

UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS – UniEVANGÉLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MOVIMENTO HUMANO E REABILITAÇÃO
PPGMHR

PERFIL INFLAMATÓRIO EM TECIDO PULMONAR OBTIDO DE PACIENTES
QUE EVOLUIRAM PARA ÓBITO POR COVID-19

Marcos Mota Silva

Anápolis, GO
2024

UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS – UniEVANGÉLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MOVIMENTO HUMANO E REABILITAÇÃO
PPGMHR

PERFIL INFLAMATÓRIO EM TECIDO PULMONAR OBTIDO DE PACIENTES
QUE EVOLUIRAM PARA ÓBITO POR COVID-19

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Movimento Humano e Reabilitação da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Luís Vicente Franco de Oliveira

Anápolis, GO
2024

S586

Silva, Marcos Mota.

Perfil inflamatório em tecido pulmonar obtido de pacientes que evoluíram para óbito por COVID-19. / Marcos Mota Silva - Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás, 2026.

62 p.; il.

Orientador: Prof. Dr. Luís Vicente Franco de Oliveira

Tese (Doutorado) – Programa de Pós graduação em Movimento Humano e Reabilitação – Universidade Evangélica de Goiás, 2026.

1. COVID-19 2. Insuficiência respiratória 3. Imuno-histoquímico 4. Matriz extracelular 5. Biopsia minimamente invasiva I. Oliveira, Luís Vicente Franco de. II. Título

CDU 615.8

Catálogo na Fonte

Elaborado por Hellen Lisboa de Souza CRB1/1570



FOLHA DE APROVAÇÃO
PERFIL INFLAMATÓRIO EM TECIDO PULMONAR OBTIDO DE PACIENTES QUE
EVOLUIRAM PARA ÓBITO POR COVID-19
MARCOS MOTA DA SILVA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Movimento Humano e Reabilitação - PPGMHR da Universidade Evangélica de Goiás - UNEVANGÉLICA como requisito parcial à obtenção do grau de DOUTOR.

Linha de Pesquisa: Avaliação, Prevenção e Intervenção Terapêutica no Sistema Cardiorespiratório (APIT)

Aprovado em 30 de dezembro de 2024.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 LUIS VICENTE FRANCO DE OLIVEIRA
Data: 2024.12.30 15:02:39 -0300
Verifique em: <https://validar.dig.br/>

Prof. Dr. Luis Vicente Franco de Oliveira

Documento assinado digitalmente
 RODOLFO DE PAULA VIEIRA
Data: 2024.12.30 15:03:43 -0300
Verifique em: <https://validar.dig.br/>

Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira

Documento assinado digitalmente
 VINÍCIUS ZACARIAS MALDANER DA SILVA
Data: 2024.12.30 15:05:29 -0300
Verifique em: <https://validar.dig.br/>

Prof. Dr. Vinícius Zacarias Maldaner da Silva

Documento assinado digitalmente
 ANDRÉ LUIS LACERDA BACHI
Data: 2024.12.30 15:22:39 -0300
Verifique em: <https://validar.dig.br/>

Prof. Dr. André Luis Lacerda Bachi

Documento assinado digitalmente
 RODRIGO ANTONIO CARVALHO ANDRAUS
Data: 2024.12.30 15:23:12 -0300
Verifique em: <https://validar.dig.br/>

Prof. Dr. Rodrigo Antonio Carvalho Andraus

Agradecimentos

Ao completar esta etapa significativa da minha jornada acadêmica, é com profundo sentimento de gratidão que dedico este trabalho àqueles que, de diversas maneiras, contribuíram para a realização desta tese de doutorado.

Primeiramente, agradeço a Deus, fonte de força, inspiração e resiliência em todos os momentos. Sua presença guiou cada passo deste percurso e me sustentou nas horas mais desafiadoras.

À minha esposa, cuja paciência, compreensão e amor incondicional foram fundamentais para que eu pudesse me dedicar às demandas deste trabalho. Sua presença ao meu lado me deu forças para seguir em frente, mesmo nos dias mais difíceis.

Aos meus filhos que, com seus sorrisos e carinho, iluminaram os dias mais longos e me lembraram da importância do amor e da família. Vocês são minha maior motivação.

Aos meus pais, pela formação dos valores que carrego comigo, pelo apoio irrestrito em todas as fases da minha vida e pela confiança que sempre depositaram em mim. Vocês são meu alicerce.

Aos amigos, que, com suas palavras de encorajamento e momentos de descontração, trouxeram leveza e motivação para este percurso. Sua amizade é um presente inestimável.

Por fim, mas não menos importante, ao meu orientador, Professor Luís Vicente F. Oliveira. Sua orientação, paciência e dedicação foram essenciais para a qualidade deste trabalho. Sua experiência e conselhos foram um norte seguro para que eu pudesse superar os desafios acadêmicos e pessoais.

A todos vocês, meu mais sincero agradecimento. Esta conquista é, também, de cada um de vocês.

Àquele que é capaz de fazer infinitamente mais do que tudo o que pedimos ou pensamos, segundo o seu poder que atua em nós, a ele seja a glória!

Efésios 3:20

Sumário

1. Introdução	8
1.1 SARS-CoV-2 e suas manifestações clínicas	8
1.2 SARS-CoV-2 e sua interação com o sistema imunológico	11
2. Justificativa.....	13
2. Objetivos	15
2.1 <i>Objetivo geral</i>	15
2.2 <i>Objetivos específicos</i>	16
3. Material e métodos.....	16
3.1 <i>Desenho do estudo</i>	16
3.2 <i>Protocolo de segurança</i>	16
3.3 <i>Aspectos Éticos</i>	17
3.4 <i>Critérios de inclusão e exclusão</i>	18
3.5 <i>Autópsia Minimamente Invasiva</i>	18
3.6 <i>Necropsia de Pulmão</i>	19
3.6.1 <i>Deteção molecular do SARS-CoV-2</i>	20
3.6.2 <i>Citoquímica e Imunohistoquímica</i>	20
3.6.3 <i>Citoquímica</i>	21
3.6.4 <i>Imunohistoquímica</i>	22
4. Resultados	23
.....	30
5. Discussão.....	32
6. Considerações finais	50
7. Conclusão	53
Referências bibliográficas	54

Resumo

O ano de 2020 iniciou-se com a pandemia de infecção pelo coronavírus (SARS-CoV-2), que teve início na China no final do ano de 2019. No Brasil, o primeiro caso de COVID-19 foi identificado em 25 de fevereiro de 2020 e a primeira vítima fatal ocorreu em 17 de março de 2020. O SARS-CoV-2 é altamente contagioso e leva principalmente a uma infecção do sistema respiratório, sendo a pneumonia um dos principais achados. Os casos graves desenvolvem pneumonia grave e síndrome do desconforto respiratório agudo deixando graves sequelas nos pulmões, tais como a fibrose pulmonar, ou evoluem para a falência de múltiplos órgãos que leva à morte. Neste cenário, as autópsias de pacientes que vieram a óbito por COVID-19 possibilitam aos patologistas confirmar ou descartar a doença de maneira eficaz, além de determinar as condições correlatas. A coleta de amostras de tecidos após a morte é crucial para a execução de estudos in situ e moleculares, bem como para o estudo minucioso da fisiopatologia desta enfermidade. Contudo, a quantidade de autópsias documentadas até agora ainda é reduzida e a coleta de tecidos é geralmente restrita a determinados órgãos, principalmente pulmões, fígado e coração. A escassa na literatura sobre autópsias de pacientes acometidos por COVID-19 contrasta fortemente com o elevado número de óbitos, possivelmente por causa do perigo de contaminação. Adicionalmente, recomendam-se medidas de proteção para as autópsias de pacientes mortos por contaminação pelo COVID-19, restringindo-as a um número restrito de instituições. O objetivo deste estudo foi identificar através das técnicas de imuno-histoquímica o perfil inflamatório em tecidos pulmonares obtidos de pacientes que vieram a óbito, diagnosticados com COVID-19, através da técnica de biópsia minimamente invasiva. Trata-se de um estudo experimental que analisou o perfil imunohistoquímico de tecidos pulmonares de pacientes que vieram a óbito diagnosticados com COVID-19, realizado no Serviço de Vigilância de Óbitos (SVO) da Prefeitura Municipal de Anápolis (GO) e no Laboratório de Cultura de Células da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA. O estudo utilizou amostras de tecido pulmonar, extraído de pacientes que vieram a óbito decorrente da infecção por COVID-19, encaminhados ao SVO para necropsia e confirmação de causa mortis. O material de estudo foi necropsiado por médico perito e patologista responsável pelo SVO, através da técnica de necropsia minimamente invasiva. Em sequência, as amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Cultura de Células da UniEVANGÉLICA. Com a realização deste estudo foi possível identificar através das técnicas de imuno-histoquímica o perfil inflamatório em tecidos pulmonares obtidos de pacientes que vieram a óbito, diagnosticados com COVID-19 identificando extensas áreas de infiltrado inflamatório, com a formação de trombos nos vasos e grande presença de tecido com fibrinas. Também foi possível concluir que a biópsia minimamente invasiva é uma técnica, segura, rápida e eficaz para obtenção de amostras de tecidos em pacientes que apresentam alto risco de contaminação.

Palavras Chave: COVID-19; Insuficiência respiratória; Imuno-histoquímico; Matriz extracelular; biópsia minimamente invasiva.

Lista de figuras

Figura 1. Lâminas de tecido pulmonar com densa inflamação de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19	23
Figura 2. Lâminas de tecido pulmonar com espessamento intersticial de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19.....	24
Figura 3. 1 e 2: Lâminas de tecido pulmonar com processo inflamatório exuberante em parênquima pulmonar mostrando vasos trobosados em fase de organização com envolvimento em brônquio e acúmulo de bactérias em região alveolar de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19.....	25
Figura 4. Lâmina de tecido com abscesso pulmonar, dano alveolar difuso e pneumonia bacteriana secundária a infecção de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19.....	26
Figura 5. Lâmina de tecido com infiltrado inflamatorio em interstício pulmonar associado a trombo de fibrina e hemorragia em vasos pulmonares de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19.....	27
Figura 6. Lâmina de tecido pulmonar com fibrose difusa de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19.....	28
Figura 7. Lâmina de tecido pulmonar apresentando infiltrado inflamatório em interstício de pacientes vindo a óbito por COVID-19.....	29
Figura 8. Lâmina de tecido apresentando extensas áreas de fibrose pulmonar intersticial e edema pulmonar.de pacientes vindos a óbito por COVID-19.....	30
Figura 9. Lâmina de tecido pulmonar apresentando Presença de infiltrado inflamatorio intersticial e células do vício cardíaco de pacientes vindos a óbito por COVID-19.....	31

Lista de abreviaturas

ADC	Autópsia Diagnóstica Completa
AMI	Autópsia Minimamente Invasiva
AMI-US	Autópsia Minimamente Invasiva Baseada em Ultrassom
AVE	Acidente Vascular Encefálico
Bat-SLCoVZC45	Coronavírus Tipo Morcego SARS
CART	Receptor de Antígeno Quimérico de Células T
CO	Causa de Óbito
COVID-19	Coronavírus-19
DAD	Dano Alveolar Difuso
DSS	Dodecil Sulfato de Sódio
EP	Embolia Pulmonar
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FEV1	Volume Expiratório Forçado
GM-CSF	Granulócitos
HBPM	Heparina de Baixo Peso Molecular
IFN	Interferon
IL	Interleucinas
IRHA	Insuficiência Respiratória Aguda Hipoxêmica
MCP-1	Proteína Quimiotática de Monócitos 1
MEC	Matriz Extracelular
MERSrCoV	Middle East Respiratory Syndrome
PBS	Phosphate-buffered Saline
RT-PCR	Polimerase com Transcrição Reversa
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SVO	Seviço de Vigilância de Óbitos
TH	Linfócitos T Helper
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TR-Ag	Teste rápido Antígeno
TVP	Trombose Venosa Profunda
UTIs	Unidades de Terapia Intensiva

1. Introdução

O ano de 2020 iniciou-se com a disseminação da pandemia de infecção pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS) coronavírus 2 (SARS-CoV-2), a doença coronavírus 2019 (COVID-19), que teve início na China no final do ano de 2019^{1,2}. No Brasil, o primeiro caso de COVID-19 foi identificado em 25 de fevereiro de 2020 e a primeira vítima fatal ocorreu em 17 de março de 2020.³

1.1 SARS-CoV-2 e suas manifestações clínicas

A COVID-19, oficialmente denominada SARS-CoV-2, pertence ao gênero β , com envelope, de forma redonda ou elíptica e muitas vezes pleomórfica, com 60 a 140 nm em diâmetro. O vírus é geneticamente diferente dos vírus SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome-CoV) e MERSrCoV (Middle East Respiratory Syndrome). Os estudos atuais mostram que a homologia entre Covid-19 e coronavírus tipo morcego SARS (bat-SLCoVZC45) é superior a 85%. Quando cultivado in vitro, o COVID-19 pode ser encontrado nas células epiteliais respiratórias humanas após cerca de 96 horas, enquanto leva cerca de 6 dias para isolar e cultivar as linhagens celulares Vero E6 e Huh-7.

O conhecimento das características físicas e químicas do coronavírus é derivado principalmente do estudo de SARSr-CoV e MERSr-CoV. Os coronavírus são sensíveis à radiação ultravioleta e ao calor e podem ser efetivamente inativados por aquecimento a 56 °C por 30 min e solventes lipídicos como éter, etanol a 75%, desinfetante contendo cloro, ácido peroxiacético e clorofórmio, exceto clorexidina⁴.

Atualmente, a principal fonte de infecção são os pacientes infectados com COVID-19 e portadores assintomáticos de Covid-19 que também são uma fonte potencial de infecção. O SARS-CoV-2 é altamente contagioso e apresenta uma diferença em relação a outros vírus respiratórios, pois a sua transmissão humano-humano ocorre aproximadamente 2 a 10 dias antes do indivíduo se tornar sintomático⁵⁻⁷. O SARS-CoV-2 é transmitido principalmente por gotículas orais expelidas durante a fala, tosse e ou espirros e contato.

Essas partículas de SARS-CoV-2 transportadas pelo ar podem ser inaladas por outra pessoa ou aterrissar nas membranas mucosas dos olhos⁸. A transmissão por aerossóis é maior quando as pessoas têm exposição prolongada a altas concentrações de aerossóis em espaços relativamente fechados. Os humanos de todas as idades são geralmente susceptíveis^{9,10}.

Quanto às manifestações clínicas, com base nas investigações epidemiológicas atuais, o período de incubação do COVID-19 varia de 1 a 14 dias e geralmente de 3 a 7 dias. Indivíduos com COVID-19 podem apresentar doença semelhante à influenza e infecção do trato respiratório demonstrando febre (89%), tosse (68%), fadiga (38%), produção de escarro (34%) e/ou falta de ar (19%)^{11,12}. Em casos graves, a dispneia e ou hipoxemia geralmente ocorrem após uma semana do início dos sintomas, podendo progredir rapidamente para Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), choque séptico, acidose metabólica de difícil correção, disfunção de coagulação e hemorragias e falência de múltiplos órgãos. Destaca-se que pacientes com formas graves podem apresentar febre moderada a baixa.

