá início em Fevereiro de 2021 e término em Novembro de 2022. A sua participação no estudo ocorrerá no período do atendimento até o desaparecimento dos sintomas da doença caso a infecção pelo SARS-CoV2 seja confirmada. Se o resultado do teste para o SARS-CoV2 for negativo, sua participação se encerrará depois da coleta do material biológico (sangue e fezes). Caso concorde em participar desta pesquisa, ao final da leitura deste termo de consentimento você deverá assiná-lo em duas vias, sendo que uma delas ficará com os pesquisadores responsáveis e a outra via com o participante da pesquisa.

2. Essa pesquisa tem como objetivo entender quais os fatores relacionados ao envelhecimento podem contribuir para determinar a forma clínica da COVID-19 leve, moderada ou grave.

3. O envelhecimento está geralmente associado ao aparecimento de doenças inflamatórias crônicas, ao aumento da suscetibilidade a infecções e à redução na capacidade de realizar várias atividades físicas e mentais. No entanto, algumas pessoas envelhecem sem doenças e preservam muitas dessas capacidades. Chamamos esse processo de “envelhecimento saudável” e essas pessoas podem desenvolver uma forma assintomática ou leve da COVID-19 se forem infectados.

4. O médico fará perguntas a respeito da sua saúde, dos seus hábitos, da sua moradia e da sua família como parte do exame clínico a que você será submetido como rotina de atendimento. Um pesquisador também fará algumas perguntas, através de um pequeno questionário, sobre a sua alimentação. Você poderá se recusar a responder qualquer pergunta que por ventura lhe causar algum constrangimento. Um tempo de aproximadamente 15 minutos será necessário para você responder a essas perguntas e ao questionário.

5. Além do exame clínico, serão necessários alguns testes para verificar o seu estado de saúde. Esses testes serão feitos a partir da coleta de materiais biológicos: fezes (avaliação da microbiota intestinal e da presença de parasitoses intestinais), secreção nasal (para detecção do vírus Cov-2) e de sangue. As fezes serão coletadas por você mesmo(a) em sua casa e trazidas na próxima consulta. Serão fornecidas instruções do profissional da saúde sobre como coletar esse material. Todos os gastos decorrentes da coleta e entrega da amostra de fezes serão ressarcidos a você e ao seu acompanhante (quando necessário) pela equipe da pesquisa. A análise parasitológica e da microbiota serão feitas por empresas brasileiras que fazem esses tipos de análise.

Rubricas (pesquisador/participante ou responsável)

O sangue será coletado do seu braço e será utilizado para a realização de outros testes como, por exemplo, o hemograma (que mostra a contagem dos glóbulos vermelhos e brancos), o teste de ELISA para medir anticorpos e outras substâncias presentes no sangue como as citocinas que irão mostrar como o seu organismo se defende de infecções, por exemplo. Será necessário coletar cerca de 40 mL do seu sangue.

Para o exame que detecta a presença do coronavírus, um membro da equipe irá coletar secreção de ambas as narinas ou da faringe utilizando um cotonete (*swab*). Esse cotonete será introduzido com cuidado e por um tempo curto, mas o processo causa algum desconforto. Depois o cotonete contendo o material coletado será introduzido em um tubo contendo solução de inativação do vírus e todo o material será enviado para o teste.

6. Haverá coleta, transporte, armazenamento e utilização desse material biológico coletado somente para fins de pesquisa sendo que esse material será destruído após a utilização ou o fim da pesquisa. Caso haja intenção de uso do seu sangue/fezes em pesquisas futuras ou compartilhamento com outras instituições você será consultado antes.

7. O sangue será coletado por profissional treinado que usará jaleco, máscara, óculos de proteção e luvas. Todo o material utilizado para a coleta é estéril e descartável. A coleta de sangue pode causar leve dor local podendo, em alguns casos, levar à formação de pequenos hematomas locais e discreto sangramento. Poderão ocorrer outros tipos de desconforto a você como tonturas e desmaios, ou desconfortos psíquicos como ansiedade e medo. Isto será levado em conta no momento da coleta e, caso seja necessário, será providenciada uma coleta na posição deitada para evitar qualquer tipo de desconforto, constrangimento ou aborrecimento. A coleta da secreção nasal ou da faringe será feita por cotonetes (*swabs*) e ela causa algum desconforto. O profissional responsável pela coleta é treinado para realizar o procedimento, a fará de maneira cuidadosa e por um tempo curto para minimizar esse desconforto. A coleta das fezes será realizada em casa por você mesmo e o material será trazido ao hospital. Essa coleta não apresenta nenhum risco para a sua saúde, mas pode lhe causar constrangimento.

8. Medidas de biossegurança são adotadas em todos os procedimentos realizados neste projeto visando salvaguardar o coletor de qualquer possibilidade de contaminação e também evitar injúria ao paciente no ato da coleta de sangue por punção venosa. Serão observadas medidas de segurança também para acidentes cortantes ou perfurantes e os riscos de contaminação são minimizados com a realização de antissepsia do ponto de punção, assepsia das mãos entre o atendimento dos pacientes e imunização ativa contra tétano, difteria e hepatite B para todos os profissionais de saúde envolvidos neste projeto. Com relação à coleta das fezes, ela não apresenta nenhum risco para a sua saúde e será realizada em sua casa para evitar qualquer tipo de constrangimento.

9. Caso os resultados dos exames laboratoriais sejam positivos para SARS-Cov2 você será informado em poucos dias. Se o exame for positivo para parasitoses, você será orientado adequadamente e encaminhado para tratamento gratuito. Os resultados relativos ao seu hemograma (contagem de células no sangue) também serão entregues a você e fornecidas explicações com relação a esses resultados.

Rubricas (pesquisador/participante ou responsável)

10. Você não é obrigado a fazer os exames ou a doar seu sangue. A recusa não lhe causará nenhum prejuízo, nenhum gasto e não irá alterar a forma como você será atendido na unidade de saúde ou hospital.

11. Suas amostras de sangue e fezes serão processadas no Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ (em Belo Horizonte), na Universidade Federal de Juiz de Fora (em Governador Valadares) e na Universidade de São Paulo (em São Paulo) e transferidas posteriormente para armazenamento no Laboratório de Imunobiologia da Universidade Federal de Minas Gerais (em Belo Horizonte), por um período máximo de 10 anos, sendo utilizadas para análises desta pesquisa. Essas amostras também poderão ser utilizadas em outras pesquisas, mas você será consultado(a) antes de isso ocorrer. As amostras serão destruídas após a realização da atual pesquisa ou, com seu consentimento, em pesquisas futuras.

12. A sua participação como voluntário não será remunerada. Será oferecido, ao participante da pesquisa, o resultado do exame de PCR para SARS-Cov2 em poucos dias e também o acesso a todas as informações sobre a sua saúde imunológica (que será examinada pelos testes que faremos ao longo do projeto). Esses resultados serão entregues a você ao final do estudo, caso você queira requisitá-los à equipe da pesquisa. O contato com a equipe e o prazo para essa requisição serão entregues a você após o atendimento. Serão garantidos também todos os cuidados necessários para sua participação de acordo com seus direitos individuais e respeito ao seu bem-estar físico e psicológico e você poderá retirar-se desta pesquisa em qualquer momento, sem que isto lhe cause qualquer prejuízo ou constrangimento. Todos os participantes terão direito a receber indenização por quaisquer danos à sua saúde comprovadamente provenientes dos procedimentos relacionados à pesquisa.

13. Este estudo contribuirá para a identificação de fatores biológicos responsáveis pelas formas leves ou graves da doença causada pelo vírus SARS-Cov-2.

14. Serão garantidos o sigilo e a privacidade das informações, sendo reservado a você o direito de não se identificar.

15. Na apresentação dos resultados, seu nome não será citado, nem daquele pelo qual você é responsável. Sua identificação será mantida em sigilo durante todo o estudo e apenas a coordenadora do projeto manterá essa informação guardada em arquivo seguro.

16. A sua participação é importante, pois auxiliará na busca dos fatores envolvidos no desenvolvimento das formas leves ou graves da COVID-19 e na elaboração de medidas que ajudem a identificar os indivíduos que desenvolverão a forma grave de forma rápida. Isto possibilitará o tratamento da doença no seu início melhorando as chances de boa recuperação.

17. Caso queira, você também pode tirar dúvidas sobre o projeto com as pesquisadoras responsáveis Dra. Ana Maria Caetano de Faria (coordenadora geral do projeto e professora da UFMG) no telefone/whatsapp (31) 99741-0793 Dra. Gabriela Silveira Nunes Abreu (coordenadora do projeto em Governador Valadares e professora da UFJF) no telefone/whatsapp (33)99180-0050; ou Dra. Rosana Richtmann (médica infectologista responsável pelo atendimento no Instituto de Infectologia Emílio Ribas em São Paulo) no telefone/whatsapp (11) 99944-4507.

Rubricas (pesquisador/participante ou responsável)

Nome do Participante: _____

Eu _____, concordo em participar da pesquisa, sob a responsabilidade dos coordenadores deste projeto, de forma livre e voluntária. Declaro que fui devidamente informado (a) sobre a pesquisa, assim como sobre os possíveis riscos e benefícios da mesma. O sigilo e a possibilidade de retirada do estudo também me foram devidamente informados.

Consentimentos Opcionais:

- () Eu concordo que meu material biológico seja utilizado apenas para esta pesquisa.
 () Eu concordo que meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisas também, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro TCLE, que dará explicações sobre como e para que o meu material biológico será utilizado.
 () Eu autorizo os pesquisadores envolvidos na pesquisa a consultarem os dados do meu prontuário médico para obter informações referentes à minha saúde. Essas informações permanecerão sigilosas e sob a guarda do pesquisador responsável pelo estudo.