Do ponto de vista clínico, a COVID-19 grave se manifesta como uma insuficiência respiratória decorrente de uma pneumonia intersticial difusa e bilateral^{1,2}. Os pacientes com idade avançada, sobrepeso, diabetes mellitus e condições crônicas cardíacas, renais e pulmonares apresentam um risco elevado de enfermidades sérias^{1-3,13}. A insuficiência respiratória pode estar relacionada ou até mesmo simular a COVID-19, e um método de diagnóstico não invasivo, como a reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) nasofaríngea/orofaríngea, pode resultar em muitos resultados falsos negativos¹⁴. Este problema se torna ainda mais grave em situações de óbito, já que a taxa real de mortalidade pode ser superestimada.

Os casos leves apenas apresentam febre leve, fadiga leve e assim por diante, sem manifestação de pneumonia. Dos casos tratados atualmente, a maioria dos pacientes apresenta prognóstico favorável. Os idosos e as pessoas com doenças crônicas subjacentes geralmente apresentam prognóstico ruim, enquanto casos com sintomas relativamente leves também são comuns em crianças¹⁰.

O SARS-CoV-2 é altamente contagioso e leva principalmente a uma infecção do sistema respiratório, sendo a pneumonia um dos principais achados do COVID-19¹⁵⁻¹⁸. Os casos graves de COVID-19 desenvolvem pneumonia grave e SDRA deixando graves sequelas nos pulmões, tais como a fibrose pulmonar, ou evoluem para a falência de múltiplos órgãos que leva à morte, enquanto os casos não graves apresentam sintomas comuns de infecção do sistema respiratório⁷⁻¹⁰. Estudos mais recentes estimam que 80% dos casos são assintomáticos ou leves, 15% são graves (infecção que requer oxigenoterapia) e 5% são críticos, exigindo ventilação mecânica invasiva e suporte à vida¹⁹.

As investigações radiológicas mostram que os achados típicos de tomografia computadorizada de pulmões de pacientes infectados por SARS-CoV-2 caracterizam uma pneumonia com opacidades bilaterais em vidro fosco e consolidação distribuídas em ambas as regiões pulmonares periféricas e posteriores^{17,18,20}. Em um estudo realizado em fevereiro de 2020, Yoon et al. concluíram que a pneumonia por SARS-CoV-2 na Coreia foi caracterizada por opacidades bilaterais em vidro fosco puro ou misto e consolidativo com lesões posteriores e periféricas bilaterais nos pulmões.

O formato das lesões é tipicamente mal definido e irregular, confluyente ou nodular associado a lesões irregulares ou confluentes distribuídos principalmente ao longo da pleura ou principalmente ao longo da região bronco vascular. A maioria das lesões pulmonares observadas era ambígua nas radiografias de tórax. Os autores sugerem que médicos pneumologistas e radiologistas devem familiarizar-se com os achados tomográficos da COVID-19 bem como com as limitações das radiografias de tórax na avaliação da pneumonia para gerenciar o surto de COVID-19²¹.

Neste cenário, as autópsias de pacientes que vieram a óbito por COVID-19 possibilitam aos patologistas confirmar ou descartar a doença de maneira eficaz, além de determinar as condições correlatas. A coleta de amostras de tecidos após a morte é crucial para a execução de estudos in situ e moleculares, bem como para o estudo minucioso da fisiopatologia desta enfermidade.

Contudo, a quantidade de autópsias documentadas até agora ainda é reduzida e a coleta de tecidos é geralmente restrita a determinados órgãos, principalmente pulmões, fígado e coração²²⁻²⁹. A escassa literatura sobre autópsias de pacientes acometidos por COVID-19 contrasta fortemente com o elevado número de óbitos, possivelmente por causa do perigo de contaminação. Adicionalmente, recomendam-se medidas de proteção para as autópsias de pacientes mortos por contaminação pelo COVID-19, restringindo-as a um número restrito de instituições^{30,31}.

A doença, quando em fase aguda causa grandes danos alveolares, resultando em insuficiência respiratória aguda hipoxêmica (IRHA), o que requer ventilação mecânica em alta proporção de casos³²⁻³⁴. A infecção respiratória associada ao COVID-19 está principalmente associada à tosse seca não produtiva e comprometimento do trato respiratório inferior geralmente causando pneumonite, podendo evoluir para uma fibrose pulmonar³⁵.

1.2 SARS-CoV-2 e sua interação com o sistema imunológico

A infecção por SARS-CoV-2 ativa o sistema imune inato gerando uma resposta excessiva que pode estar relacionada a maior lesão pulmonar e pior evolução clínica. As observações clínicas sugerem que quando a resposta imune é incapaz de controlar efetivamente o vírus, como em pessoas mais idosas com um sistema imunológico enfraquecido, o vírus se espalharia com mais eficiência, produzindo danos ao tecido pulmonar, o que ativaria macrófagos e granulócitos e levaria a liberação maciça de citocinas pró-inflamatórias³⁶⁻³⁸.

O circuito de ativação dessa via imunológica a partir da ativação de linfócitos T helper (Th) CD4 + e CD8 + (com maior expressão de marcadores inflamatórios, em comparação aos controles saudáveis) foi muito bem descrito na China. Em pacientes com pneumonia devido ao SARS-CoV-2 internados na UTI em comparação com os não internados na UTI, e com controles saudáveis, observou-se uma correlação com maior proporção de células T CD4 + produtoras de IL-6 e GM-CSF (fator que estimula as colônias de granulócitos-macrófagos com a gravidade de casos de COVID-19)³⁹.

Outros estudos observaram a presença de níveis elevados de IL-6 e outras citocinas pró-inflamatórias em pacientes com COVID-19 grave⁴⁰⁻⁴², no entanto, é insuficiente para controlar a infecção e leva à depleção de linfócitos associada ao aumento do dano tecidual, que é clinicamente observável em pacientes criticamente enfermos com linfopenia e hiperferritinemia⁴³. Essa hiperativação, chamada de tempestade de citocinas, associada à SDRA, descrita como a principal causa de mortalidade por COVID-19^{44,45}.

A cascata de citocinas ocorre quando muitos leucócitos (neutrófilos, macrófagos e mastócitos) são ativados e liberam grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias⁴⁶. A tempestade de citocinas foi inicialmente descrita como um efeito adverso de terapias com anticorpos monoclonais, e também é comum em terapias com células CART (receptor de antígeno quimérico de células T)⁴⁷.

As principais citocinas envolvidas na patogênese da tempestade de citocinas incluem interleucina (IL) -6, IL-10, interferon (IFN), proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1) e macrófagos de fator estimulador de colônias de granulócitos (GM-CSF); Outras citocinas, como fator de necrose tumoral (TNF), IL-1, IL-2, receptor de IL-2 e IL-8, também foram descritas durante a tempestade de citocinas. A tempestade de citocinas foi observada em outras infecções virais, como SARS, MERS ou ebola, embora por meio da alteração de diferentes vias.

Em pacientes acometidos por COVID-19, sua patogênese ainda não é totalmente conhecida, entretanto, uma maior concentração plasmática de várias citocinas tem sido observada (IL-1 β , IL-6, IL2, IL-2R, IL7, IL10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A, TNF α , etc.), principalmente em pacientes com sintomas mais graves⁴⁸.

Para estudar os casos que vieram a óbitos pode ser utilizado um procedimento de autópsia minimamente invasiva baseada em ultrassom (AMI-US). Esta técnica já foi utilizada durante a epidemia de febre amarela de 2018 em São Paulo e mostrou total concordância diagnóstica com a autópsia convencional⁴⁹.

A AMI-US é uma alternativa adequada para realizar autópsias em casos de COVID-19, porque reduz consideravelmente os custos, o risco de produzir aerossóis é baixo e, portanto, pode ser realizado em serviços sem salas de autópsia com pressão negativa. As imagens obtidas com a técnica guiada por ultrassom são suficientemente de boa qualidade para permitir a localização e orientação da amostragem em vários órgãos, fornecendo informações dentro de uma janela de tempo curta o suficiente para permitir a orientação do manejo de pacientes em estado crítico^{50,51}.

Em relação ao cenário pandêmico da COVID-19, a utilização do procedimento AMI-US, considerando que seu baixo custo e portabilidade, combinados com uma redução significativa no risco de contágio de uma autópsia em corpo fechado, poderiam ser uma forma de aumentar o número de autópsias em pacientes com COVID-19, contribuindo para uma melhor compreensão dos mecanismos de lesão tecidual e possivelmente adicionando informações úteis para o desenvolvimento de novos procedimentos terapêuticos.

2. Justificativa

Entender cientificamente o processo patológico pulmonar em pacientes que vieram a óbito por COVID-19 é fundamental para elucidar os mecanismos da doença, aprimorar as opções de tratamento, melhorar a gestão de casos graves e embasar estratégias de prevenção em futuras pandemias. Os estudos sobre achados patológicos em pulmões de indivíduos que faleceram devido ao SARS-CoV-2 têm fornecido dados cruciais sobre os danos celulares, processos inflamatórios e mecanismos de coagulação associados à infecção. O exame desses processos revela detalhes relevantes sobre como a infecção pelo vírus impacta a estrutura e a função pulmonar.

Os estudos patológicos apontam que o SARS-CoV-2 compromete os pulmões em nível molecular por meio da invasão viral das células alveolares, desencadeando uma resposta inflamatória que pode levar a complicações graves.

Alterações como a formação de microcoágulos e trombose são fenômenos críticos, associados à insuficiência respiratória observada em pacientes críticos. Esses microcoágulos são um dos principais mecanismos de dano pulmonar em pacientes comprometidos pelo COVID-19, resultando em disfunção pulmonar e complicações clínicas severas. Esses achados fornecem evidências importantes para compreender a relação entre inflamação, coagulação e insuficiência respiratória⁵².

Além da identificação dos mecanismos, a análise de alterações patológicas nos pulmões de pacientes mortos por COVID19 também pode possibilitar o desenvolvimento de novos tratamentos específicos. As lesões como edema e fibrose têm sido observadas como consequências frequentes da infecção, sugerindo que intervenções com anticoagulantes, corticosteroides e antivirais podem mitigar esses efeitos e reduzir a progressão da doença. O uso de anticoagulantes mostrou-se promissor no tratamento de complicações graves em pacientes com comprometimento pulmonar significativo, ao abordar os processos de trombose e coagulopatia. Essas descobertas reforçam a importância de intervenções terapêuticas baseadas em análises patológicas⁵³.

Outro aspecto fundamental é a identificação de biomarcadores que permitam prever a evolução da doença em pacientes com COVID-19. O exame post-mortem revela padrões patológicos, como inflamação intensa e fibrose pulmonar, que podem ser usados como indicadores para antecipar a gravidade e a progressão da infecção. Um interessante estudo demonstrou que biomarcadores específicos identificados em biópsias pulmonares oferecem informações cruciais na identificação de pacientes em alto risco de desenvolvimento de formas graves, possibilitando intervenções precoces e precisas para reduzir a mortalidade⁵⁴. A COVID-19 também está associada à SDRA, uma condição que leva à falência respiratória e frequentemente resulta em morte. O exame patológico dos pulmões de pacientes comprometidos por COVID19 revela edema pulmonar e hipoxemia grave, sendo fundamentais para o aprimoramento das estratégias de ventilação e suporte respiratório.

A falência respiratória causada pela COVID-19 exige abordagens diferenciadas no manejo clínico, com base em achados patológicos, otimizando os tratamentos e intervenções para pacientes críticos⁵⁵.

Além disso, o conhecimento sobre os danos pulmonares observados na COVID-19 pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de prevenção mais eficazes. As alterações pulmonares precoces e o monitoramento dessas mudanças podem ajudar a identificar sinais precoces de complicações, orientando o controle de infecções e prevenindo o agravamento da doença em pacientes vulneráveis⁵⁶.

O impacto da COVID-19 também se reflete no avanço da compreensão de outras doenças respiratórias virais e em seus mecanismos. A análise das alterações patológicas, como a fibrose pulmonar decorrente da infecção pelo SARS-CoV-2, fornece uma oportunidade de explorar abordagens terapêuticas inovadoras para essas condições crônicas. A fibrose pulmonar pode representar um dos principais danos permanentes nos pulmões após a infecção, ressaltando a necessidade de desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que possam abordar esse processo patológico⁵⁷.

Portanto, o estudo anatomopatológico das alterações pulmonares em pacientes falecidos pela COVID-19 é essencial não apenas para compreender a progressão da doença, mas também para melhorar estratégias de intervenções clínicas, prever a evolução da doença por meio da identificação de biomarcadores e refinar as abordagens preventivas. O conhecimento obtido desses estudos contribui para o avanço da ciência médica no enfrentamento de doenças respiratórias virais e suas implicações em cenários de futuras pandemias.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Identificar através das técnicas de imuno-histoquímica o perfil inflamatório em tecidos pulmonares obtidos de pacientes que vieram a óbito, diagnosticados com COVID-19.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a coleta de tecido pulmonar através da técnica de necropsia minimamente invasiva em pacientes que vieram a óbito diagnosticados com COVID-19;
- Avaliar a estrutura do tecido pulmonar obtido de pacientes que vieram a óbito, diagnosticados com COVID-19.

3. Material e métodos

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo experimental que analisou o perfil imunohistoquímico de tecidos pulmonares de pacientes que vieram a óbito diagnosticados com COVID-19, realizado no Serviço de Vigilância de Óbitos (SVO) da Prefeitura Municipal de Anápolis (GO) e no Laboratório de Cultura de Células da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA.

O estudo utilizou amostras de tecido pulmonar, extraído de pacientes que vieram a óbito decorrente da infecção por COVID-19, encaminhados ao SVO para necropsia e confirmação de causa *mortis*. O material de estudo foi necropsiado por médico perito e patologista responsável pelo SVO, através da técnica de necropsia minimamente invasiva. Em sequência, as amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Cultura de Células da UniEVANGÉLICA.

3.2 Protocolo de segurança

Os corpos dos pacientes foram transportados em sacos plásticos de segurança do hospital para o necrotério por enfermeiros com equipamento de proteção individual (EPI) apropriado. Dois técnicos treinados prepararam os corpos para o procedimento, cobrindo-os com um saco plástico adicional e deslizando-os através de uma maca com polias.

O acesso à sala de autópsia foi limitado a três pessoas, o examinador de ultrassom, o técnico de apoio e o médico responsável pelo procedimento de necropsia, que usaram EPI de acordo com os protocolos padrão (roupas cirúrgicas protegidas por dois aventais, bota de borracha, manga plástica, três camadas de luvas, touca de borracha, máscara N95 sob uma máscara cirúrgica e proteção ocular).

Após o procedimento e a liberação do corpo para a morgue, o pessoal diretamente envolvido com a necropsia se dirigia para uma sala de apoio para a retirada do EPI com a ajuda de técnicos protegidos.

A remoção de materiais contaminados de descarte e o protocolo de limpeza terminal para a sala de autópsia foram realizados por pessoal treinado^{30,31}. Os frascos plásticos contendo o material amostrado tiveram suas superfícies externas limpas com solução de álcool isopropílico a 70%. O pessoal envolvido direta ou indiretamente com as necropsias era testado uma vez por semana para COVID-19 (RT-PCR nasofaríngeo/orofaríngeo)⁵⁸.

3.3 Aspectos Éticos

O estudo seguiu todas as normas éticas das Diretrizes Éticas da Pesquisa com Seres Humanos, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA pelo Parecer 5.490.148, CAAE 58314122.5.0000.5076 de 25 de junho de 2022.

Neste estudo, considerou-se a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por ser tratar de retirada de material em biopsia minimamente invasiva em cadáveres de indivíduos vindos a óbito por COVID-19 no Serviço de Verificação de Óbitos (SVO) da Prefeitura Municipal de Anápolis.