Governador Valadares/Belo Horizonte/São Paulo, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do Participante ou Responsável

Ana Maria Caetano de Faria

Assinatura do Coordenador do Projeto de Pesquisa

Identificação do Responsável pela Pesquisa

<p>Pesquisador Responsável: Profª. Dra. Ana Maria Caetano de Faria</p>
<p>Instituição de Origem da Pesquisa: Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG Instituto de Ciências Biológicas Departamento de Bioquímica e Imunologia Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, MG Tel: 31-3409-2630 / 2640 Fax: 31- 3409-2640</p>
<p>Comitê de Ética em Pesquisa: Comitê de Ética da UFMG Av. Pres. Antonio Carlos, 6627 - Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 - CEP: 31270-901 - Belo Horizonte - MG Telefax: (031) 3409-4592 - e-mail: coep@prpq.ufmg.br</p>

Anexo 2:

Nome/código: _____

Data: __/__/____

Dia do telemonitoramento: _____

1) Nas últimas 24h você apresentou alguns dos sinais e sintomas ou teve alguma melhora ou piora?

- a) **Tosse** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
 a. () Com secreção () Sem secreção
- b) **Dor na garganta** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- c) **Dificuldade para respirar** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- d) **Dor no peito/Dor no tórax** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- e) **Coriza** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- f) **Sentiu menos o cheiro das coisas** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- g) **Congestão nasal/nariz entupido** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- h) **Sentiu menos o gosto das coisas** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- i) **Teve enjoo** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- j) **Vomitou** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- k) **Teve diarreia** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- l) **Dor de cabeça** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- m) **Febre** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- n) **Cansaço/fadiga** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- o) **Dor nos olhos?** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou
- p) **Dor muscular?** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou

- q) **Coração acelerou** () Não apresentou () Apresentou - 1ª vez [] sim [] não - () Melhorou () Piorou

2) Tem alguma(s) doença(s) crônica que faz uso diário de medicação?

() Não () Sim

a) **Se sim, qual(ais) doença?** _____

b) **Está tomando os remédios?**

() Sim () Não

Se não está tomando os remédios, explique o motivo:

2.b.a () Acabaram os remédios

2.b.b () Não tem dinheiro para comprar os remédios

2.b.c () a Farmácia da Unidade Básica de Saúde não estão entregando

Se sim, quais remédios você toma?

Está tomando algum medicamento fora da rotina? () Não () Sim, qual?

3) Saiu de casa após o atendimento na UPA e/ou confirmação do teste PCR?

() Sim () Não

Se sim, explique o motivo da saída da casa.

a) () Foi ao supermercado

b) () Foi a farmácia

c) () Foi à igreja

d) () Foi ao banco ou lotérica

e) () Foi ao salão/barbearia

f) () Foi ao restaurante ou lanchonete

g) () Foi à loja de roupa ou calçado

h) () Foi ao hospital ou unidade básica de saúde ou UPA

i) () Foi casa de algum familiar, amigo ou colega

j) () Outra opção, qual? _____

3.1 Se saiu de casa por algum motivo você:

- a) Usou máscara
- b) Usou álcool em gel
- c) Manteve distanciamento de no mínimo 2 metros

4 Como você classifica seu estado emocional?

- Bom Regular Ruim

5 Como você classifica seu estado geral?

- Bom estado geral Regular estado geral Mal estado geral

6 Alguém que mora com você, na mesma casa, teve COVID antes de você?

- Não Sim - Se sim, quantas pessoas? _____

a) Eles fizeram algum exame?

- Não Sim - Se sim, qual exame? teste rápido Swab/RT-PCR De sangue/Sorologia

7 Alguém que mora com você, na mesma casa, apresentou algum sinal ou sintoma da COVID depois de você?

- Não Sim - Se sim, quantas pessoas?

a) Eles fizeram algum exame?

- Não Sim - Se sim, qual exame? teste rápido Swab/RT-PCR De sangue/Sorologia

8 De maneira geral, você diria que sua saúde esteve na última semana (perguntar uma vez por semana):

- Muito boa Boa Razoável Ruim Muito ruim

Anexo 3:

QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA DE CONSUMO ALIMENTAR (QFCA)

Produtos	1 vez/dia	2 ou >/dia	5 a 6 vezes/semana	2 a 4 vezes/semana	1 vez/semana	1 a 3 vezes/mês	Não consome
LEITE E DERIVADOS							
Leite Tipo: () integral () semidesnatado () desnatado							
logurte							
Queijo branco (minas/frescal)							
Queijo amarelo (prato/mussarela)							
Requeijão							
CARNES E OVOS							
Ovo frito							
Ovo cozido							
Carne de boi							
Carne de porco							
Frango							
Peixe fresco							
Peixe enlatado (sardinha/atum)							
Carne conservada no sal (bacalhau, carne seca/sol, feijoada)							
Vísceras (fígado, rim, coração)							
ÓLEOS							
Azeite							
Bacon, toucinho e/ou banha de porco							
CEREAIS E LEGUMINOSAS							
Arroz integral							
Arroz polido							
Pão integral							
Pão francês							
Bolos caseiros							
Macarrão							
Feijão							
Lentilha							
HORTALIÇAS E FRUTAS							
Folha crua							
Folha refogada/cozida							
Legumes crus							
Legumes cozidos							
Tubérculos (cará, mandioca, batata, inhame)							
Frutas							
Suco natural sem açúcar							
SOBREMESAS, DOCES E BEBIDAS ADOÇADAS							
Suco natural com açúcar							
Tortas e doces							
Café com açúcar							
Refrigerante							
Suco artificial com açúcar							
INDUSTRIALIZADOS							
Adoçante							

APÊNDICE A - Artigo

Obesity is associated with a high pro-inflammatory profile at early infection and with higher susceptibility to severe COVID-19 in individuals from three diferente cities in Brazil.

Larissa Oliveira de Assis¹, Lucas Haniel Ventura ², Giovanna Caliman Camatta², Cecília Gravatá², Ana Paula ³, Murilo Costa Soares ³, Hugo Itaro Sato ^{2,4}, Santuza Teixeira ^{2,4}, Andrea Teixeira-Carvalho ⁵, Unai Tupinambás ³, Tatiani Uceli Maioli¹, Gabriela Abreu ⁶, Ana Maria Caetano Faria³

¹ Departamento de Nutrição, Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

² Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

³ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

⁴ Instituto de Ciência e Tecnologia – Vacinas (CT Vacinas).

⁵ Insituto de Pesquisa René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, Brasil.

⁶ Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, Belo Horizonte, Brazil

*Corresponding author: Ana Maria Caetano Faria, anacaetanofaria@gmail.com

Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

Abstract

COVID-19 is an infection caused by the Rapidly Spread SARS-CoV-2 virus, accounting for millions of deaths worldwide. The inflammatory process is essential for the defense of the host against infections, however, some people cannot control the exacerbation of inflammation in COVID-19, injuring their own cells and tissues, often leading to the need for hospitalization and worsening the prognosis. In this sense, obesity and comorbidities associated with related to an immunological dysfunction that generates a low-grade chronic inflammation were proposed as risk factors for the development of the severe form of COVID-19. To analyze this hypothesis, this study evaluates the inflammatory profile of eutrophic and obese patients with COVID-19. For this, the cytokine profile of eutrophic, overweight and obese people of a group with flu-like syndrome (FS) not caused by SARS-CoV-2 and a group with COVID-19 with up to 7 days of symptoms was compared. In all the work was composed of 95 individuals with FS and 123 with COVID-19 from the cities of São Paulo, Belo Horizonte and Governador Valadares, in Brazil. Blood was collected from all individuals and plasma cytokines as well as acute phase proteins were measured in their sera. In the obese group for COVID-19, we observed higher concentrations of IL-2, TNF- α , IL-6, IL-5 and IL-10 compared to eutrophic and overweight with the same infection. Also, overweight or obese people positive for COVID-19 had more CXCL10, CCL2 and ferritin compared to eutrophic people. Obese individuals also had more IL-1ra than eutrophic ones with COVID-19. We also observed that frequency of hospitalized patients were higher in the group of obese individuals. Therefore, obesity was associated with a distinct and more pronounced inflammatory profile detected in the first days of symptoms and with a worst disease outcome in infected individuals from 3 different cities of Brazil.

Key-words: COVID-19; inflammation, nutritional status, obesity

Introduction

COVID-19 is a respiratory infection caused by the SARS-CoV-2 virus, among humans, this disease has as main form of transmission the droplets expelled by the respiratory system of infected people. This disease spread rapidly throughout the world and became the deadliest pandemic in the last 100 years (LAM, et al., 2020; WHO, 2020b; Coronaviridae Study, 2020).

With regard to the physiopathogenesis of this disease, we can segregate in two main moments, the initial inflammatory process and the late inflammatory process. In general, the defense of the organism in the first days after contact with the virus is similar for all, characterized by an increase in viral load that stimulates the release of molecular patterns associated with pathogens and activation of the pathway of the nuclear factor kappa B (NF- κ B), thus, immune cells residing in the pulmonary epithelium respond by releasing cytokines, such as (IL) -6, Tumor necrosis factor alpha (TNF) - α and interferon (INF) and chemokines such as CXCL (chemokine with c-x-c motif) 5, CXCL8, CXCL10, CCL (chemokine c-C ligant) 2 and CCL5, increasing the recruitment of new cells in the immune system (Zheng et al., 2021; KIM et al., 2020; PAN et al., 2020).

After this period, the late inflammatory process begins, which can be resolutive, when there is an increase in plasmocytes and B lymphocytes that act in the production of antibodies, effector T lymphocytes for activation of plasmocytes, cytotoxic T for the destruction of infected cells and regulatory T to control inflammation, thus occurs viral elimination and reduction of inflammatory response. However, in some people, the late immunological response is characterized by an uncontrollby where there is an increase in inflammatory mediators, such as IL-6, CXCL10, TNF- α , which attract even more immune cells to the site and causing a storm of cytokines, thus, the process causes tissue damage affecting alveolar function (Lauer et al., 2020; LI, Q. et al. 2020; Zheng et al., 2021; KIM et al., 2020; PAN et al., 2020; Yuki et al. 2020; HEWITT et al., 2021; Larsen et al., 2020; Maucourant et al., 2020; Veras et al., 2020). Nevertheless, the storm of cytokines induces systemic effects, such as alteration in the nervous system, gastrointestinal tract, hypercoagulability (MAO et al., 2020; Rogers et al., 2020; machhi, 2020).

Among the risk factors for the development of the severe form of the disease are advanced age, male gender, obesity, diabetes mellitus, cardiovascular diseases (CVD), chronic lung disease, chronic kidney disease (CKD), cancer and chronic liver disease (STEFAN et al., 2021).

In this sense, obesity becomes a key point, due to the fact that hypertrophy of adipose tissue

increases inflammation mediated by immunological cells resident in the tissue, such as macrophages and neutrophils, which increases the concentration of biomarkers such as IL-6, TNF- α , IL-1 β and IL-18. Furthermore, it increases the inflammatory response mediated by TCD4+ and TCD8+ cells to the detriment of FOXP3+ Tregs cells (Brennan et al; 2021; Chait et al., 2020; Schipper et al., 2012; Schmidt et al., 2015).

Thus, inflammation mediated by excess adiposity causes systemic effects that impact insulin resistance and diabetes, increases the risk of developing cancer, increases the production of norepinephrine mediated by the sympathetic nervous system that estimates vasoconstriction that, together with changes in the renin-angiotensin system, increase the risk of arterial hypertension. These changes in vasculature induced mainly by diabetes and hypertension increase the likelihood of acute myocardial infarction and heart failure and may cause arrhythmias and organ failure. In the lung increases oxygen consumption and the number of mast cells that generates higher risk of severe acute respiratory syndrome and respiratory allergies. In the liver increases the risk of intrahepatic fat deposition causing nonalcoholic fatty liver disease and cirrhosis (Mauriello et al 2014; JIN et al., 2015; Gallo et al., 2022; Zhao et al., 2021; Pecly et al., 2021; Salome et al., 2010, Souza et al., 2012).

Thus, it can be observed that obesity causes inflammation with systemic consequences being an important risk factor for greater severity in SARS-CoV-2 infection, but this disease also increases the risk of developing other diseases related to a worse prognosis.

Nevertheless, in general, few studies to date evaluate cytokines and chemokines according to nutritional status in the context of COVID-19 and, when performed, it was developed only in hospitalized patients (Dragon-Durey et al., 2021). In addition, most studies evaluating inflammatory biomarkers disregard the days of reported symptoms, which increases the possibility of bias, because the immunological response differs according to the time of infection. Thus, it is important to evaluate whether the immunological and nutritional profile can contribute to the identification of individuals with greater possibility of hospitalization, especially in the first days of symptoms, enabling a faster intervention. Therefore, the objective of this study is to study the impact of obesity on the inflammatory profile of individuals with COVID-19 in the first days of symptoms and in disease outcome.

Materials and methods

Subjects

This is a cross-sectional study that included people with flu-like symptoms, with a maximum of seven days of symptoms reported in three Brazilian cities (Belo Horizonte, Governador Valadares and São Paulo), HIV-positive and cancer-positive people were excluded. All patients underwent the RT-PCR test to identify the presence or not of SARS-CoV-2. This study received approval from the National Research Ethics Committee (CONEP) under the number CAAE 40208320.3.1001.5149.

Collection and treatment of samples

Approximately 40 ml of peripheral blood (3 heparin tubes, 1 clot activating tube) were collected and the biological material was processed within 24 hours after collection to obtain plasma and serum. The blood was processed at 3000 rpm with 9 minutes of acceleration and 4 minutes of deceleration in the refrigerated table centrifuge Sorvall model ST16R - Thermo scientific. Serum and plasma aliquots were frozen in a freezer with temperature at -80° celsius (C) for further analysis of biomarkers.

Biomarker dosage

For the analysis of plasma biomarkers, plasma aliquots were thawed in the water bath at 37°C, later homogenized in vortex for 5 seconds, and then pipetted 200 µL of the sample to save from the presence of debris that could influence marker concentrations. Then, the samples were centrifuged at 14,000xg for 5 minutes. To quantify the quantification of plasma biomarkers, the Luminex platform was quantified using the Bio-Plex Pro Human™ Cytokines kit 27, a multiplex assay that simultaneously provided information on 27 cytokines, chemokines and growth factors (Eotaxin, FGF basic, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, CXCL8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, CXCL10, CCL2, CCL3, CCL4, PDGF, CCL5, TNF-α, VEGF) by means of a sphere-based magnetic immunoassay (beads). The data were analyzed using the Bioplex™ (Bio-Rad) software. For the analysis of acute phase ferritin and PCR proteins, an aliquot with the volunteers' serum was sent to a laboratory specialized in analysis of tests to perform their dosage.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed in the GraphPad Prism version 8.0 program for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Descriptive data referring to gender, age, height, weight, BMI and comorbidities were presented considering the frequency and/or mean ±SD.

Data normality was verified using the Shapiro Wilk test. The association between BMI classes and clinical classification were analyzed considering variance analysis (ANOVA) followed by tukey's post-hoc test and for kruskal-wallis nonparametric data followed by dunn's post-hoc with the objective of identifying the sources of significant differences. The biomarker graphs were expressed in median and interquartile range (percentiles 25 and 75). Correlation analysis was performed by SPEARMAN formula for nonparametric data.

A radar chart was performed to identify low frequencies (global median <) and high frequencies (\geq global median) of cytokines for each nutritional status considering negative controls, flu syndrome and COVID-19.

Results

Sample characteristics

A total of 753 people were recruited after the RT-PCR test and exclusion of individuals with more than 7 days of reported symptoms, 178 people with COVID-19 and 131 with GS remained. Following the application of the exclusion criteria, this study has a total of 123 volunteers with COVID-19 and 95 with SG. The characteristics of the population can be seen in table 1.

Tabela 1: Characterization of the global population according to clinical classification

Characteristics	GROUPS		TOTAL	P value
	FS	COVID-19		
N	95	123	218	-
Sex				
F	52	59	111	0,3414
M	43	64	107	
Age (years)	37,55 \pm 11,91	39,23 \pm 10,63		0,2714
Weight (kg)	76,32 \pm 15,94	78,13 \pm 16,22		0,3816
Height (cm)	1,67 \pm 0,11	1,67 \pm 0,09		>0,9999
BMI	27,3 \pm 4,27	27,9 \pm 5,23		>0,9999
Diabetes	1	7	8	0.0807
Hypertension	13	13	26	>0,9999
Respiratory diseases	13	15	28	>0,9999
Heart disease	11	2	13	0,0028**

F = female; M = male

** Significant difference by Mann Whitney defined as $P < 0.05$ and, asterisks in the figures are represented in ** = $p < 0.01$.

In the group with FS, 32 people were classified as eutrophic, 43 were overweight and 20 were obese, there was no difference between gender, age, however, the obese group had more people with hypertension than overweight and more individuals with heart diseases than eutrophic ones. About the group with COVID-19, 38 were eutrophic, 51 were overweight and 34 were obese, with no significant difference between sex, or comorbidities, but the eutrophic were younger than individuals with overweight or obesity.

Assessment of hospitalization according to nutritional status

In all, among the people with COVID-19 classified as eutrophic, only two hospitalized, both males, while in the overweight group there were 8 hospitalizations, in which six were men and two women and, in the group of obese individuals there were 14 hospitalizations, six men and eight women. There was no significant difference in the interaction according to gender between the groups. However, considering nutritional status, obesity was positively associated with hospitalization for COVID-19 when compared to people with eutrophy ($p=0.0047$) or overweight ($p=0.0469$). There was no significant difference between the eutrophic and overweight groups (**Figure 3**).

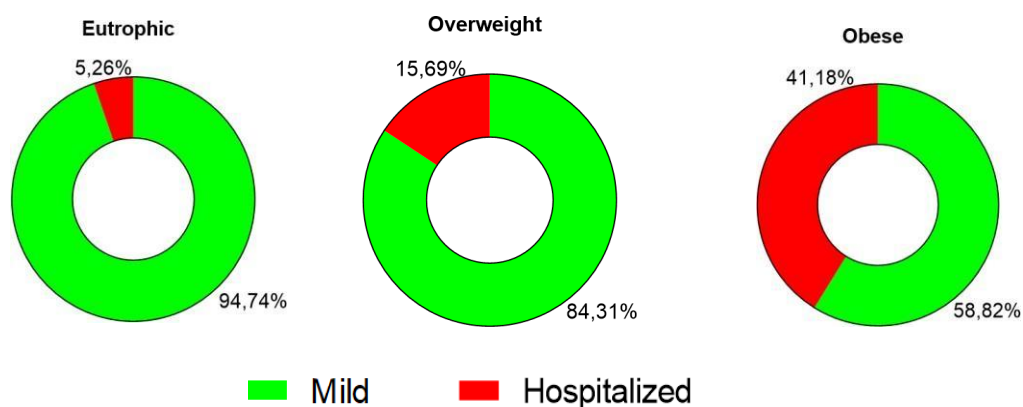


Figure 3: Percentage of individuals hospitalized with COVID-19 according to nutritional status. Nutritional status was assessed by measuring the body mass index (BMI). Overweight individuals are those with BMI >25 and < 24.9 and obese those with BMI > 30 . A greater number of obese individuals required hospitalization when compared to eutrophic or overweight individuals. Comparison between groups was performed using the chi-square test.

Analysis of viral load according to nutritional status

There was no difference in the concentration of nasopharyngeal swabs viral load of SARS-CoV-2 according to BMI (**Figure 4**).

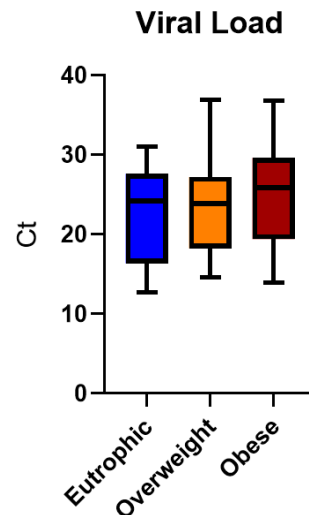


Figure 4: SARS-CoV-2 viral load in individuals with COVID-19 stratified according to BMI. The viral load was calculated from the rt-PCR tests performed on the individuals' nasal swabs. There was no difference between viral load according to nutritional status classification. Ct = number of replication cycles of viral genetics for the identification of SARS-CoV-2. Comparison between groups was performed using the Kruskal-Wallis test for three groups followed by the post-hoc Dunn's test in order to identify the sources of significant differences. In the graph, the bottom line of each box represents the minimum value and the top line the maximum value, the lines of the box itself represent the value of Q1, Q2 and Q3

Relationship between cytokine profile according to clinical classification and BMI

The concentration of biomarkers IL-2, TNF and IL-6 and IL-5 were higher in the obesity and COVID-19 groups compared to their eutrophic and overweight peers (for IL-2 $p=0.0200$ and $p=0.0007$ and for TNF- α $p=0.0042$ and $p=0.0052$ respectively, and for IL-6 $p=0.0031$ and $p=0.0181$, respectively, for IL-5 $p=0.0144$ and 0.0079 , respectively, and, il-10 $p=0.0031$ and $p=0.0143$). The analysis of TNF- α also demonstrated to be higher in obese patients with COVID-19 when compared to obese individuals with FS ($p=0.0001$).