O fornecimento das amostras de tecido e as informações demográficas e clínicas dos participantes foram fornecidas pelo médico Diretor do SVO, conforme declaração assinada e anexada ao protocolo aprovado pelo CEP.

3.4 Critérios de inclusão e exclusão

Neste estudo, foram utilizadas amostras do tecido pulmonar de pacientes que vieram a óbito, diagnosticados com COVID -19 encaminhados ao SVO de Anápolis (GO) para confirmação de diagnóstico e causa mortis. As amostras que não apresentarem viabilidade imunohistológica, ou seja de qualquer natureza ou vício de coleta e ou preparo anatomopatológico (preparo, manuseio, processamento, etc) foram desprezadas. Os pacientes selecionados passaram por confirmação do diagnóstico de COVID-19 através de teste rápido antígeno TR-Ag através de amostra coletada por swab nasal na sala de necropsia.

3.5 Autópsia Minimamente Invasiva

O procedimento de autópsia minimamente invasiva (AMI) é uma técnica que se baseia na coleta pós-morte de órgãos vitais por meio de biópsias a agulha. Este processo possibilita uma análise histopatológica e microbiológica detalhada dos tecidos e fluidos coletados, proporcionando, assim, explicações mais sólidas e plausíveis para a causa da morte quando comparados aos métodos não pós-mortem atualmente empregados. A AMI foi concebida como uma alternativa possível à autópsia diagnóstica completa, reconhecida como o método padrão ouro na determinação de causas de óbitos, entretanto, exige um elevado nível de complexidade e infraestrutura, que são raros em países de baixa e média renda, com pouca aceitação nesses cenários. A AMI é rápida, segura e quase imperceptível, podendo ser empregada como um mecanismo de monitoramento de causas de óbitos de rotina^{59,60}.

Em alguns estudos realizados em Moçambique, a técnica da AMI foi validada para mortes por COVID19 de pacientes adultos⁶¹, perinatais⁶² e maternas. Em uma pesquisa de validação da técnica, foi observada uma alta concordância (75,9%) entre o método AMI e o método tradicional, com a AMI identificando de maneira confiável doenças infecciosas e cânceres como o método convencional^{59,60}. Também foram realizados estudos de validação em países de baixa renda, particularmente, devido ao cenário de preocupações de risco biológico e doenças altamente contagiosas (tuberculose, febre amarela e vírus Nipah)⁶³.

A AMI foi utilizada pela primeira vez em 1955, quando Richard Terry desenvolveu a técnica de autópsia com agulha central utilizando o equipamento de ultrassom para auxiliar na localização de órgãos a serem biopsiados, aumentando assim a precisão através de um protocolo padronizado. A realização de uma AMI guiada por ultrassom requer uma série de punções post-mortem usando uma agulha semelhante à utilizada na obtenção de amostras in vivo, bem como a obtenção de fluidos corporais para posteriores estudos histopatológicos, biomoleculares e imuno-histoquímicos.

É importante destacar que as imagens de ultrassom em cadáveres são diferentes das obtidas em pacientes vivos devido à alteração de colaboração dos tecidos, à ausência de batimentos cardíacos, bem como à ausência de fluxo sanguíneo ou movimentos respiratórios que condicionam a atelectasia pulmonar. Os protocolos de exame de ultrassonografia para autópsia não invasiva são semelhantes aos usados na avaliação do abdômen, coração e pulmão na ultrassonografia à beira do leito⁶⁴.

3.6 Necropsia de Pulmão

Seguindo a técnica de necropsia minimamente invasiva descrita no estudo de Duarte-Neto *et al*, 2020, os corpos foram embalados com sacos plásticos resistentes e pequenas aberturas de 10 cm foram feitas em locais apropriados na superfície corporal. Inicialmente, coração e o pulmão esquerdo foram acessados por meio de uma incisão adjacente ao esterno. Depois de completar a amostragem de tecido neste local, acessou-se o pulmão direito por meio de uma incisão na área paraesternal direita. As aberturas do filme plástico foram fechadas e as incisões subsequentes realizadas no espaço subcostal direito e no espaço subcostal esquerdo guiadas pelo ultrassom⁶⁵.

A amostragem dos tecidos foi realizada com agulhas coaxiais semiautomáticas Tru-Cut (14G; 20 cm em comprimento), sendo coletadas amostras de tecidos pulmonares (seis amostras de cada pulmão para histologia, seis amostras de cada pulmão para descclularização, seis amostras de cada pulmão para extração de células e duas amostras de pulmão para análise molecular)⁶⁵.

3.6.1 Detecção molecular do SARS-CoV-2

As amostras de tecidos pulmonares com dimensões de 1 cm³ foram armazenadas a -80°C e posteriormente maceradas e realizada a extração do ácido nucléico com o reagente TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). A detecção molecular de SARS-CoV-2 foi realizada com o SuperScript III Kit Platinum One-Step qRT-PCR (Invitrogen), com primers/sondas para amplificação do gene E e RdRp. As reações qRT-PCR foram realizadas com o 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) e consistiram de 55°C por 10 min para a transcrição reversa, 95°C por 3 min e 45 ciclos de 95°C por 15 s e 58°C por 30s⁶⁶.

3.6.2 Citoquímica e Imunohistoquímica

Os cortes necropsiados de pulmão foram divididos em dois grupos. Em um dos grupos, os cortes foram congelados a - 80°C para posterior descélularização enquanto para o outro grupo, os cortes foram fixados em formol 10% e incluídos em blocos de parafina e coradas com hematoxilina e eosina, para a confecção das lâminas histológicas. A seguir foram realizadas análises semiquantitativas para classificação das alterações pulmonares, sendo 0 = ausência, 1 = leve e 2 = intensa.

A análise imuno-histoquímica foi realizada através do método da estreptoavidina-biotina-imunoperoxidase, para a detecção dos marcadores imunológicos de células NK (CD56), de Linfócitos T Citotóxicos (CD8), de Linfócitos B (CD20), de toda linhagem linfocítica (CD38). Para o marcador de cada órgão utilizou-se como referência a correlação adotada entre o percentual de marcação por campo microscópico em uma escala de imunomarcação. Estas análises foram realizada no tecido pulmonar para detecção dos antígenos fator de transcrição da tireoide-1 (Abcam, Cambridge, MA, EUA; clone 8G7G3/1, diluição 1:500), p63 (Biocare Medical, Pacheco, CA, EUA; clone 4A4, diluição 1:100), Ki67 (Dako, Glostrup, Dinamarca; clone MIB-1, diluição 1:400), CD4 (Leica Biosystems-Novocastra, Buffalo Grove, IL, EUA; clone 4B12, diluição 1:50), CD8 (Dako; clone C8/144B, diluição 1:400), CD20 (Dako; clone L26, diluição 1:2500), CD57 (Dako; clone TB01, diluição 1:200) e CD68 (Dako; clone PG M1, diluição 1:2500).

A recuperação de antígenos foi realizada com citrato a pH 6.0, exceto para p63 e CD4, para os quais a recuperação de antígenos foi realizada com TRIS-EDTA a pH 9.0. As reações seguiram protocolos padrão validados internacionalmente⁵⁴. As amostras de tecidos pulmonares com 1 cm³ foram armazenadas a - 80°C e posteriormente foram maceradas para a extração de ácidos nucleicos com o reagente TRIzol⁶⁶.

Os registros dos marcadores imuno-histoquímicos analisados foram tabulados no software *Microsoft Excel 2013* e analisado as frequências relativas e percentuais. Os pulmões foram fixados com formol 10% durante 24 horas e submetidos ao processo histológico.

3.6.3 Citoquímica

As lâminas contendo cortes histológicos de 0,5µm foram submetidas aos seguintes procedimentos:

- **Hematoxilina e Eosina** – coloração utilizada para avaliação do índice da espessura da camada epitelial e da musculatura lisa da via aérea e do músculo liso vascular.

- **Luna** – coloração utilizada para avaliação da densidade de eosinófilos peribrônquicos, perivasculares e parenquimais.

- **Resorcina Fucsina de Weigert's com Oxidação** – coloração utilizada para avaliação da proporção de volume de fibras elásticas, nas vias aéreas, nos vasos e no parênquima pulmonar.

- **Picrossírius** – coloração utilizada para avaliação da proporção de volume de fibras colágenas, nas vias aéreas, nos vasos e no parênquima pulmonar.

3.6.4 Imunohistoquímica

As lâminas preparadas com 3-Aminopropil-trietoxi-silano (Sigma) com os cortes histológicos dos pulmões foram inicialmente desparafinadas, hidratadas e submetidas aos procedimentos padrão, descritos a seguir.

Etapa 1 – Recuperação antigênica. através de Proteinase K por 20' (37°C) seguidos de descanso de 20' em temperatura ambiente. Após este período, lavadas em solução salina tamponada com fosfato (*phosphate-buffered saline*) (PBS).

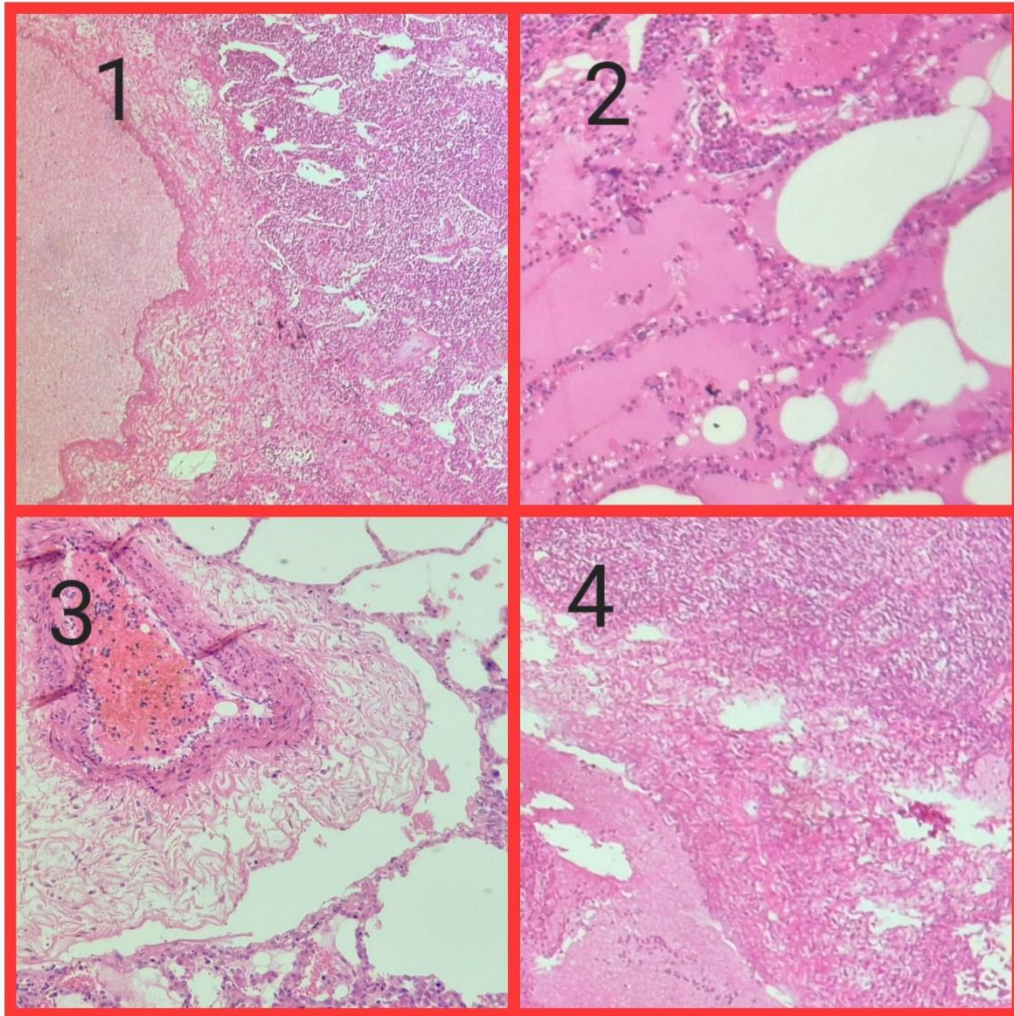
Etapa 2 – Bloqueio e incubação com anticorpo primário. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com água oxigenada (H₂O₂) 10V 3% (3 x 10 minutos), seguidos de incubação com os anticorpos primários: anti-IL-5 (sc-7885 – Santa Cruz), anti-IFN-gama (sc-8308 – Santa Cruz), anti-MCP-1(sc - 1784 – Santa Cruz) , anti-IL-2 (sc-7896 – Santa Cruz) e anti-IL-4 (sc-1260 – Santa Cruz), diluídos em BSA na proporção de 1:200 (IL-5), 1:300 (IFN-gama), 1:3500 (MCP-1), 1:400 (IL-2) e 1:500 (IL-4), os quais foram aplicados sobre os cortes e controles (positivo e negativo) de tecido e incubadas “overnight”.

Etapa 3 – Incubação com anticorpo secundário e complexo. lavadas em PBS e incubadas pelo ABCKit Vectastain (Vector Elite – PK-6105 (anti-goat) / PK-6101 (anti-rabbit). Apenas para os anticorpos primários anti-IL-2 e anti-IL-4, após a incubação do anticorpo secundário, seguiu-se o bloqueio da peroxidase endógena com H₂O₂10V 3% + metanol (1:1) (2 x 10 minutos) e posteriormente incubação com o complexo.

Etapa 4 – Revelação. Seguiu com a lavagem das lâminas em PBS e revelação pelo cromógeno 3,3 Diaminobenzidine (DAB) (*Sigma Chemical Co*, Saint Louis, Missouri, EUA).

Etapa 5 – Contra-coloração e montagem das lâminas: As lâminas foram lavadas em água corrente e contra-coradas com Hematoxilina de Harris (Merck, Darmstadt, Alemanha). Em seguida, elas foram lavadas em água corrente, desidratadas, diafanizadas e montadas com resina para microscopia Entellan (Merck, Darmstadt, Alemanha).

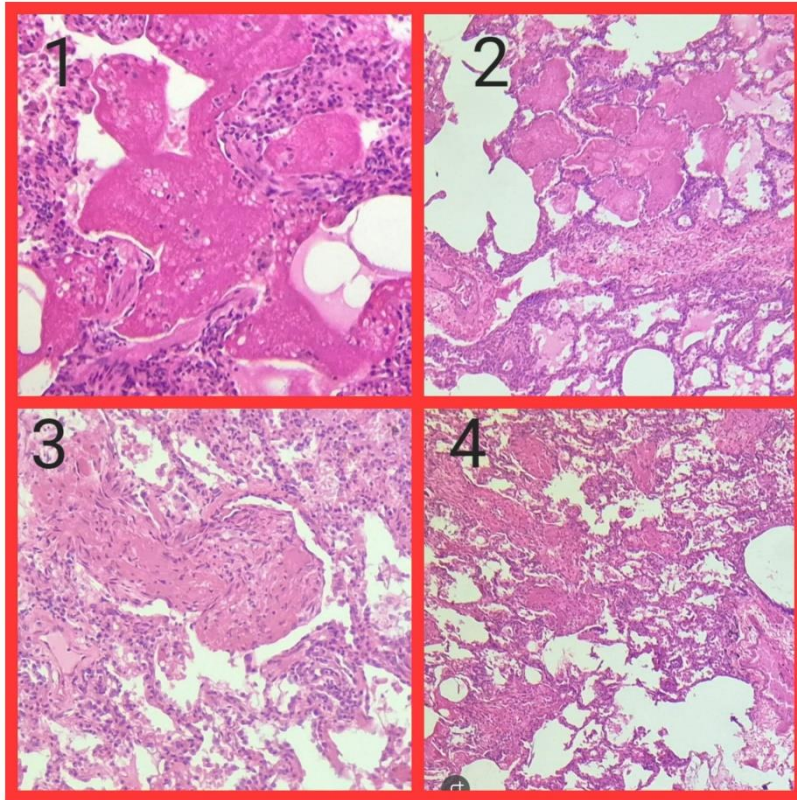
4. Resultados



- 1- Tecido pulmonar com densa inflamação mista ao lado de vasos tronbosados
- 2- Pulmão com edema alveolar com vasos hemorrágicos e trombosados.
- 3- Detalhe de tecido pulmonar com áreas de enfisema mostrando artéria de pequeno calibre com endarterite crônica e trombose.
- 4- Tecido pulmonar substituído por grande processo inflamatório misto com acúmulo de material fibrinoso.