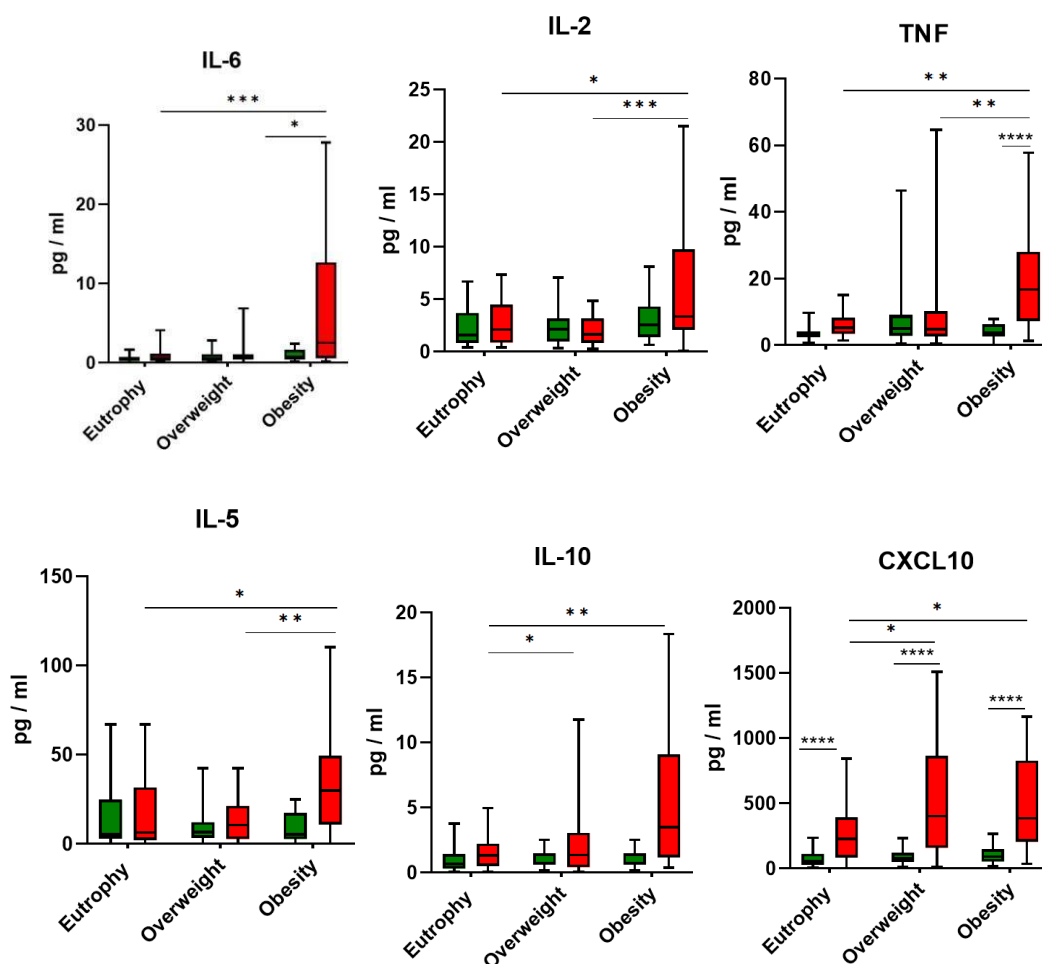
IL-10 and chemokines CXCL10 and CCL2 had the highest concentrations in the groups with obesity and overweight and COVID-19 compared to the eutrophic group with COVID-19 (for IL-10 $p=0.0031$ and $p=0.0143$, respectively, for CXCL10 $p=0.0299$ and $p=0.0318$ respectively, and for CCL2 $p=0.004$ and $p=0.0082$ respectively). The INF- γ was higher in individuals with FS and obesity (for INF- γ $p=0.0081$ and $p=0.0216$, respectively). Still in relation to CXCL10 its concentration was higher in COVID-19 compared to FS for all BMI classifications, with $p<0.0001$.

On chemokine CCL2 was higher in people with COVID-19 and overweight and obesity compared to individuals with the same nutritional status, but with FS (being $p<0.0001$ for overweight and $p=0.0007$ for obesity).

The INF- γ was higher in overweight and obese people with FS compared to the eutrophic group ($p=0.0372$ and $p<0.0001$, respectively). This cytokine was also higher in the group with COVID-19 compared to the FS group in eutrophic ($p=0.0016$) and overweight ($p=0.0003$) people, this difference was not observed in the obese group.

Regarding IL-1ra, it was higher in the group with obesity and COVID-19 compared to the eutrophic group with the same infection ($p=0.0031$), but this also occurred in the group group with FS ($p=0.0049$).

Ferritin was higher in overweight individuals and COVID-19 compared to eutrophic individuals ($p=0.0003$ when evaluated between eutrophic and overweight and $p=0.0007$ for analysis between eutrophic and obese individuals), and among overweight individuals, those who had SARS-CoV-2 infection were also higher than in the group with FS in the same nutritional status ($p=0.0014$). Regarding CRP, it was verified that obese individuals have a higher concentration of this protein compared to the eutrophic group with COVID-19 ($p<0.0001$) the value was also significantly different among overweight people compared to those eutrophic in the covid-19 group ($p=0.0014$). The graphs of these cytokines can be visualized in **Figure 5**.



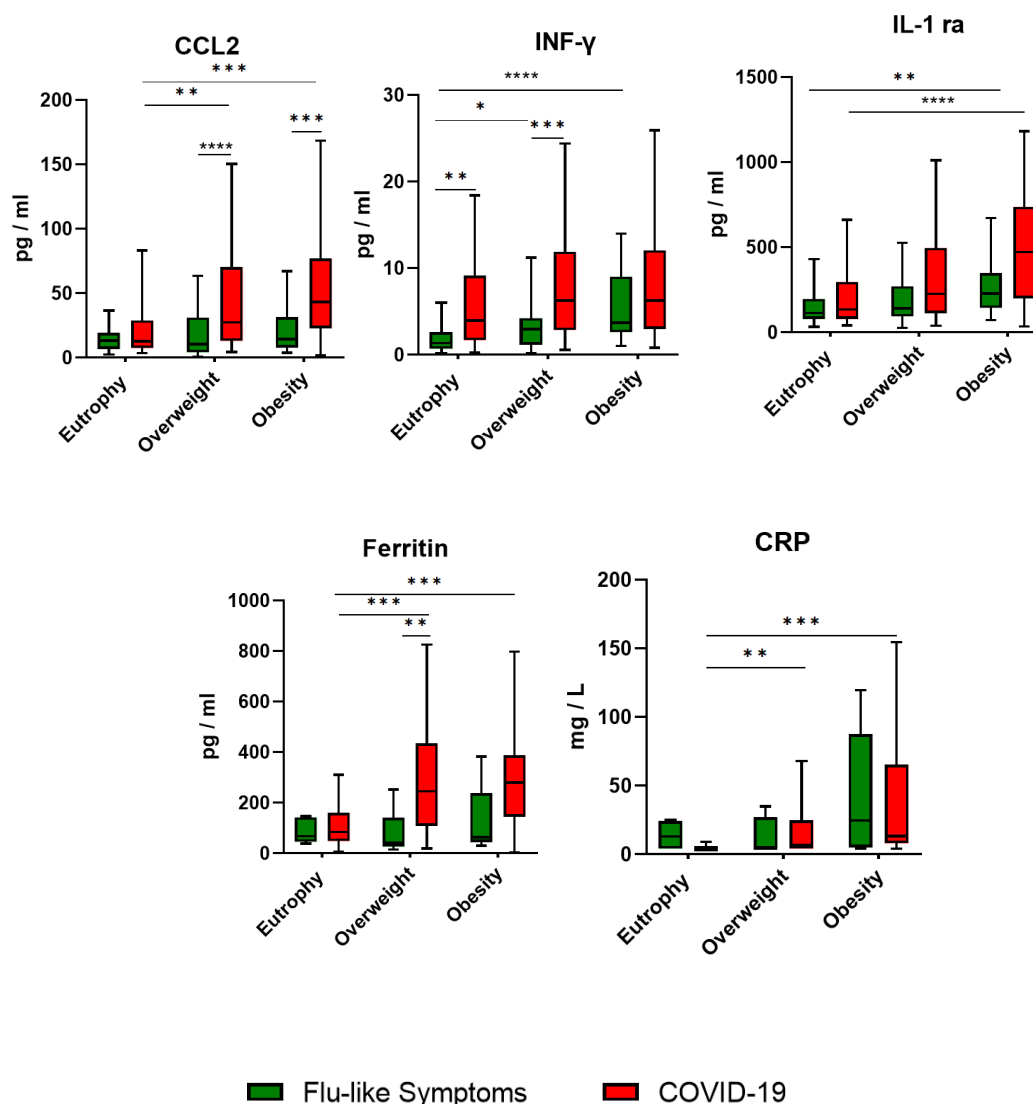


Figure 5: Plasma concentrations of IL-2, TNF, IL-6, IL-5, IL-10, INF-gamma, CXCL10, CCL2, IL-1ra biomarkers according to nutritional status and clinical classification. Asterisks in the figures are represented by: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$ **** = $p < 0.0001$. In the graph, the bottom line of each box represents the minimum value and the top line the maximum value, the lines of the box itself represent the value of Q1, Q2 and Q3.