Figura 1. Lâminas de tecido pulmonar com densa inflamação de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop



- 1- Parênquima pulmonar apresentando depósito de material hialino em região alveolar.
- 2- Tecido pulmonar com espessamento intersticial, presença de pequenos vasos com micro-trombos e com reação inflamatória exuberante.
- 3- Detalhe do tecido pulmonar com espessamento intersticial e com densa reação fibrosa com arranjo nodular.
- 4- Tecido pulmonar com múltiplos focos de reação fibrosa que assume arranjo nodular.

Figura 2. Lâminas de tecido pulmonar com espessamento intersticial de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19.

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

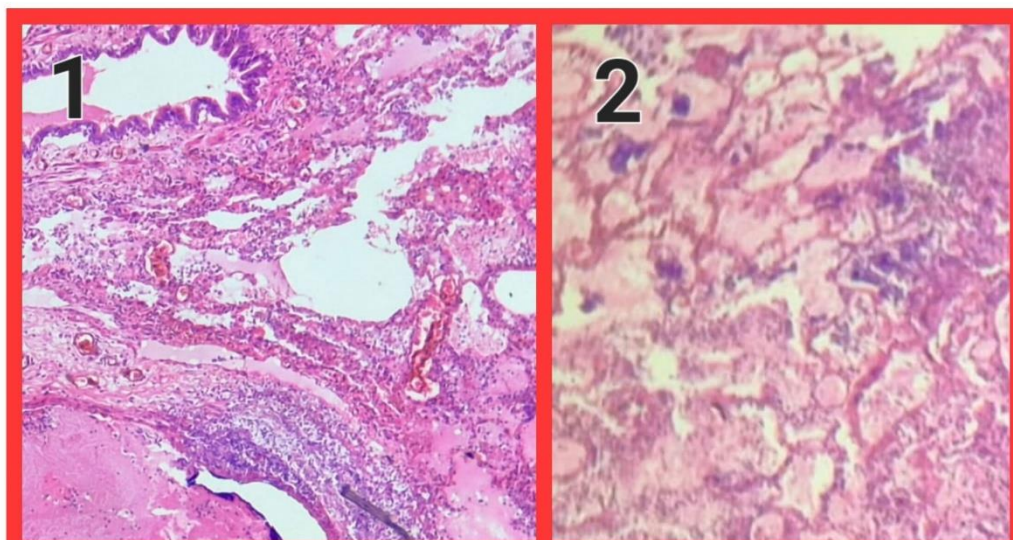


Figura 3. 1 e 2: Lâminas de tecido pulmonar com processo inflamatório exuberante em parênquima pulmonar mostrando vasos trobosados em fase de organização com envolvimento em brônquio e acúmulo de bactérias em região alveolar de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

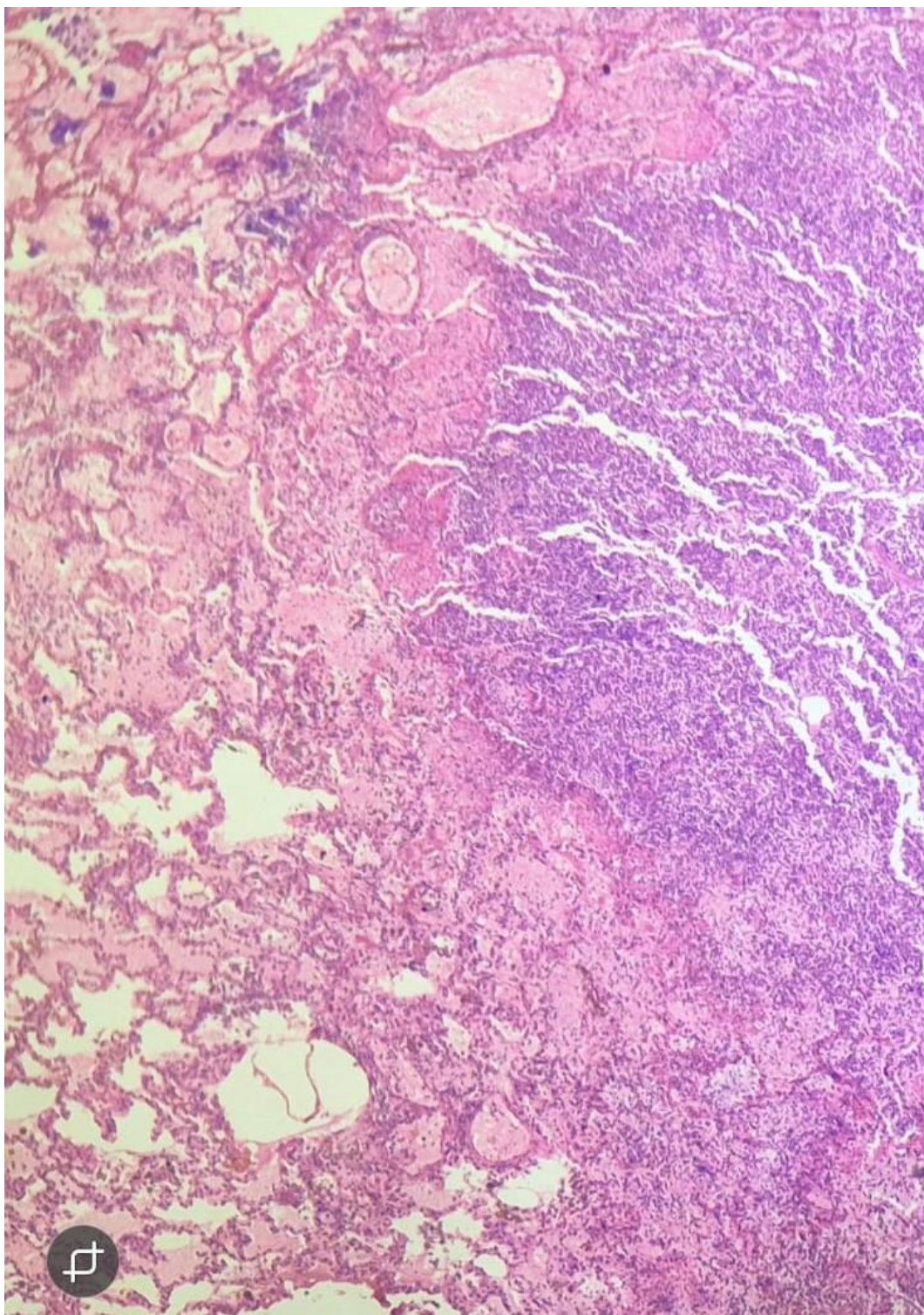


Figura 4. Lâmina de tecido com abscesso pulmonar, dano alveolar difuso e pneumonia bacteriana secundária a infecção de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

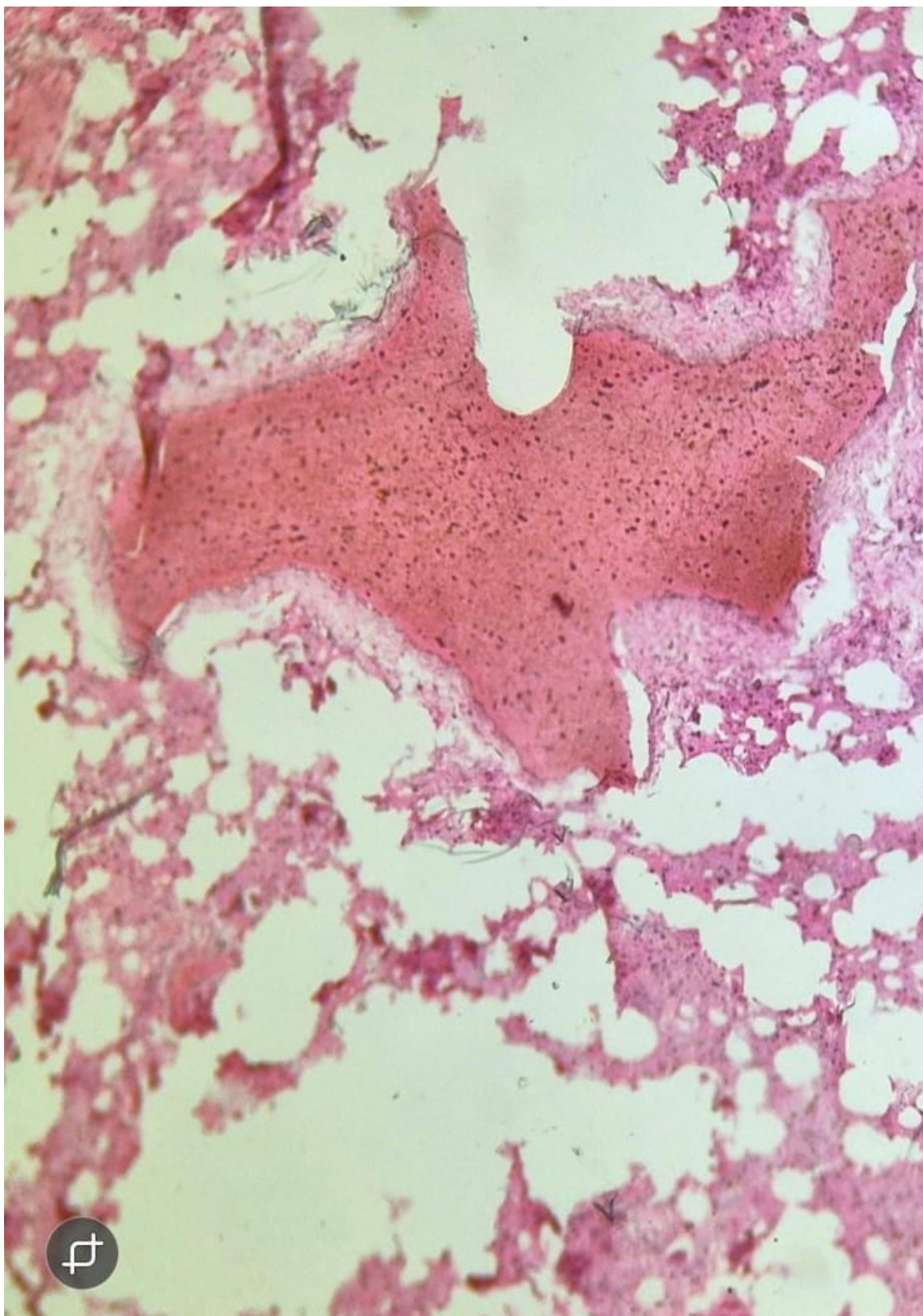


Figura 5. Lâmina de tecido com infiltrado inflamatorio em interstício pulmonar associado a trombo de fibrina e hemorragia em vasos pulmonares de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

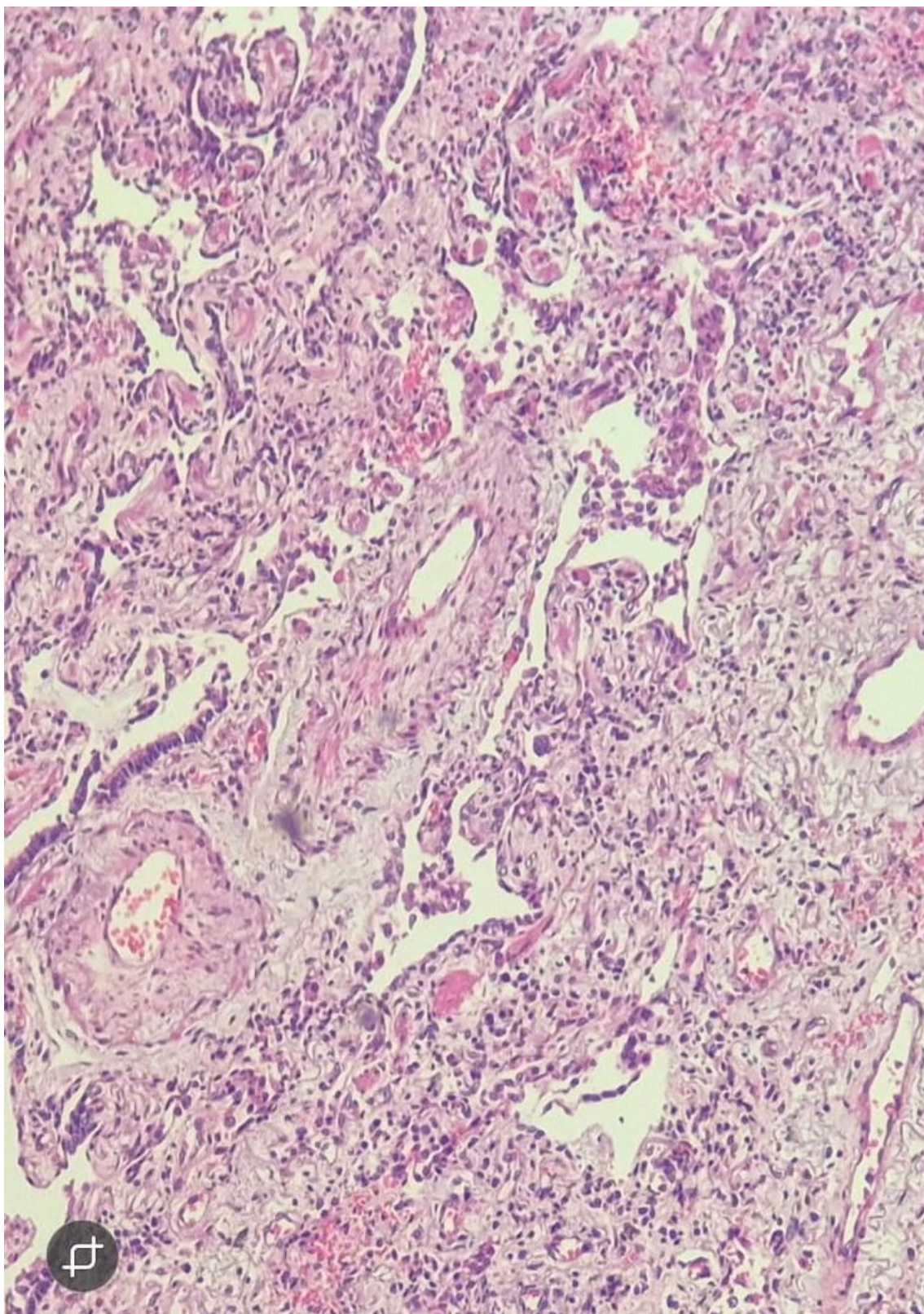
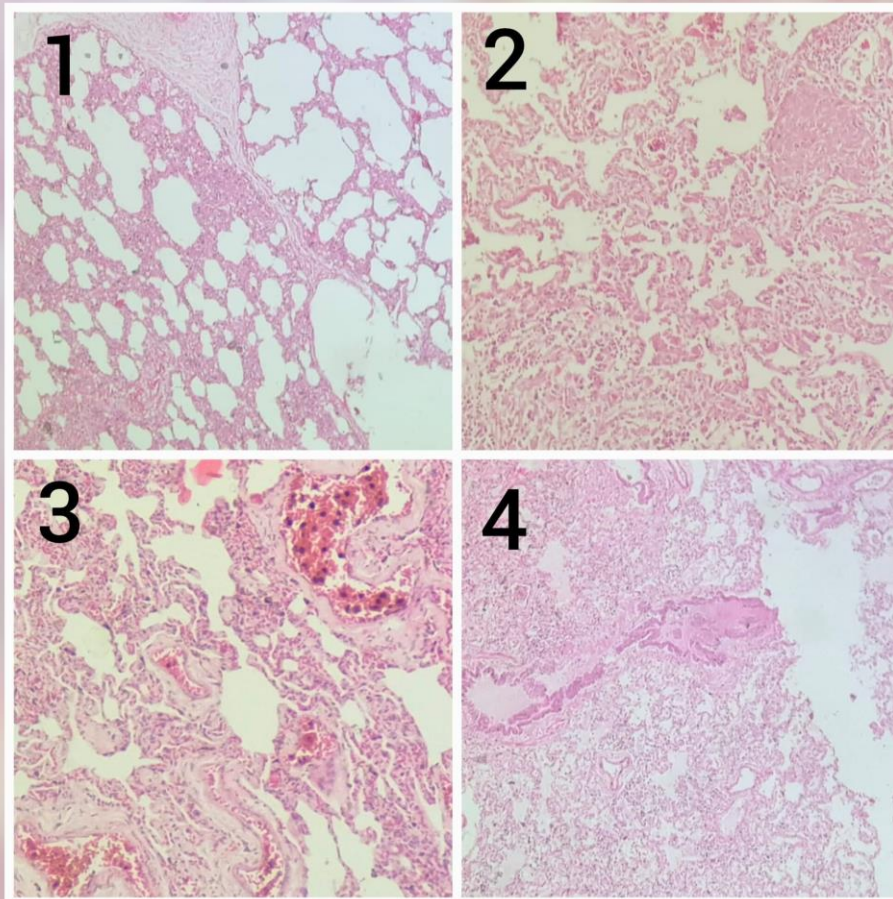


Figura 6. Lâmina de tecido pulmonar com fibrose difusa de pacientes vindo a óbito por contaminação de COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop



- 1- Covid 19 com tecido pulmonar apresentando infiltrado inflamatório em interstício pulmonar.
- 2- Presença de vasos dilatados e edema pulmonar.
- 3- Tecido pulmonar com espessamento de interstício por pneumócito 2 em fibroblastos fase avançada do Covid 19.
- 4- Tecido pulmonar substituído por extensas áreas de fibrose em pacientes com covid 19 em fase avançada.

Figura 7. Lâmina de tecido pulmonar apresentando infiltrado inflamatório em interstício de pacientes vindo a óbito por COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

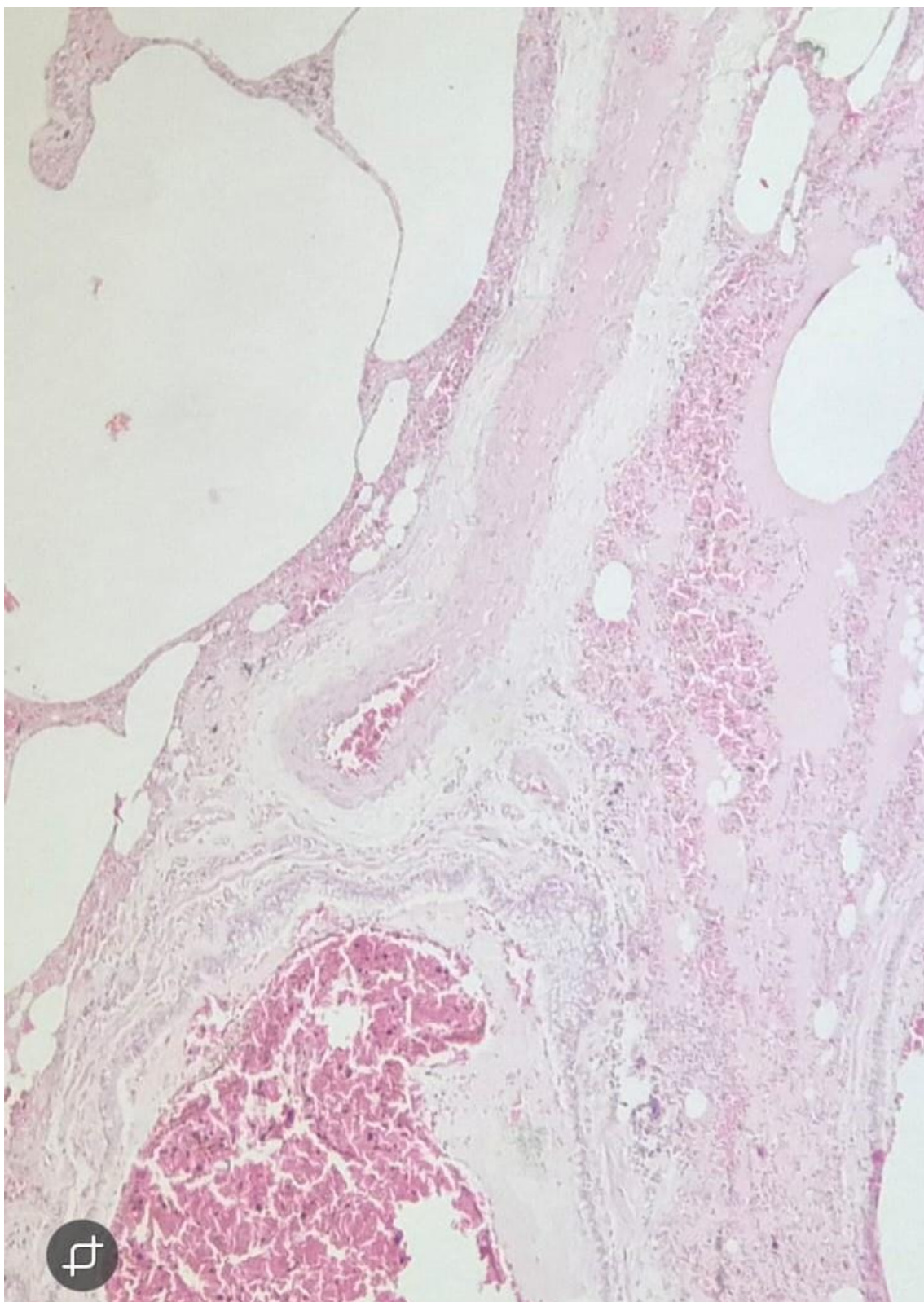


Figura 8. Lâmina de tecido apresentando extensas áreas de fibrose pulmonar intersticial e edema pulmonar. de pacientes vindos a óbito por COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

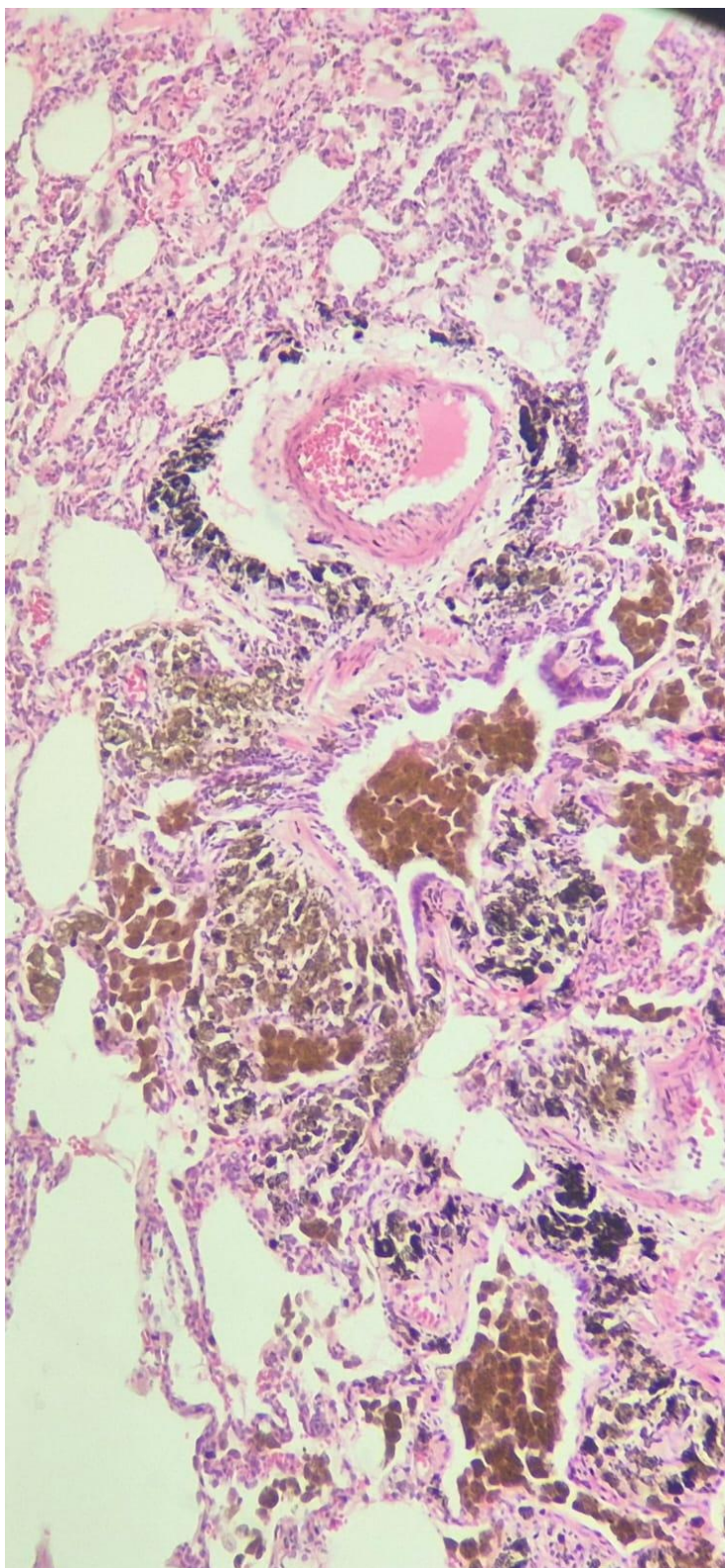


Figura 9. Lâmina de tecido pulmonar apresentando Presença de infiltrado inflamatorio intersticial e células do vício cardíaco de pacientes vindos a óbito por COVID-19

Nota: objetiva com aumento de 10 x 0,25 Nexcop

5. Discussão

A pandemia de COVID-19, causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, gerou uma enorme carga sobre os sistemas de saúde globalmente, com uma significativa taxa de mortalidade, especialmente entre pacientes com comorbidades e idosos. A doença se manifesta de maneiras variadas, desde formas assintomáticas até quadros graves de insuficiência respiratória, frequentemente associados a uma resposta inflamatória exacerbada. A compreensão do perfil inflamatório no tecido pulmonar de pacientes que evoluíram para óbito é essencial para o entendimento da fisiopatologia da COVID-19, visando melhores abordagens terapêuticas e estratégias de prevenção e intervenção.

Estudos recentes têm mostrado que a resposta inflamatória nos pulmões desses pacientes é caracterizada por um conjunto de alterações imunes, incluindo infiltrado de células inflamatórias, como macrófagos e neutrófilos, além de ativação de citocinas pró-inflamatórias. Esse perfil inflamatório tem sido associado ao desenvolvimento de lesões pulmonares graves e à progressão para insuficiência respiratória aguda, que é um dos principais fatores de mortalidade da doença.

A infecção pelo SARS-CoV-2 desencadeia uma série de respostas inflamatórias no pulmão, com a liberação de mediadores inflamatórios como interleucinas (IL-6, IL-1 β , IL-8), fator de necrose tumoral (TNF- α) e interferons. Estes mediadores contribuem para o processo denominado de "tempestade de citocinas", que resulta em uma resposta imunológica exacerbada. Além disso, os pulmões dos pacientes com COVID-19 frequentemente exibem um padrão de lesão pulmonar semelhante à SDRA, com a infiltração de células inflamatórias e aumento da permeabilidade vascular.

Pesquisas realizadas por meio autópsias e estudos em tecidos pulmonares de pacientes que evoluíram para óbito têm revelado alterações como necrose alveolar, fibrose intersticial, infiltração de linfócitos e neutrófilos, além de trombose microvascular.

Estas características são indicativas de um processo inflamatório crônico, acompanhado de uma resposta imune desregulada, que leva à destruição do tecido pulmonar^{67,68}.

O estudo conduzido por Xu e colaboradores (2020), apresentou importantes descobertas patológicas relacionadas à COVID-19, particularmente no contexto da SDRA. Este estudo apresentou uma análise detalhada dos achados histopatológicos em pacientes com COVID-19 graves, contribuindo significativamente para a compreensão dos mecanismos subjacentes à gravidade da doença. Com este estudo⁶⁷, foi possível um aprofundamento nas descobertas patológicas por apresentar uma descrição detalhada dos achados autópsicos e histopatológicos em pacientes que faleceram devido à COVID-19.

A abordagem adotada pelos autores, que envolveu a análise de tecidos pulmonares por meio de exames microscópicos pós-morte, é um ponto forte do estudo. A realização de autópsias em pacientes que faleceram devido à COVID-19 possibilitou a observação direta das lesões pulmonares, o que aumenta a precisão das conclusões sobre os mecanismos patológicos envolvidos. Além disso, os autores apresentaram imagens histológicas que ilustraram bem os achados, facilitando a compreensão visual dos resultados⁶⁷.

Os autores mostraram que os pulmões destes pacientes exibiram características típicas da SDRA, como infiltrado de células inflamatórias, edemas alveolares e necrose de células epiteliais. A análise histológica ajudou a identificar as principais lesões no tecido pulmonar, proporcionando informações fundamentais para a compreensão dos mecanismos que levam à falência respiratória em pacientes graves⁶⁷.

Os achados deste estudo corroboram com o estudo de Xu e colaboradores (2020). No exame anatomopatológico microscópico realizado nos pacientes envolvidos neste estudo foi observado um tecido pulmonar com densa inflamação, com edema alveolar difuso associado a vasos hemorrágicos e trombosados, com considerável infiltrado intersticial.

O estudo de Xu et al. (2020) representou uma importante contribuição para a compreensão da fisiopatologia da COVID-19, relacionando as descobertas patológicas aos efeitos clínicos observados nos pacientes. A ligação entre as alterações histológicas e os sintomas clínicos, como insuficiência respiratória e a necessidade de ventilação mecânica, ajuda a esclarecer por que alguns pacientes evoluem para quadros graves.

Com estes resultados, ampliam-se as possibilidades de estratégias terapêuticas que podem ser implementadas para prevenir ou mitigar os danos pulmonares, como a modulação da resposta inflamatória. Destacando a relevância clínica desta pesquisa e as possíveis aplicações terapêuticas, a identificação de características patológicas específicas associadas à SDRA oferece uma base para o desenvolvimento de novas terapias focadas em modular a resposta inflamatória e melhorar os desfechos clínicos. Os autores discutiram a possibilidade de utilização de agentes anti-inflamatórios para controlar a tempestade de citocinas e limitar os danos pulmonares, um aspecto crucial no tratamento de pacientes com COVID-19 grave⁶⁷.