Biomarkers in the context of COVID-19 according to severity and nutritional status

When the inflammatory profile considering severity was evaluated, it can be noticed that overweight individuals had the concentration of chemokine CCL2 was higher compared to people with eutrophy ($p=0.0109$ for overweight and $p=0.0133$ for obese individuals), in the group with the mild form of the disease, The same was observed in relation to CRP ($p=0.0038$ for overweight and $p=0.0011$ for obese). On ferritin, the overweight group presented lower concentrations compared to obese individuals ($p=0.0028$) with no difference for eutrophic ones. IL-2 was higher in those who have obesity and COVID-19 in mild form compared to overweight with the mild form of the disease ($p=0.0447$), the same was verified

with the biomarker GM-CSF ($p=0.0025$). Eotaxin was lower in eutrophic scans compared to overweight ($p=0.0146$) with no difference between obese people. On IL-6, obese people who require interaction by COVID-19 have a higher concentration than individuals with COVID-19 in the mild form ($p=0.0014$). They can be viewed in **Figure 6**.

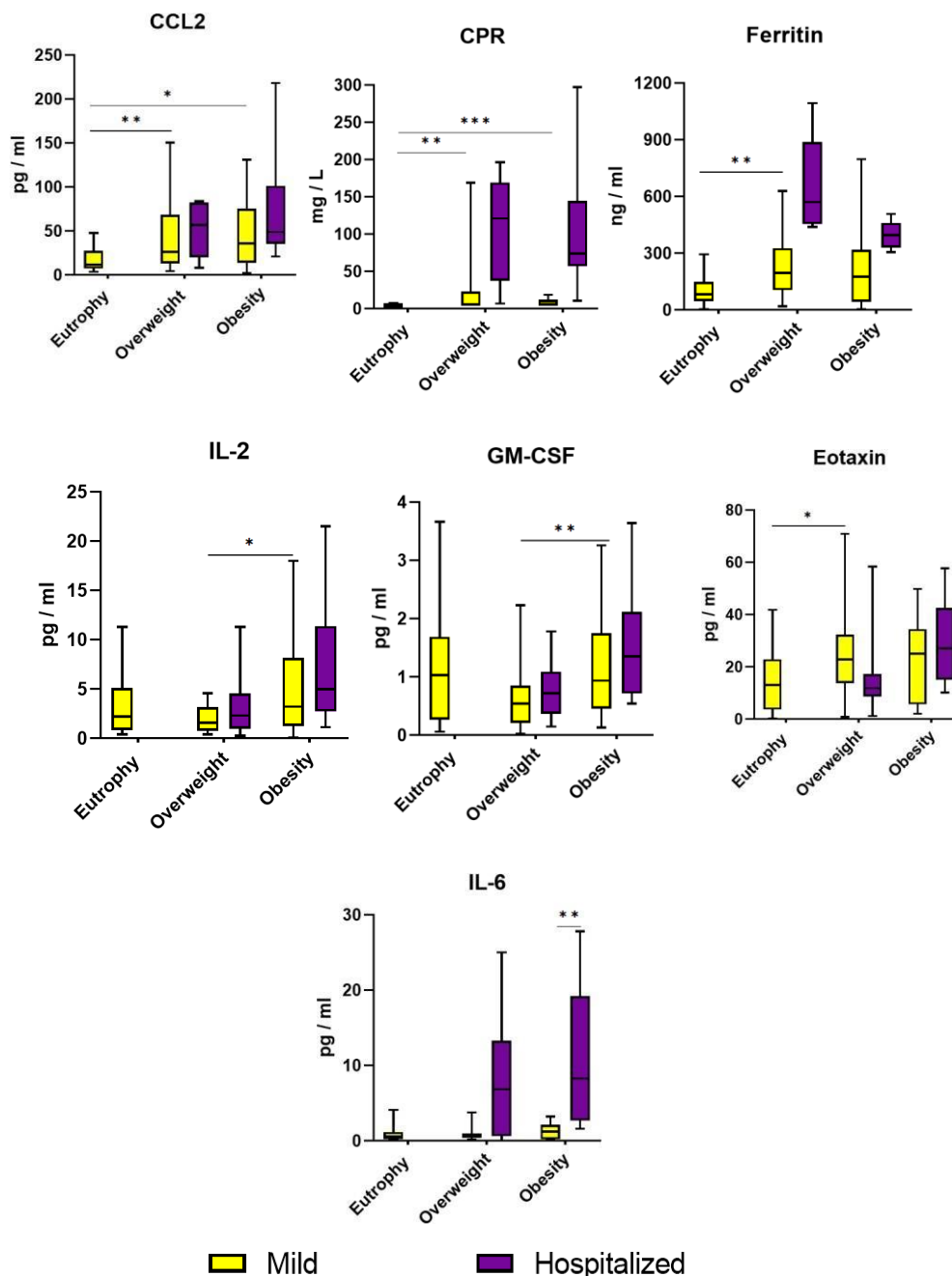


Figure 6: Plasma concentrations of IL-2, IL-6, IL-10, CCL2 and eotaxin biomarkers according to the severity of COVID-19 and according to nutritional status. In the group with the mild form of COVID-19, overweight individuals had higher concentrations of CCL2 and CRP than eutrophic people also with the mild form. Regarding ferritin, this protein was higher in the overweight and light form group than in the eutrophic group. The obese group had higher concentrations of IL-2, GM-CSF and eotaxin than the overweight group, both with the mild form of the disease. Furthermore, the concentration of IL-6 was higher in the group with obesity that required hospitalization compared to those with obesity and the mild form of the disease. Comparison between groups was carried out using the Kruskal-Wallis test for three groups followed by the post-hoc Dunn's test in order to identify the sources of significant differences. * P

< 0.05 , ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. In the graph, the bottom line of each box represents the minimum value and the top line the maximum value, the lines of the box itself represent the value of Q1, Q2 and Q3.

Furthermore, the radar graphs (Figure 7) illustrate the overall profile of cytokines/chemokines of the analyzed groups. It was observed that in the obese group they have higher producers for most of the biomarkers analyzed in both groups (FS and COVID-19). Still, in the FS group, there is a decrease in high IL-10 producers as BMI rises. This is not observed in groups with COVID-19. Still on people infected with SARS-CoV-2, in the obese group at least 50% of the individuals were high producers for all biomarkers analyzed.

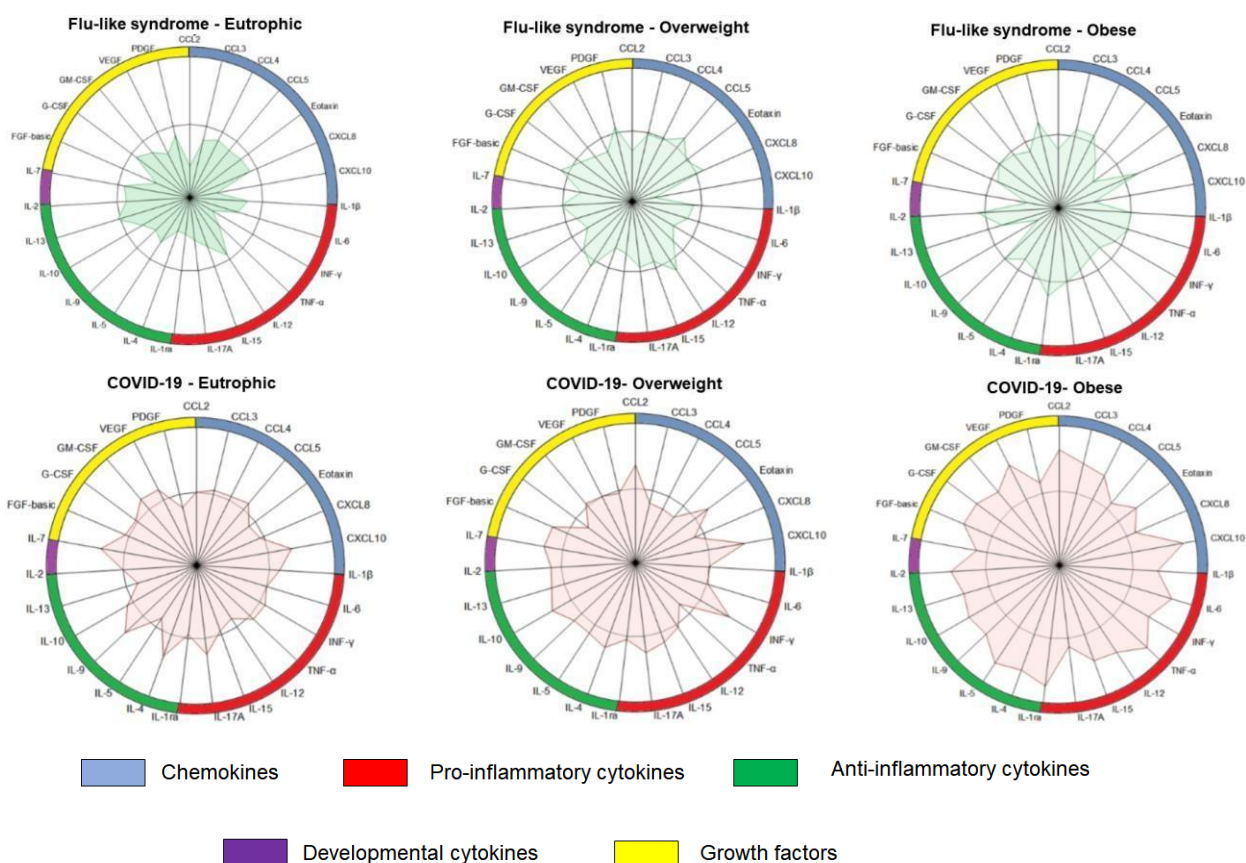
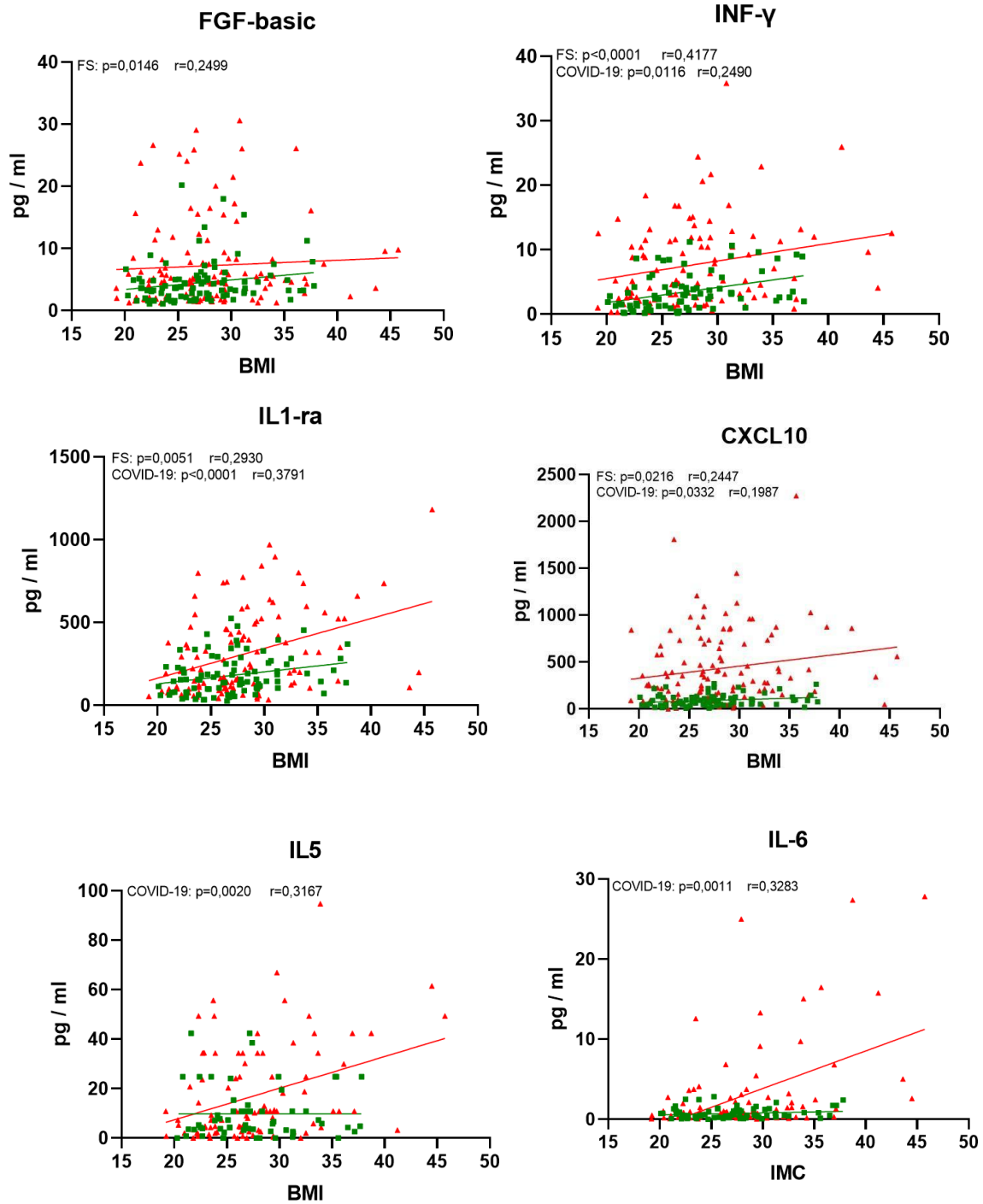


Figure 7: Analysis of the overall profile of cytokines and chemokines

Evaluation of the correlation of biomarkers with BMI

Spearman's test for each cytokine showed that there was a positive correlation in the FS group between BMI and FGF-basic biomarkers, INF- γ , IL-1ra and CXCL10, while in the group with COVID-19 there was a positive correlation between BMI and INF- γ , IL-1ra, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, CXCL10, CCL2 and TNF, PCR and ferritin. These charts can be checked

in **Figure 8**. The other biomarkers analyzed were not correlated with BMI in the included groups.



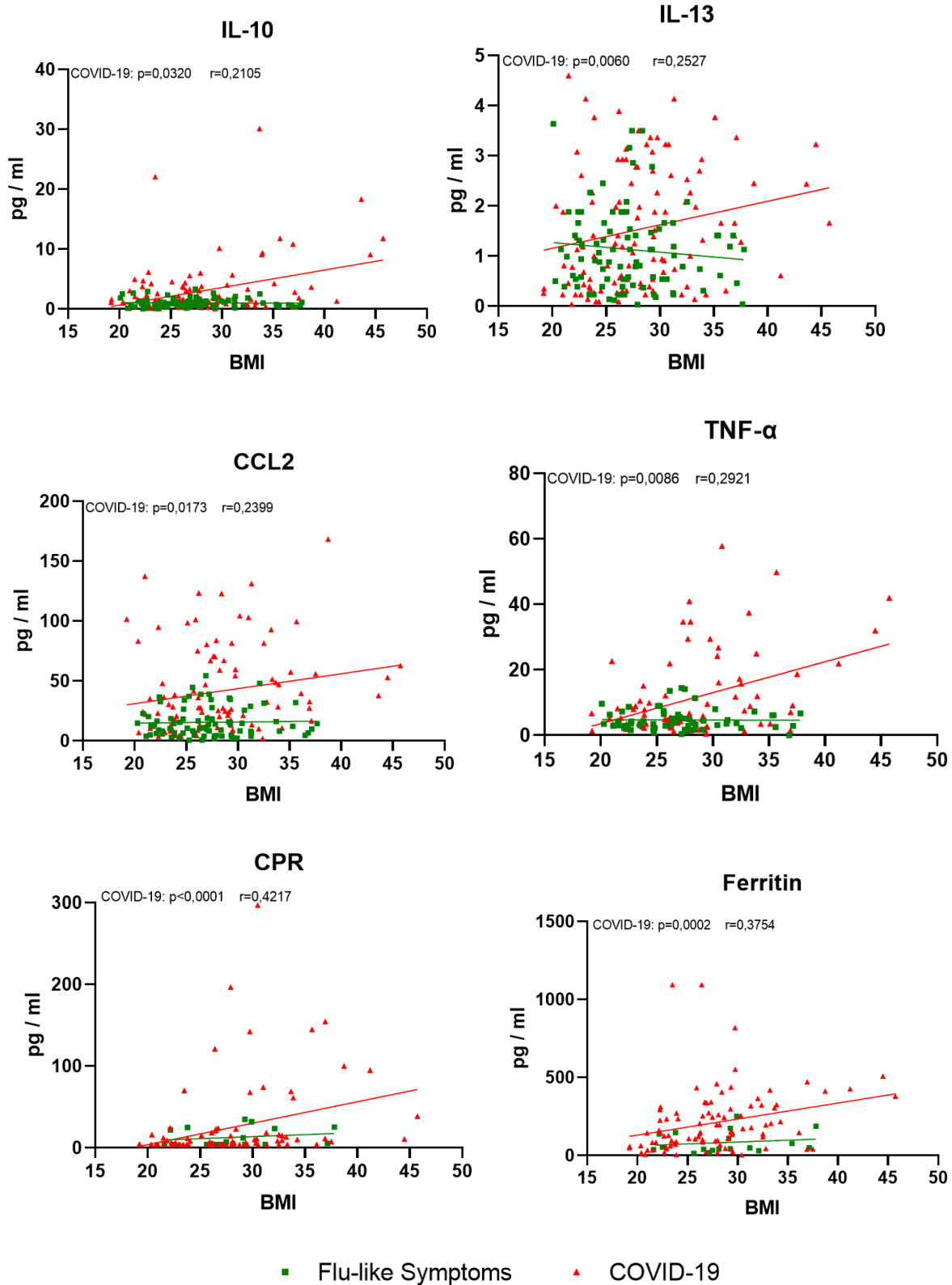


Figure 8 : Correlation between biomarkers and BMI according to clinical classification. There was a positive correlation between BMI and the biomarkers analyzed in the SG group for FGF-basic, INF- γ and the IL-1ra, while in the group with COVID-19 this correlation occurred for INF- γ , IL-1ra, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, CXCL10, CCL2 and TNF, CRP and ferritin. Comparison between groups was performed using Sperman's correlation, with differences considered * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

In the analysis of multiple correlations, the graph allows us to observe that groups with COVID-19 (Figure 9) have a higher correlation between biomarkers than the group with FS (Figure 10). A slight correlation was also observed in the overweight groups compared to the covid-19 groups