Em um período de grande incerteza e urgência devido à pandemia, este estudo foi fundamental para fornecer dados iniciais sobre a patologia da COVID-19. Os achados patológicos descritos por Xu et al. ajudaram a preencher uma lacuna significativa no conhecimento científico, dado que a pandemia estava em seus estágios iniciais, e os estudos sobre a patologia da doença eram limitados. A análise detalhada forneceu informações essenciais que contribuíram para a construção do corpo de conhecimento sobre os efeitos do SARS-CoV-2 nos pulmões e outros órgãos. O estudo foi uma das primeiras publicações a relatar as consequências patológicas da COVID-19 nos pulmões, tornando-o uma referência importante para pesquisadores e profissionais de saúde em todo o mundo, que estavam tentando entender os mecanismos de evolução da doença e como tratá-la adequadamente⁶⁷.

Dentre os pontos fortes do artigo de Xu et al. (2020) incluem a profundidade da análise patológica, a ligação entre achados histopatológicos e manifestações clínicas, a robustez do método de estudo, e a relevância clínica das descobertas⁶⁷.

Um outro estudo publicado por Huang et al. (2020), apresentou uma das primeiras e mais completas descrições clínicas dos pacientes infectados pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) em Wuhan, China, durante os estágios iniciais da pandemia.

Um dos principais pontos fortes deste estudo é a abrangência das características clínicas relatadas, descrevendo uma variedade de aspectos clínicos importantes da infecção por SARS-CoV-2, incluindo sintomas iniciais, progressão da doença, complicações e desfechos. A análise detalha tanto os casos leves quanto os graves, com foco especial nas características dos pacientes que apresentaram formas mais severas da doença. Os achados clínicos, como febre, tosse, fadiga e dificuldades respiratórias, foram alguns dos sintomas mais prevalentes, enquanto complicações como insuficiência respiratória aguda, pneumonia e SDRA (síndrome do desconforto respiratório agudo) foram observadas em pacientes graves. Isso proporcionou uma visão completa das manifestações clínicas, essencial para médicos e pesquisadores⁶⁸.

O estudo incluiu uma amostra de 41 pacientes com diagnóstico confirmado de COVID-19, o que forneceu dados significativos e representativos sobre os casos iniciais da doença. A diversidade na amostra, abrangendo pacientes com diferentes faixas etárias, comorbidades e níveis de gravidade da doença, permite uma análise mais completa e confiável das características clínicas associadas à infecção pelo SARS-CoV-2.

Esta pesquisa foi pioneira na descrição das características clínicas do COVID-19, fornecendo informações cruciais que ajudaram a identificar os sinais precoces de gravidade da doença. A descrição da progressão clínica de casos leves a graves foi fundamental na implementação de estratégias de triagem, diagnóstico e manejo, influenciando diretamente o tratamento de pacientes e ajudando os profissionais de saúde a priorizarem cuidados para os casos mais críticos. Os autores apresentaram uma valiosa contribuição para a compreensão da fisiopatologia do COVID-19 e os fatores associados ao prognóstico.

A análise das complicações mais graves, como a insuficiência respiratória e a necessidade de ventilação mecânica, ajudou a identificar os fatores de risco, como idade avançada e comorbidades (hipertensão, diabetes, doenças cardíacas, entre outras), que estavam fortemente associados a um pior desfecho. Este tipo de informação foi fundamental para ajudar os profissionais de saúde a preverem a gravidade da infecção e tomar decisões clínicas mais informadas.

Além disso, estes dados ajudaram a informar políticas de saúde pública e protocolos de tratamento durante os estágios iniciais da pandemia. No contexto do diagnóstico e tratamento, esta pesquisa foi fundamental na identificação precoce da doença, pois descreveu os sintomas e sinais clínicos que permitiram distinguir o COVID-19 de outras infecções respiratórias. Além disso, forneceu informações sobre os testes laboratoriais usados para confirmar a infecção, como a RT-PCR, que se tornaram o padrão-ouro no diagnóstico da doença. Também foram discutidas as estratégias de tratamento usadas na época, incluindo ventilação assistida e suporte respiratório, o que ajudou a orientar os médicos em outros países em termos de abordagem terapêutica para os casos graves⁶⁸.

Em relação ao desenvolvimento de estratégias de contenção e prevenção da doença, de acordo com este estudo foi possível a adoção de medidas de contenção e prevenção. A observação de que muitos pacientes tinham comorbidades sublinhou a importância de estratégias de proteção para grupos de risco, como idosos e pessoas com doenças crônicas. Esse achado foi um indicativo de que as políticas de distanciamento social e as medidas de controle de infecção deveriam priorizar essas populações vulneráveis, influenciando diretamente as orientações de saúde pública.

Outro ponto forte do estudo foi a análise da ocorrência de SDRA em pacientes infectados com COVID-19, um fator importante de morbidade e mortalidade, o que reforçou a necessidade de vigilância intensiva para identificar precocemente casos de falência respiratória e a implementação de intervenções, como ventilação mecânica. Essa contribuição foi essencial para a abordagem terapêutica na gestão de pacientes críticos⁶⁸.

Em relação às alterações específicas no tecido pulmonar de pacientes com COVID-19, a literatura científica mundial destaca que o estudo histopatológico de tecidos pulmonares de pacientes falecidos por COVID-19 mostra um perfil inflamatório altamente ativo. Em muitos casos, observa-se o envolvimento significativo do interstício pulmonar, com extensa infiltração de células inflamatórias, incluindo macrófagos e linfócitos T, além de neutrófilos nas vias aéreas e nos alvéolos. Este perfil inflamatório intenso no tecido pulmonar também foi observado nas análises histopatológicas realizadas neste estudo de acordo com as Figuras 1,2,3,4 e 5.

O aumento da permeabilidade vascular resulta na formação de edema pulmonar, que agrava a hipoxemia e contribui para a progressão para insuficiência respiratória. Outro achado importante é a formação de trombos nos pequenos vasos pulmonares, o que pode levar à tromboembolismo pulmonar, uma complicação frequente nos casos graves. Isso ocorre em grande parte devido à disfunção endotelial induzida pela infecção viral, que contribui para o aumento da formação de coágulos e da microangiopatia^{69,70}.

No estudo de Baron e Smith (2020), foi mostrado uma análise detalhada dos achados autópsicos de pacientes falecidos devido à COVID-19. O estudo apresenta uma contribuição significativa para a compreensão dos mecanismos patológicos da infecção, especialmente em relação aos efeitos do SARS-CoV-2 nos pulmões e seus impactos na função respiratória⁶⁹.

Um dos principais pontos fortes do estudo foi o uso de autópsias para investigar os efeitos da COVID-19 no sistema respiratório. O exame direto dos tecidos pulmonares permitiu uma análise profunda das lesões e alterações patológicas causadas pela infecção viral. Através das autópsias foi possível avaliar as consequências da infecção em estágios avançados, revelando detalhes que podem não ser visíveis em exames clínicos convencionais, como tomografias ou radiografias. Ao estudar os pulmões de pacientes falecidos pela contaminação com o COVID-19 é possível ter uma visão mais precisa da gravidade das lesões pulmonares e de como o vírus afeta a estrutura e a função dos pulmões, contribuindo significativamente para o entendimento da fisiopatologia da COVID-19⁶⁹.

Os autores Baron e Smith (2020), descrevem minuciosamente as alterações patológicas observadas nos pulmões dos pacientes autopsiados, incluindo edema pulmonar, infiltração de células inflamatórias (como neutrófilos e linfócitos), necrose alveolar e fibrina nos alvéolos⁶⁹.

Estes achados também foram observados neste estudo que identificou extenso infiltrado inflamatório, com áreas trombosadas e fibrose no tecido. Destaca-se que neste estudo também foi utilizada a mesma técnica de autópsia empregada pelos autores Baron e Smith (2020).

Estes achados são consistentes com o quadro de SDRA, um dos principais fatores que contribuem para a insuficiência respiratória em pacientes graves. Também foi observado trombose microvascular nos pulmões, um achado importante que se associa à disfunção endotelial, um dos fenômenos patológicos frequentemente descritos em infecções graves por COVID-19. Essa descrição detalhada ajuda a esclarecer como a COVID-19 pode levar a danos pulmonares graves⁶⁹.

A partir dos achados autópsicos, os autores discutem como a lesão pulmonar causada pela COVID-19 pode levar à falência respiratória. A presença de lesões alveolares, aumento da permeabilidade capilar e formação de trombos nos vasos pulmonares sugere que a infecção pode causar uma combinação de inflamação, obstrução vascular e hipoxia. Essas descobertas são cruciais para entender os mecanismos que subjazem à insuficiência respiratória em pacientes com COVID-19 grave.

As análises do estudo também são importantes para orientar terapias direcionadas, como o uso de anticoagulantes para combater a trombose microvascular, ou o uso de corticosteroides e outros anti-inflamatórios para modular a resposta inflamatória exacerbada⁶⁹.

Esta pesquisa chama a atenção para a importância de um diagnóstico precoce e da monitorização contínua em pacientes críticos, dado que as complicações pulmonares podem evoluir rapidamente para uma insuficiência respiratória irreversível. O estudo reforça a necessidade de estratégias terapêuticas inovadoras baseadas nos achados patológicos, ajudando os profissionais de saúde a tomar decisões mais embasadas⁶⁹.

Durante os estágios iniciais da pandemia, os dados sobre a patologia do SARS-CoV-2 ainda estavam em desenvolvimento. O estudo autópsico de Baron e Smith contribuiu substancialmente para o entendimento da doença, especialmente no que se refere aos efeitos pulmonares e à progressão da doença. Essa contribuição ajudou a preencher lacunas no conhecimento sobre os mecanismos de dano pulmonar e forneceu uma base sólida para outras pesquisas na área⁶⁹.

Um dos achados mais importantes do estudo de Baron e Smith (2020), foi a ênfase na trombose microvascular e na disfunção endotelial. A formação de coágulos nos pequenos vasos pulmonares tem sido associada a um risco elevado de complicações graves, como o tromboembolismo pulmonar, que é um fator contribuinte importante na mortalidade por COVID-19. Os autores destacam a importância de identificar esses problemas precocemente para iniciar o tratamento adequado, como a profilaxia anticoagulante, visando reduzir o risco de complicações tromboembólicas⁶⁹.

O estudo também teve um impacto direto nas práticas de cuidados intensivos, particularmente em unidades de terapia intensiva (UTIs). A descrição das alterações patológicas e suas correlações com os sintomas clínicos ajudaram as equipes médicas a identificarem os sinais de progressão para quadros mais graves, como a SDRA, e a ajustar o manejo dos pacientes de acordo com as necessidades específicas de ventilação e suporte respiratório⁶⁹.

Os principais pontos fortes do estudo de Baron e Smith (2020) incluem a profundidade e a precisão na descrição das alterações patológicas pulmonares observadas nas autópsias de pacientes falecidos por COVID-19, com ênfase em lesões alveolares, inflamação, e trombose microvascular. A análise dessas lesões forneceu uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da doença, particularmente os fatores que contribuem para a falência respiratória. Além disso, o estudo teve um impacto significativo nas estratégias clínicas, auxiliando no desenvolvimento de terapias e intervenções direcionadas, como anticoagulação e modulação da resposta inflamatória⁶⁹.

Beck e McIntyre (2020), abordaram os achados patológicos de pacientes vindos a óbitos devido à COVID-19, com ênfase nas investigações autópsicas mostrando uma visão detalhada dos efeitos do SARS-CoV-2 nos órgãos vitais. Os autores utilizaram as autópsias como ferramenta para entender a progressão da COVID-19 e suas consequências. Ao realizar exames post-mortem, foi possível identificar diretamente as causas de óbitos e demonstrar de forma detalhada as alterações patológicas nos órgãos comprometidos, especialmente os pulmões, mas também o coração, rins, fígado e outros órgãos⁷⁰. A estratégia de investigação adotada pelos autores foi a mesma utilizada neste estudo.

Neste estudo, o uso de autópsias proporcionou uma visão detalhada da doença em estágio avançado, algo que os exames clínicos e radiológicos não revelam com a mesma precisão, permitindo aos pesquisadores observarem lesões não detectáveis de outra forma, como microtrombose, inflamação e danos celulares, com base nas quais podem ser formuladas estratégias de tratamento mais eficazes. Os autores realizaram uma análise aprofundada das alterações patológicas nos órgãos dos pacientes, com destaque para os pulmões. O estudo identificou características típicas da COVID-19 grave, como o comprometimento alveolar e a SDRA. Além disso, observou-se a formação de microtrombos nas pequenas vias vasculares pulmonares, o que é um achado importante para entender o impacto do SARS-CoV-2 no sistema cardiovascular e como a trombose microvascular contribui para a falência respiratória⁷⁰.

Os resultados deste estudo contribuíram para o esclarecimento de como a resposta inflamatória exacerbada associada à COVID-19 pode levar a complicações graves, como hipoxemia severa e falência de múltiplos órgãos. O estudo fornece uma base sólida para o desenvolvimento de terapias direcionadas, como anticoagulação e imunomodulação. Os autores estabeleceram uma ligação entre as lesões observadas nos tecidos e os sinais clínicos relatados, como dificuldade respiratória, insuficiência respiratória e disfunção orgânica múltipla.

Essa análise permitiu que os profissionais de saúde compreendam melhor os mecanismos por trás da evolução clínica da doença e forneçam uma base para estratégias de diagnóstico precoce e intervenção terapêutica. Ao descrever como as lesões pulmonares, os coágulos e a inflamação comprometem a função ventilatória, foi possível entender por que os pacientes com COVID-19 grave muitas vezes necessitam de ventilação mecânica e outros suportes respiratórios.

Os fatores prognósticos associados à morte de pacientes com COVID-19 também foram investigados revelando que a presença de comorbidades, como doenças cardiovasculares, diabetes e hipertensão arterial sistêmica, podem agravar o quadro e levar a uma evolução mais rápida para a falência respiratória⁷⁰.

Além disso, os achados indicam que a infecção viral contribui para a formação de trombos, o que aumenta o risco de complicações graves como a embolia pulmonar. A identificação destes fatores prognósticos é de suma importância para a gestão clínica da doença, pois permite que os profissionais de saúde priorizem cuidados para os pacientes em risco de complicações fatais e apliquem tratamentos mais adequados para mitigar esses riscos⁷⁰.

Os autores sugeriram que a identificação precoce da trombose microvascular e do edema pulmonar pode ajudar a direcionar a utilização de anticoagulantes e outras intervenções terapêuticas. Além disso, os achados inflamatórios podem justificar o uso de imunomoduladores ou anti-inflamatórios, como corticosteroides, para tentar controlar a tempestade de citocinas associada à COVID-19 grave⁷⁰.

Os principais pontos fortes do estudo de Beck e McIntyre (2020) incluem a análise detalhada dos achados autópsicos e sua correlação com os sintomas clínicos e evolução da doença. A pesquisa é um recurso crucial para entender os mecanismos patológicos da COVID-19, fornecendo insights importantes sobre a trombose microvascular, o edema pulmonar e os danos inflamatórios, que podem ajudar a informar melhores estratégias terapêuticas⁷⁰. Estes achados também foram observados neste estudo, de acordo com as Figuras 5 e 6.