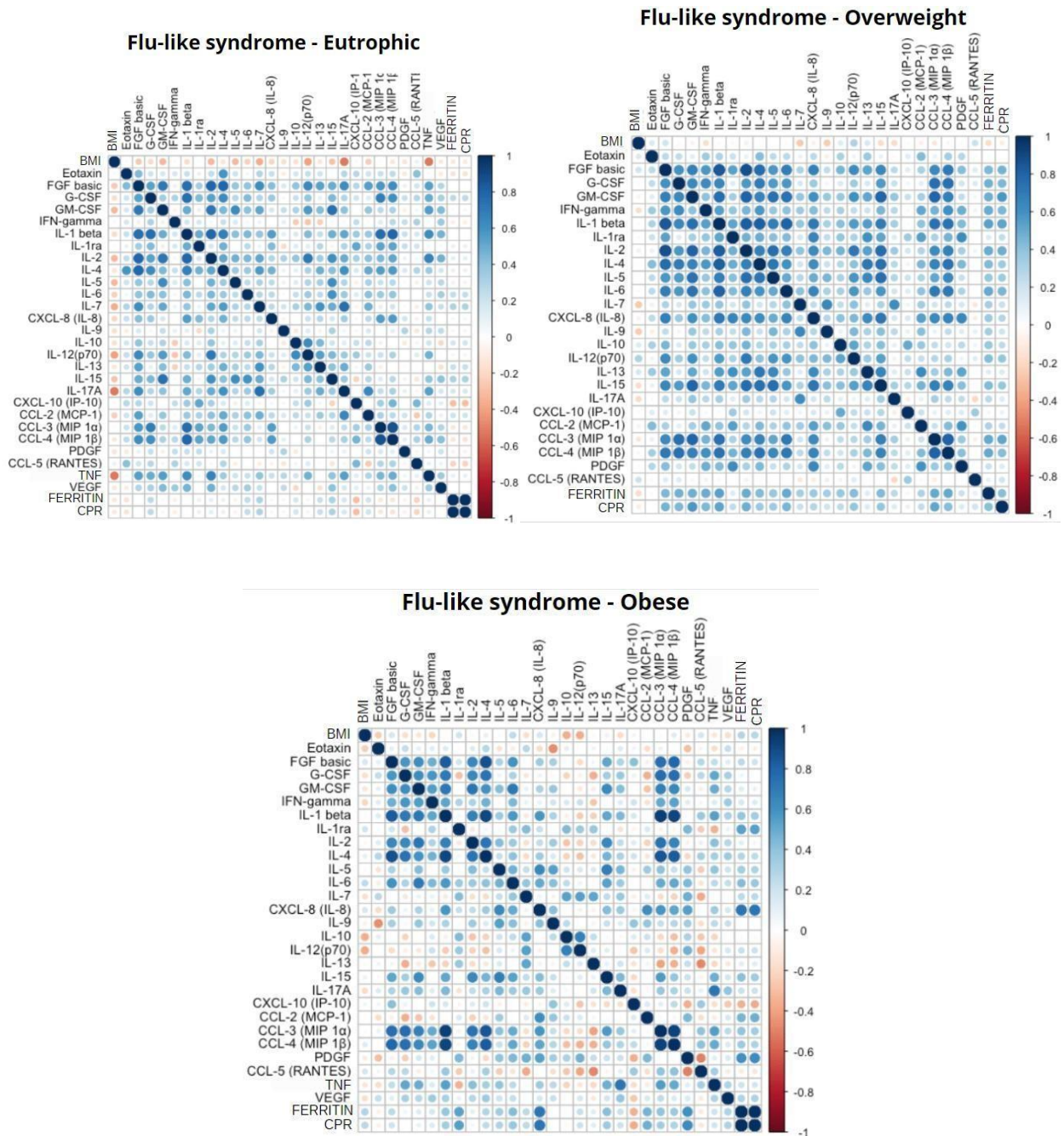


Figure 9: Correlation of the 27 markers in the group with OS, according to nutritional status. Plasma biomarkers were measured using the Luminex platform with the Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27 kit, acute phase proteins were measured in serum using chemiluminescence. The overweight and GS group showed higher correlations between inflammatory biomarkers compared to eutrophic and overweight

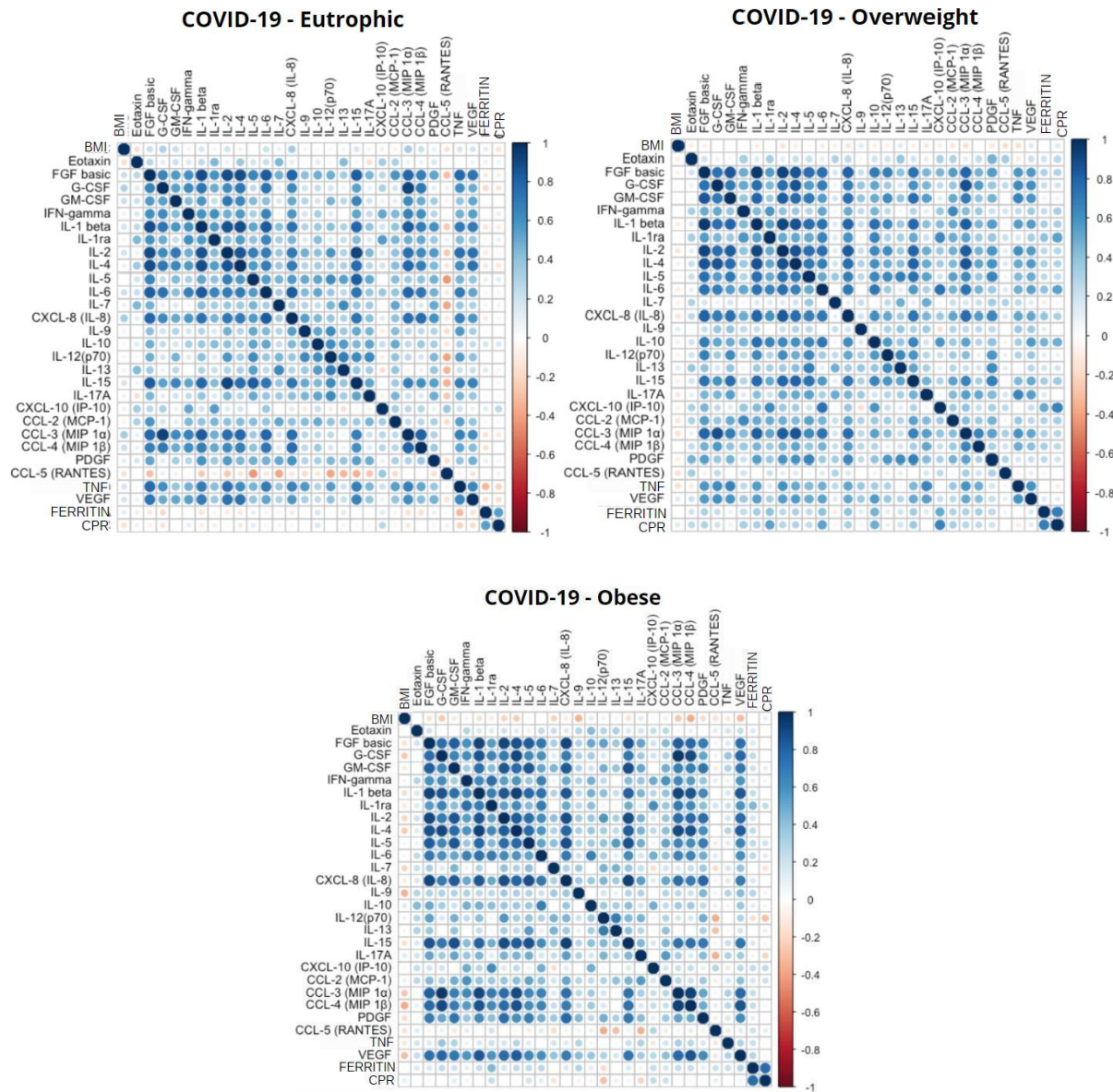


Figure 10: Correlation of the 27 markers in the group with COVID-19, according to nutritional status. Plasma biomarkers were measured using the Luminex platform with the Bio-Plex Pro™ Human Cytokines 27 kit, acute phase proteins were measured in serum using chemiluminescence. Correlations between biomarkers get stronger as BMI increases.

Discussion

Previous inflammation faced by people with obesity due to immunological dysfunction of adipose tissue worsens the host defense response to infections (Shirakawa et al., 2021). In fact, in other previous respiratory infections, overweight had already been pointed out as a risk factor for a worse prognosis (Maurya et al., 2021; Morgan et al., 2010; Yu et al., 2020; Moser et al., 2019).

In the H1N1 influenza virus infection, it is observed that overweight individuals have an impairment in the function of CD8⁺ T cells, even though the number of cells remains the

same, when compared to eutrophic people, thus, it seems that the role of immune defense via cytotoxicity is lower in overweight and obese people (Drożdżyńska et al., 2022). This is due to a decrease in CD69 markers (regulates INF- γ expression and lymphocyte activation and proliferation), CD40 (important for B cell activation and immunoglobulin class switching) CD28 (related to T lymphocyte response and cytokine release) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) (Paich et al., 2013). Furthermore, CD8⁺ T cells limit the spread and severity of influenza infection by inducing apoptosis in influenza-infected cells, thus in overweight and obesity control of the spread of obesity also appears to be impaired. In addition, *in vivo* studies have shown that in obesity there is a reduction in Treg cell function during H1N1 infection (Milner et al., 2009). Thus, it is possible to infer that in the infection by SARS-CoV-2, another intracellular flu virus, that there is impairment in the functions of PBMCs in overweight and obese people and that this fact is related to greater severity of the disease.

In the context of COVID-19, since the first months of the disease, several authors have reported that obesity and comorbidities associated with it are a risk factor (STEFAN et al., 2021). At the same time that viral load was not related to greater severity (Silva et al., 2021), as demonstrated in this study, obese individuals require more hospitalization by COVID-19 than eutrophic and obese, although the viral load does not distinguish between them.

On the other hand, the inflammatory response to obese SARS-CoV-2 has important particularities since the first days of symptom that can help and understand the physiopathogenesis in COVID-19 according to nutritional status. It is characterized by elevations of IL-6, IL-2, TNF- α and IL-5 in obese patients compared to overweight and eutrophic. And increase of IL-10, CXCL10, CCL2 and acute phase proteins in people with COVID-19 overweight compared to eutrophic ones with the same infection. There is a correlation between BMI and biomarkers INF- γ , IL-1ra, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, CXCL10, CCL2 and TNF, PCR and ferritin. These results can help to better understand the defense response of obese individuals, including other studies that show that uncontrolled inflammation causes the severe form of the disease (Yuki et al. 2020; Larsen et al., 2020; HEWITT et al., 2021).

Furthermore, the increase in IL-6, TNF and CCL2 that are high during obesity and in the context of COVID-19 were associated with hospitalization (Ellulu et al., 2017; Zatterale et al., 2020; Del Valle et al., 2020; Pons et al., 2021). Among the actions of these biomarkers

that may influence the outcome in question is the style of amplification of inflammation mediated by TNF- α and IL-6, as well as chemotaxis of macrophages and formation of atherosclerosis by CCL-2 (BRADLEY et al., 2008; DESHMANE et al., 2009).

In addition, the elevation of IL-2 increases the lymphocyte response by stimulating the differentiation of TCD4+ and TCD8+, suggesting that obese people have a higher cell population (Shi et al., 2020). Despite the elevation of IL-5 observed in obese individuals suggests greater stimulation to the proliferation and degranulation of eosinophils (AKDIS et al., 2011).