O entendimento do perfil inflamatório nos pulmões de pacientes com COVID-19 grave tem várias implicações clínicas e terapêuticas. A "tempestade de citocinas" observada pode ser tratada com agentes imunomoduladores, como os inibidores de IL-6 (tocilizumabe), que têm mostrado benefícios em alguns estudos. Além disso, estratégias para reduzir a trombose, como a profilaxia anticoagulante precoce, têm se mostrado essenciais no manejo dos pacientes críticos. Outro ponto importante na prática clínica de pacientes acometidos por COVID-19 é a potencial aplicação de terapias antivirais que possam reduzir a carga viral e, conseqüentemente, reduzir a resposta inflamatória no tecido pulmonar. O uso de medicamentos que modulam a resposta imune pode também ajudar a controlar a evolução da doença, diminuindo as complicações pulmonares^{71,72}.

Shen et al. (2020), descreveram o uso do Tocilizumab, um anticorpo monoclonal que inibe a interleucina-6 (IL-6), em pacientes graves com COVID-19. O estudo é um dos primeiros a investigar a eficácia desse tratamento em uma população crítica e oferece contribuições valiosas para o entendimento do manejo terapêutico da doença⁷¹. O estudo focou no Tocilizumab, que age como um inibidor da IL-6, uma citocina inflamatória que desempenha um papel central na resposta imunológica exacerbada observada na COVID-19, especialmente na chamada "tempestade de citocinas", um dos principais fatores de complicação e mortalidade⁷¹.

A escolha do Tocilizumab foi fundamentada na observação de que os pacientes com COVID-19 grave frequentemente apresentam níveis elevados de IL-6. A "tempestade de citocinas" é um fenômeno patológico importante associado à COVID-19 grave, no qual ocorre uma liberação excessiva de citocinas inflamatórias, como a IL-6, que resulta em inflamação generalizada e dano tecidual, particularmente nos pulmões, causando complicações como SDRA. O Tocilizumab atenua a resposta inflamatória excessiva, podendo ser utilizado no controle desta resposta imune desregulada, resultando em uma diminuição da gravidade da doença, evitando ou tratando complicações graves como a falência respiratória⁷¹.

Todos os pacientes deste estudo, tratados com Tocilizumab apresentaram uma melhora clínica significativa, com redução da febre e melhora na oxigenação. A resposta clínica favorável observada sugere que o tratamento pode ser eficaz na modulação da resposta inflamatória e no alívio de sintomas graves. Mesmo com a amostra limitada, os resultados indicaram um possível benefício clínico, ajudando a estabelecer a base para investigações posteriores com um número maior de pacientes, bem como estudos controlados para confirmar a eficácia do Tocilizumab no tratamento da COVID-19⁷¹.

Os autores também destacam a importância de terapias personalizadas, com base no perfil inflamatório do paciente. A avaliação da IL-6, entre outras citocinas, pode ajudar a identificar pacientes que são mais propensos a se beneficiar do Tocilizumab e de outras terapias imunológicas. Esse ponto é importante para a medicina de precisão, onde o tratamento é adaptado ao quadro individual de cada paciente, potencializando os efeitos terapêuticos e minimizando os riscos⁷¹.

Iba, Levy e Warkentin (2020), abordaram um dos aspectos mais críticos e complexos da COVID-19, a coagulopatia associada à infecção pelo SARS-CoV-2. A coagulopatia é uma complicação comum em pacientes com COVID-19 grave, com manifestações clínicas que variam de trombose venosa profunda (TVP) a embolia pulmonar (EP), e, em muitos casos, contribui para a morte do paciente. De acordo com os autores, a coagulopatia é uma complicação significativa e, frequentemente, subdiagnosticada em pacientes com COVID-19, especialmente nos casos críticos que exigem suporte intensivo.

Os autores apresentaram como a resposta inflamatória exacerbada, a ativação do sistema imune e o dano endotelial promovem um estado pró-trombótico nestes pacientes, onde o papel da inflamação sistêmica e a interação entre o vírus e as células endoteliais são destacados, explicando como a resposta inflamatória excessiva leva à disfunção endotelial, à ativação da coagulação e ao consumo de plaquetas, contribuindo para a formação de microtrombos e trombose em diversos órgãos⁷².

A explicação dos mecanismos moleculares e celulares, como a ativação do fator Xa, a formação de trombina e o aumento da produção de fibrina, é uma contribuição significativa, pois esclarece como a coagulopatia é um aspecto central das complicações graves da COVID-19⁷². A discussão sobre como a coagulopatia está associada a complicações como tromboembolismo pulmonar, infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico (AVE) é de grande importância para os clínicos⁷².

Iba, Levy e Warkentin (2020), abordaram de forma clara como a trombose venosa e as embolias são comuns em pacientes com COVID-19 grave, e como os níveis elevados de D-dímero, um marcador de ativação fibrinolítica, estão frequentemente associados a uma pior evolução clínica e aumento da mortalidade. De acordo com os autores, a conexão direta entre a alteração dos parâmetros laboratoriais (como o aumento dos níveis de D-dímero, fibrinogênio e plaquetas) e as complicações clínicas facilita a identificação precoce de pacientes em risco, crucial para uma gestão eficaz⁷².

Um dos pontos mais valiosos deste estudo é a discussão sobre as abordagens terapêuticas para lidar com a coagulopatia em pacientes com COVID-19. Os autores discutem o papel da anticoagulação, com destaque para o uso de heparina de baixo peso molecular (HBPM) e anticoagulantes orais diretos, além da importância de monitorar os parâmetros de coagulação, como o tempo de protrombina e o índice internacional normalizado. O estudo propõe uma abordagem prática na prevenção e tratamento da trombose em pacientes críticos, abordando as dosagens e a duração do tratamento anticoagulante⁷².

De acordo com Iba, Levy e Warkentin (2020), a análise detalhada dos parâmetros laboratoriais, como os níveis de fibrinogênio, plaquetas, e a alteração dos tempos de coagulação, oferece uma base sólida para a monitorização dos pacientes com COVID-19 grave. Isso é de extrema importância, pois permite a identificação precoce de anomalias na coagulação, ajudando a direcionar tratamentos específicos e ajustar o manejo terapêutico de maneira mais eficaz. A compreensão das alterações hematológicas não só melhora o manejo clínico individual, mas também fornece dados cruciais para pesquisas futuras sobre a coagulação na COVID-19.

Os estudos sobre o perfil inflamatório no tecido pulmonar de pacientes que faleceram por COVID-19 revelam um quadro de resposta imune desregulada, com exacerbada inflamação e trombose microvascular, fatores que estão intimamente ligados à gravidade da doença. O comportamento do sistema imunológico, exacerbado pela infecção viral, faz com que o tecido pulmonar sofra danos irreversíveis, levando à insuficiência respiratória e, muitas vezes, ao óbito. Além disso, as observações histopatológicas sugerem que a inflamação crônica pode resultar em fibrose pulmonar, o que gera uma resposta patológica de longo prazo que afeta a capacidade pulmonar dos sobreviventes da doença⁶⁸⁻⁷².

O perfil inflamatório observado nos pulmões de pacientes com COVID-19 que evoluem para óbito fornece uma importante visão sobre os mecanismos fisiopatológicos que determinam a gravidade da doença e o desenvolvimento de complicações fatais^{73,74}. As investigações contínuas desses perfis inflamatórios são cruciais para o aprimoramento das terapias antivirais e imunomoduladoras, bem como para estratégias de prevenção e tratamento que possam reduzir a mortalidade associada à COVID-19.

O estudo de Carsana et al. (2020), apresenta uma análise detalhada das descobertas pulmonares em autópsias de pacientes que faleceram devido à COVID-19 na região norte da Itália. Este estudo tem grande relevância para o entendimento da patologia pulmonar associada à COVID-19 e seus efeitos no sistema respiratório⁷³. Carsana et al. foram um dos primeiros a realizarem uma análise post-mortem detalhada dos pulmões de pacientes que faleceram por COVID-19. Através dessa abordagem, o estudo oferece uma visão aprofundada das alterações pulmonares que ocorrem no contexto da COVID-19, incluindo infiltração inflamatória, lesões alveolares, trombose microvascular e formação de membranas hialinas, entre outros achados. Esses achados são essenciais para compreender como o vírus compromete os pulmões em níveis estruturais e funcionais⁷³. Os achados deste estudo incluem lesões nos alvéolos pulmonares, fibrose intersticial e trombose microvascular, que são características da resposta inflamatória exacerbada induzida pelo SARS-CoV-2. A técnica de análise pós-mortem utilizada na pesquisa de Carsana et al. também foi empregada neste estudo e, os achados patológicos coincidem.

A presença de microtrombos e trombose em pequenos vasos pulmonares é um dos achados mais notáveis do estudo, o que contribui para o entendimento das complicações tromboembólicas associadas à doença e explica, em parte, a hipoxemia e o agravamento das condições respiratórias nos pacientes graves. A descrição detalhada das lesões pulmonares e suas implicações para a oxigenação e ventilação pulmonar fornece insights valiosos para os profissionais de saúde no manejo clínico de pacientes com COVID-19 grave. A análise histopatológica também ajuda a esclarecer por que alguns pacientes apresentam uma evolução tão agressiva da doença, com falência respiratória progressiva⁷³.

Um dos pontos fortes do estudo é a ênfase na inflamação pulmonar como um dos principais mecanismos patológicos da COVID-19. A inflamação exacerbada nos pulmões, caracterizada pela infiltração de células inflamatórias, como linfócitos, neutrófilos e macrófagos, é um dos achados recorrentes. O estudo também discute a relação entre a inflamação e a formação de membranas hialinas, que são uma característica comum na SDRA, uma complicação frequente da COVID-19. A descrição de como a inflamação e o dano celular comprometem a função pulmonar contribui para o entendimento do quadro clínico observado, incluindo a dificuldade de oxigenação e a necessidade de ventilação mecânica⁷³.

Esta pesquisa foi realizada em dois centros médicos diferentes, o que aumenta a robustez dos achados, garantindo uma amostra mais representativa de pacientes com diferentes características demográficas e clínicas. Isso confere maior validade externa aos resultados, permitindo que as conclusões possam ser aplicadas a uma população mais ampla. Além disso, o fato de o estudo ter sido realizado em um cenário altamente impactado pela pandemia (norte da Itália) dá uma perspectiva realista da gravidade da COVID-19 e dos desafios enfrentados pelos profissionais de saúde⁷³.

Ao fornecer um panorama detalhado das alterações pulmonares, o estudo contribui para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes para os pacientes com COVID-19 grave.

A identificação de trombose microvascular nos pulmões e o impacto da inflamação nos tecidos respiratórios ajudam a orientar o uso de terapias anticoagulantes e anti-inflamatórias, além de influenciar a forma como os médicos abordam o suporte respiratório. As evidências do estudo podem também embasar futuras investigações sobre tratamentos mais direcionados a essas complicações⁷³.

O estudo também toca na questão dos fatores prognósticos, ao observar como a presença de certos tipos de lesões pulmonares, como a formação de trombos e a fibrose, se correlaciona com a gravidade e a evolução clínica dos pacientes. O reconhecimento precoce desses fatores pode ajudar os profissionais de saúde a identificarem os pacientes com maior risco de complicações graves e morte. A identificação desses fatores pode levar a decisões terapêuticas mais direcionadas e a melhor gestão dos pacientes na UTI.

A análise post-mortem de pulmões de pacientes com COVID-19 contribui também para o desenvolvimento de modelos experimentais e de doença mais realistas. Compreender as alterações pulmonares em nível histológico ajuda a criar modelos experimentais mais precisos para testar terapias e tratamentos em estágios iniciais da doença, em modelos animais ou in vitro, o que pode acelerar o progresso da pesquisa científica.

O estudo de Sligl e Marr (2020), revisita as descobertas patológicas post-mortem em pacientes que faleceram devido à COVID-19, com foco nas alterações clínicas e histopatológicas observadas durante as autópsias. Este estudo é relevante para os profissionais de saúde, oferecendo uma visão abrangente sobre os efeitos da infecção por SARS-CoV-2 nos órgãos vitais, especialmente do sistema respiratório⁷⁴.

Sligl e Marr (2020) apresentaram uma abordagem abrangente das descobertas post-mortem em pacientes com COVID-19 não se concentrando em um único estudo ou grupo de pacientes, realizando uma revisão de diversos achados patológicos de diferentes centros e publicações, proporcionando uma visão global sobre as consequências da infecção pelo SARS-CoV-2.

Esta revisão incluiu uma variedade de informações sobre os efeitos da doença nos pulmões, coração, fígado, rins e outros órgãos, o que permite um entendimento mais holístico da doença⁷⁴.

Os autores detalham as principais lesões pulmonares observadas nas autópsias de pacientes com COVID-19, como infiltração inflamatória, edema pulmonar, SDRA e lesões de tipo DAD (dano alveolar difuso). Essas informações são essenciais no entendimento da fisiopatologia da COVID-19 e explicação de como a infecção viral pode levar a falência respiratória grave, que é uma das principais causas de morte. O estudo também enfatiza a importância da resposta inflamatória exacerbada e do desequilíbrio na coagulação, que pode contribuir para o agravamento das condições respiratórias⁷⁴.

O estudo aborda em profundidade a coagulopatia associada à COVID-19, um dos aspectos mais críticos da doença, com a formação de trombos em vasos pulmonares, arteriais e venosos. De acordo com os autores, a identificação de trombose em autópsias de pacientes com COVID-19, incluindo microtrombos nos pulmões e outros órgãos, é um achado importante que ajuda a entender as complicações vasculares graves da doença. A presença de trombos pode contribuir para a hipoxemia, falência múltipla de órgãos e, em última instância, a morte. A pesquisa fornece uma base importante para o uso de anticoagulantes e para o monitoramento de complicações tromboembólicas em pacientes com COVID-19.

A pesquisa destaca a relevância das autópsias para o avanço do conhecimento sobre a patologia da COVID-19. Apesar de muitas vezes subestimadas, as autópsias fornecem informações cruciais sobre a verdadeira extensão dos danos causados pela infecção⁷⁴.

A revisão realizada por Sligl e Marr (2020), discute como a realização de autópsias pode esclarecer as complicações que não são facilmente detectadas em exames clínicos ou laboratoriais. Isso ajuda os profissionais de saúde a identificar complicações não reconhecidas anteriormente e a melhorar os métodos de diagnóstico e tratamento em pacientes vivos⁷⁴.

Uma das principais contribuições do estudo é a aplicação dos achados das autópsias para o manejo clínico dos pacientes com COVID-19. A compreensão das alterações pulmonares, cardíacas e vasculares observadas nas autópsias pode ajudar os médicos a tomar decisões mais informadas sobre o tratamento e a monitorização dos pacientes. Por exemplo, a identificação de trombose e inflamação nos pulmões pode levar à implementação mais eficaz de estratégias anticoagulantes e ao uso de ventilação mecânica, além de influenciar o uso de anti-inflamatórios⁷⁴.

Os autores também discutem a variabilidade nos achados post-mortem entre os pacientes, o que é um ponto relevante para a compreensão das diferentes formas de manifestação da COVID-19, observando que enquanto alguns pacientes apresentam apenas lesões pulmonares leves, outros mostram danos multiorgânicos significativos. Essa variabilidade destaca a importância de uma abordagem personalizada no tratamento e o potencial de evolução clínica de cada paciente. O reconhecimento de que a doença pode ter diferentes apresentações em termos de gravidade e extensão dos danos é fundamental para os profissionais de saúde⁷⁴.