The increase in CXCL10 observed in all subgroups with COVID-19 compared to their respective BMI pairs, but with FS, shows the importance of this chemokine in the RESPONSE of COVID-19. Since this chemokine was also previously associated with hospitalization, lung damage and amplification of the TH1 response, and the increase of chemokine in overweight individuals compared to eutrophic individuals suggest that increased adiposity is correlated with the TH1 response in COVID-19 (Lorè et al., 2021; Oliviero et al., 2021). However, the increase in IL-10 seems to be an attempt to inhibit this TH1 response in the first days of symptoms (Islam, 2021).

Thus, we observed in this study that the increase in adiposity causes differences in the inflammatory response in COVID-19 and may potentiate the worsening of prognosis regarding the need for hospitalization

It is noteworthy that this study has some limitations: Absence of a control group without flu-like symptoms, the mean age of the obese group and COVID-19 was higher than in the groups with eutrophy and overweight also infected by SARS-CoV-2 and the cut-off time for collection was according to the volunteer's own report. Nevertheless, this is an important work for the evaluation of several biomarkers according to nutritional status in the context of COVID-19, being the first of its kind performed in the Brazilian population, and the collection was carried out in different cities.

Conclusion

People with obesity infected with SARS-CoV-2 have a more expressive inflammatory process than eutrophic individuals with the same infection, which was associated with a

higher disease severity of the disease measured by the need for hospitalization in 3 different cities of Brazil.

Acknowledgments: This work was supported by grants from Merck Sharp & Dohme (MSD), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES). Some of the authors are recipients of scholarship from CAPES (L.H.V., G.C.C.) and fellowships from CNPq (T.U.M., A.M.C.F.).

Reference

1. Lam TTY, Shum MHH, Zhu HC, Tong YG, Ni XB, Liao YS, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 2020. Jul;583(7815):282-285.
2. World Health Organization [homepage na internet]. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. [acesso em 27 maio 2021]. Disponível em : <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions>
3. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 5, 536–544 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
4. Zheng J, Wong LR, Li K, Verma AK, Ortiz ME, Wohlford-Lenane C, et al. COVID-19 treatments and pathogenesis including anosmia in K18-hACE2 mice. *Nature*. 2021 Jan;589(7843):603-607.
5. Kim JY, Ko JH, Kim Y, Kim YJ, Kim JM, Chung YS, et al. Viral Load Kinetics of SARS-CoV-2 Infection in First Two Patients in Korea. *Journal of Korean Medical Science*. 2020 Feb 24;35(7):e86.
6. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020 Apr;20(4):411-412.
7. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Annals of Internal Medicine*. 2020 May 5;172(9):577-582.
8. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 2020 Mar 26;382(13):1199-1207.

9. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology*. 2020 Jun;215:108427.
10. Hewitt, RJ, Lloyd CM. Regulation of immune responses by the airway epithelial cell landscape. *Nature Reviews Immunology*. 2021; 21, 347–362.
11. Larsen JR, Martin MR, Martin JD, Kuhn P, Hicks JB. Modeling the Onset of Symptoms of COVID-19. *Frontiers in Public Health*. 2020 Aug 13;8:473.
12. Maucourant C, Filipovic I, Ponzetta A, Aleman S, Cornillet M, Hertwig L, et al. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Science Immunology*. 2020 Aug 21; 5(50):eabd6832.
13. Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, Toller-Kawahisa JE, de Lima M, Nascimento DC, et al. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *Journal of Experimental Medicine*. 2020 Dec 7; 217(12):e20201129.
14. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurology*. 2020 Jun 1;77(6):683-690.
15. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, Pollak TA, McGuire P, Fusar-Poli P, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry*. 2020 Jul;7(7):611-627.
16. Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2020 Sep;15(3):359-386.
17. Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB. Global pandemics interconnected - obesity, impaired metabolic health and COVID-19. *Nature Reviews Endocrinology*. 2021 Mar;17(3):135-149.
18. Brennan E, Kantharidis P, Cooper ME, Godson C. Pro-resolving lipid mediators: regulators of inflammation, metabolism and kidney function. *Nat Rev Nephrol*. 2021 Nov;17(11):725-739.
19. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2020 Feb 25;7:22.
20. Schipper HS, Prakken B, Kalkhoven E, Boes M. Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2012 Aug;23(8):407-15.
21. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *PLoS One*. 2015 Mar 17;10(3):e0121971.
22. Mauriello CT, Hair PSR, Rohn RD, Rister NS, Krishna NK, Cunnion KM. Hyperglycemia Inhibits Complement-Mediated Immunological Control of *S. aureus* in a Rat Model of Peritonitis. *Journal of Diabetes Research*; 2014: 762051.

23. Jin X, Yao T, Zhou Z, Zhu J, Zhang S, Hu W, Shen C. Advanced Glycation End Products Enhance Macrophages Polarization into M1 Phenotype through Activating RAGE/NF- κ B Pathway. *BioMed Research International*; 2015:732450.
24. Gallo G, Calvez V, Savoia C. Hypertension and COVID-19: Current Evidence and Perspectives. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*. 2022 Mar;29(2):115-123.
25. Zhao R, Su Z, Komissarov AA, Liu SL, Yi G, Idell S, Matthay MA, Ji HL. Associations of D-Dimer on Admission and Clinical Features of COVID-19 Patients: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression. *Frontiers in Immunology*. 2021 May 7;12:691249.
26. Pecly IMD, Azevedo RB, Muxfeldt ES, Botelho BG, Albuquerque GG, Diniz PHP, Silva R, Rodrigues CIS. COVID-19 and chronic kidney disease: a comprehensive review. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2021 Jul-Sep;43(3):383-399.
27. Salome CM, King GG, Berend N. Physiology of obesity and effects on lung function. *Journal of Applied Physiology*. 2010 Jan;108(1):206-11.
28. Souza C. A. César C. L. G. Barros M, B, A. Carandina L. Goldbaum M. Pereira J. C. R. Respiratory diseases and associated factors: population-based study in São Paulo, 2008-2009. *Public Health Journal*. 2012;46(1):16-25
29. Dragon-Durey MA, Chen X, Kirilovsky A, Ben Hamouda N, El Sissy C, Russick J, et al. Differential association between inflammatory cytokines and multiorgan dysfunction in COVID-19 patients with obesity. *PLoS One*. 2021 May 26;16(5):e0252026.
30. Shirakawa K, Sano M. T Cell Immunosenescence in Aging, Obesity, and Cardiovascular Disease. *Cells*. 2021 Sep 15;10(9):2435.
31. Maurya R, Sebastian P, Namdeo M, Devender M, Gertler A. COVID-19 Severity in Obesity: Leptin and Inflammatory Cytokine Interplay in the Link Between High Morbidity and Mortality. *Frontiers in Immunology*. 2021 Jun 18;12:649359.
32. Morgan OW, Bramley A, Fowlkes A, Freedman DS, Taylor TH, Gargiullo P, et al. Morbid obesity as a risk factor for hospitalization and death due to 2009 pandemic influenza A(H1N1) disease. *PLoS One*. 2010 Mar 15;5(3):e9694.
33. Yu W, Rohli KE, Yang S, Jia P. Impact of obesity on COVID-19 patients. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2021 Mar;35(3):107817.
34. Moser JS, Galindo-Fraga A, Ortiz-Hernández AA, Gu W, Hunsberger S, Galán-Herrera JF, et al. Underweight, overweight, and obesity as independent risk factors for hospitalization in adults and children from influenza and other respiratory viruses. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2019 Jan;13(1):3-9.
35. Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*. 2017 Jun;13(4):851-863.
36. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, Beguinot F. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Physiol*. 2020 Jan 29;10:1607.

37. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*. 2020 Oct;26(10):1636-1643.
38. Pons MJ, Ymaña B, Mayanga-Herrera A, Sáenz Y, Alvarez-Erviti L, Tapia-Rojas S, et al. Cytokine Profiles Associated With Worse Prognosis in a Hospitalized Peruvian COVID-19 Cohort. *Frontiers in Immunology*. 2021 Sep 1;12:700921.
39. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology*. 2008; 214 (2) 149–160.
40. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 2009 Jun;29(6):313-26.
41. Shi H, Wang W, Yin J, Ouyang Y, Pang L, Feng Y. The inhibition of IL-2/IL-2R gives rise to CD8+ T cell and lymphocyte decrease through JAK1-STAT5 in critical patients with COVID-19 pneumonia. *Cell Death & Disease*. 2020 Jun 8;11(6):429.
42. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011 Mar;127(3):701-21.e1-70.
43. Lorè NI, De Lorenzo R, Rancoita PMV, Cugnata F, Agresti A, Benedetti F, et al., CXCL10 levels at hospital admission predict COVID-19 outcome: hierarchical assessment of 53 putative inflammatory biomarkers in an observational study. *Molecular Medicine*. 2021 Oct 18;27(1):129.
44. Oliviero A, de Castro F, Coperchini F, Chiovato L, Rotondi M. COVID-19 Pulmonary and Olfactory Dysfunctions: Is the Chemokine CXCL10 the Common Denominator? *Neuroscientist*. 2021 Jun;27(3):214-221.
45. Islam H, Chamberlain TC, Mui AL, Little JP. Elevated Interleukin-10 Levels in COVID-19: Potentiation of Pro-Inflammatory Responses or Impaired Anti-Inflammatory Action? *Frontiers in Immunology*. 2021 Jun 21;12:677008.
46. Drożdżyńska J, Jakubowska W, Kemuś M, Krokowska M, Karpezo K, Wiśniewska M, et al., SARS-CoV-2 and Influenza Vaccines in People with Excessive Body Mass- A Narrative Review. *Life (Basel)*. 2022 Oct 17;12(10):1617.
47. Paich HA, Sheridan PA, Handy J, Karlsson EA, Schultz-Cherry S, Hudgens MG, et al. Overweight and obese adult humans have a defective cellular immune response to pandemic H1N1 influenza A virus. *Obesity (Silver Spring)*. 2013 Nov;21(11):2377-86.
48. Milner JJ, Sheridan PA, Karlsson EA, Schultz-Cherry S, Shi Q, Beck MA. Diet-induced obese mice exhibit altered heterologous immunity during a secondary 2009 pandemic H1N1 infection. *J Immunol*. 2013 Sep 1;191(5):2474-85.