Outro ponto forte do artigo é a forma como ele abre caminho para futuras investigações sobre as implicações patológicas da COVID-19. A análise das autópsias é um ponto de partida para a criação de modelos experimentais mais precisos, que podem ser utilizados para testar terapias e entender melhor os mecanismos biológicos por trás da doença. Esse estudo pode também direcionar novas pesquisas sobre os efeitos de tratamentos farmacológicos, como antivirais, anti-inflamatórios e anticoagulantes, nos tecidos afetados⁷⁴.

Destacando a importância para o diagnóstico post-mortem, este estudo contribui significativamente para o aprimoramento dos protocolos de autópsia em casos de COVID-19. Através da análise dos métodos de investigação patológica, o estudo sugere que a coleta de amostras para exame detalhado deve ser uma prática comum em casos de falecimento devido à COVID-19, especialmente em pacientes com condições graves e complicações multifacetadas.

Esses protocolos podem ser importantes para a padronização do diagnóstico post-mortem, além de orientar as investigações de outros casos graves ou incomuns. Embora os autores não abordem diretamente as implicações psicológicas e éticas, ele fornece uma base importante para discussões sobre o valor das autópsias durante uma pandemia. Em muitas situações, as autópsias podem ser desafiadoras em termos de consentimento e preocupações dos familiares. O estudo suscita o diálogo para uma reflexão sobre como essas práticas podem ser conduzidas de maneira ética e respeitosa, ao mesmo tempo que promovem o avanço do conhecimento médico e científico⁷⁴.

6. Considerações finais

A inflamação pulmonar aguda causada pela infecção pelo SARS-CoV-2 tem um impacto significativo na função pulmonar e na qualidade de vida dos pacientes, tanto durante a fase aguda quanto no período pós-COVID, também conhecido como COVID longa ou síndrome pós-COVID. Especialmente em casos graves, como a SDRA, essa inflamação resulta em alterações patológicas nos pulmões, como formação de edema pulmonar, DAD, fibrose pulmonar e disfunção endotelial, comprometendo a capacidade ventilatória e resultando em consequências de longo prazo.

Esses danos difusos podem levar a uma redução significativa da função pulmonar e à persistência de sintomas debilitantes, como falta de ar, fadiga e dificuldade para realizar atividades cotidianas, mesmo após a resolução clínica da infecção.

A inflamação pulmonar desencadeada pelo SARS-CoV-2 compromete diretamente os pulmões, comprometendo a troca gasosa e, conseqüentemente, a função respiratória, com impacto duradouro na qualidade de vida dos pacientes pós-COVID. A infecção por COVID-19 provoca uma resposta imunológica exacerbada, desencadeando uma cascata inflamatória com a participação de neutrófilos, linfócitos T e macrófagos, que contribuem para o processo inflamatório no pulmão.

O DAD, caracterizado pela destruição das células alveolares e pela formação de membranas hialinas, é uma manifestação comum dessa inflamação intensa^{67,73}. Além disso, a coagulopatia associada ao COVID-19 gera microtrombos nos pulmões, agravando a hipóxia e a insuficiência respiratória. O efeito combinado desses fatores compromete a função pulmonar, reduzindo a eficiência das trocas gasosas, resultando em hipoxemia e insuficiência respiratória^{67,73}.

A inflamação pulmonar causada pelo COVID-19 pode provocar danos estruturais nos pulmões, como fibrose pulmonar e redução da capacidade vital pulmonar, levando a sequelas respiratórias persistentes que comprometem a qualidade de vida. Os pacientes que sobrevivem à fase aguda da doença frequentemente apresentam dispneia, tosse crônica e fadiga, sintomas indicativos de comprometimento da função pulmonar. Alguns estudos mostraram uma redução da capacidade de difusão pulmonar e do volume expiratório forçado (FEV1), em decorrência da cicatrização do tecido pulmonar, sugerindo o desenvolvimento de fibrose pulmonar^{68,72}.

Durante a fase aguda, especialmente em casos graves, a inflamação pulmonar pode causar hipoxemia devido ao comprometimento dos alvéolos em realizar a troca gasosa, agravada pelo recrutamento de células inflamatórias, fibrose intersticial e trombose microvascular. Essas condições resultam em redução da capacidade pulmonar e necessidade de ventilação mecânica em casos de SDRA grave^{68,73}.

Mesmo após a recuperação clínica, essas alterações estruturais podem levar à redução permanente da função pulmonar, observada por meio de testes como a espirometria. As sequelas podem persistir por meses ou anos, dependendo da gravidade da doença e das comorbidades associadas^{68,73}. A reabilitação pulmonar é uma estratégia terapêutica essencial para melhorar a função pulmonar e a qualidade de vida de pacientes pós-COVID, especialmente daqueles que enfrentaram hospitalização prolongada, ventilação mecânica ou complicações pulmonares graves.

Esse processo inclui exercícios respiratórios, treinamento físico, fisioterapia e, em alguns casos, oxigenoterapia, ajudando a reduzir a falta de ar, melhorar a tolerância ao esforço físico e acelerar a recuperação funcional.

Estudos como o de Piquet et al. (2021) demonstram que pacientes pós-COVID que participaram de programas de reabilitação pulmonar apresentaram melhorias significativas na função pulmonar, na capacidade de exercício e na qualidade de vida. Apesar de a recuperação ser lenta e desafiadora para muitos, as intervenções oferecidas pelos Programas de Reabilitação Pulmonar são fundamentais para minimizar sintomas persistentes, aumentar a resistência física e permitir que os pacientes retomem suas atividades diárias, promovendo um bem-estar geral mais elevado⁷⁵.

Além das sequelas respiratórias, a inflamação pulmonar aguda causada pela COVID-19 e as complicações subsequentes têm um impacto psicossocial significativo, agravado pela presença de comorbidades como doenças cardiovasculares, diabetes e hipertensão. A falta de ar crônica, a fadiga e a incapacidade de retomar atividades cotidianas frequentemente levam a sentimentos de frustração, isolamento social e transtornos psicológicos, como ansiedade, depressão e estresse pós-traumático, reduzindo ainda mais a qualidade de vida⁷⁶.

As comorbidades preexistentes tornam os pulmões mais vulneráveis a lesões adicionais, aumentam o risco de complicações e prolongam o tempo de recuperação, além de aumentar a probabilidade de desenvolvimento de fibrose pulmonar, o que acarreta perda significativa da função pulmonar e maior impacto físico e emocional nos pacientes⁷⁶.

O manejo de pacientes pós-COVID envolve uma avaliação contínua da função pulmonar para identificar e tratar complicações, como fibrose pulmonar, hipertensão pulmonar e deficiência respiratória, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida. A monitorização regular por meio de espirometria e outros testes de função pulmonar permite a detecção precoce de problemas e a implementação de tratamentos apropriados, incluindo o uso de anti-inflamatórios, corticosteroides, broncodilatadores e terapias específicas para controlar a fibrose pulmonar.

Além disso, estratégias de suporte respiratório durante a fase aguda, combinadas com reabilitação pulmonar e física no período pós-COVID, desempenham um papel crucial na recuperação da capacidade funcional. Essas intervenções integradas são fundamentais para mitigar os efeitos a longo prazo da inflamação pulmonar e permitir o retorno às atividades cotidianas com uma melhor qualidade de vida^{71,72}.

Em resumo, a inflamação pulmonar aguda causada pela infecção por COVID-19 tem um impacto substancial e duradouro na função pulmonar e na qualidade de vida dos pacientes, tanto no curto quanto no longo prazo. Lesões pulmonares graves, como fibrose pulmonar, hipoxemia e trombose microvascular, podem resultar em insuficiência respiratória persistente, afetando a capacidade dos pacientes de realizar atividades cotidianas e comprometendo seu bem-estar geral.

O manejo adequado da inflamação pulmonar, a reabilitação pulmonar e o monitoramento contínuo da função respiratória são fundamentais para a recuperação e a melhora da qualidade de vida dos pacientes pós-COVID. Além disso, uma abordagem multidisciplinar, que inclua apoio psicológico, é essencial para tratar os aspectos psicossociais dessa condição debilitante, promovendo a recuperação física e emocional dos pacientes e ajudando-os a retomar uma vida normal.

7. Conclusão

Com a realização deste estudo foi possível identificar através das técnicas de imuno-histoquímica o perfil inflamatório em tecidos pulmonares obtidos de pacientes que vieram a óbito, diagnosticados com COVID-19 identificando extensas áreas de infiltrado inflamatório, com a formação de trombos nos vasos e grande presença de tecido com fibrinas. Também foi possível concluir que a biopsia minimamente invasiva é uma técnica, segura, rápida e eficaz para obtenção de amostras de tecidos em pacientes que apresentam alto risco de contaminação.

Referências bibliográficas

1. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID 19) situation Report—101. Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200430-sitrep-101-covid-19.pdf?sfvrsn=2ba4e093_2 (accessed 1 May 2020).
2. Zhou F, Yu T, Du R et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020; 395; 1054–1062.
3. Ministerio da Saude-Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico Especial—14|SE 18—26 de abril de 2020. Available at: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/April/27/2020-04-27-18-05h-BEE14-Boletim-do-COE.pdf> (accessed 29 April 2020).
4. Diagnosis and Treatment Plan for COVID-19\COVID-2019 (Trial Version 6). (Source: National Health Commission (NHC) of the PRC, General Office; National Administration of Traditional Chinese Medicine of the PRC, General Office). *Chinese Medical Journal*: March 17, 2020 - Volume Publish Ahead of Print - Issue - DOI: 10.1097/CM9.0000000000000819.
5. World Health Organization, Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report 46, 2020.
6. Sohrabi, C., Z. Alsafi, N. O'Neill, M. Khan, A. Kerwan, A. Al-Jabir, C. Iosifidis, and R. Agha, World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *Int J Surg*, 2020. 76: p. 71-76.
7. Guan, W.-j., Z.-y. Ni, Y. Hu, W.-h. Liang, C.-q. Ou, J.-x. He, L. Liu, H. Shan, C.-l. Lei, D.S.C. Hui, B. Du, L.-j. Li, G. Zeng, K.-Y. Yuen, R.-c. Chen, C.-l. Tang, T. Wang, P.-y. Chen, J. Xiang, S.-y. Li, J.-l. Wang, Z.-j. Liang, Y.-x. Peng, L. Wei, Y. Liu, Y.-h. Hu, P. Peng, J.-m. Wang, J.-y. Liu, Z. Chen, G. Li, Z.-j. Zheng, S.-q. Qiu, J. Luo, C.-j. Ye, S.-y. Zhu, and N.-s. Zhong, Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*, 2020.

8. Van Doremalen, N., T. Bushmaker, D.H. Morris, M.G. Holbrook, A. Gamble, B.N. Williamson, A. Tamin, J.L. Harcourt, N.J. Thornburg, S.I. Gerber, J.O. Lloyd-Smith, E. de Wit, and V.J. Munster, Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*, 2020.,
9. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [published online ahead of print, 2020 Jan 24]. *N Engl J Med* 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
10. Huang C , Wang Y , Li X , et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [published online ahead of print, 2020 Jan 24]. *Lancet* 2020 S0140-6736(20)30183-5.
11. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia [published online ahead of print, 2020 Jan 29]. *N Engl J Med* 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
12. N Chen, M Zhou, X Dong et al., Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. [published online ahead of print, 2020 Jan 29]. *Lancet*.
13. Lighter J, Phillips M, Hochman S et al. Obesity in patients younger than 60 years is a risk factor for Covid-19 hospital admission. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa415. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa415>
14. Wang W, Xu Y, Gao R et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA* 2020; 323; 1843 1844.
15. Chan J F, Yuan S, Kok K H, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster [published online ahead of print, 2020 Jan 24]. *Lancet* 2020 S0140-6736(20)30154-9.
16. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 Novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Feb 7. DOI: 10.1001/jama.2020.1585.
17. Chung M, Bernheim A, Mei X, Zhang N, Huang M, Zeng X, et al. CT imaging features of 2019 novel Coronavirus (2019-nCoV). *Radiology* 2020 Feb 4 [Epub]. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200230>.

18. Song F, Shi N, Shan F, Zhang Z, Shen J, Lu H, et al. Emerging coronavirus 2019-nCoV pneumonia. *Radiology* 2020 Feb 6 [Epub]. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200274>.
19. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed.* 2020 Mar 19;91(1):157-160. DOI: 10.23750/abm.v91i1.9397.
20. Pan F, Ye T, Sun P, Gui S, Liang B, Li L, et al. Time course of lung changes on chest CT during recovery from 2019 novel Coronavirus (COVID-19) pneumonia. *Radiology* 2020 Feb 13 [Epub]. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200370>.
21. Soon Ho Yoon, Kyung Hee Lee, Jin Yong Kim, Young Kyung Lee, Hongseok Ko, Ki Hwan Kim et al. Chest Radiographic and CT Findings of the 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Analysis of Nine Patients Treated in Korea. *Korean J Radiol* 2020;21(4):494-500.
22. Xu Z, Shi L, Wang Y et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir. Med.* 2020; 8; 420–422.
23. Yao XH, Li TY, He ZC et al. A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020; 49; 411–417.
24. Zhang H, Zhou P, Wei Y et al. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann. Intern. Med.* 2020; 172; 629–632.
25. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 2020; 395; 1417–1418.
26. Tian S, Xiong Y, Liu H et al. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through post-mortem core biopsies. *Mod. Pathol.* 2020; 33; 1007–1014.
27. Barton LM, Duval EJ, Stroberg E, Ghosh S, Mukhopadhyay S. COVID-19 autopsies, Oklahoma, USA. *Am. J. Clin. Pathol.* 2020; 153; 725–733.
28. Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2020; 15; 700–704.
29. Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Quincy Brown J, Vander Heide RS. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with

- COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir Med* 2020; S2213-2600(20) 30243-5.
30. Hanley B, Lucas SB, Youd E, Swift B, Osborn M. Autopsy in suspected COVID-19 cases. *J. Clin. Pathol.* 2020; 73; 239–242.
 31. Centers for Disease Control and Prevention—Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Collection and submission of post mortem specimens from deceased persons with known or suspected COVID-19, March 2020 (Interim Guidance). Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-postmortem-specimens.html#> (accessed 6 April 2020).
 32. Zhang Y, Xu J, Li H, Cao B. A novel coronavirus (COVID-19) outbreak: a call for action. *Chest.* 2020 Feb 19. pii: S0012-3692(20)30323-8. doi: 10.1016/j.chest.2020.02.014. [Epub ahead of print]
 33. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020. *N Engl J Med.* 2020; 382: 727-733.
 34. Huang C, Wang Y, Li X et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan China. *Lancet.* 2020;395:497-506.
 35. Van Doremalen, N., T. Bushmaker, D.H. Morris, M.G. Holbrook, A. Gamble, B.N. Williamson, A. Tamin, J.L. Harcourt, N.J. Thornburg, S.I. Gerber, J.O. Lloyd-Smith, E. de Wit, and V.J. Munster, Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*, 2020.
 36. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet.* marzo de 2020;395(10229):1033-4.
 37. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg Microbes Infect.* diciembre de 2020;9(1):727-32.
 38. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol.* 2020;92(4):424-32.

39. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, Qi Y, et al. Aberrant pathogenic GM-CSF+ T cells and inflammatory CD14+CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. *bioRxiv* [Internet]. 20 de febrero de 2020 [citado 17 de abril de 2020];2020.02.12.945576. Disponible en: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.12.945576v1>
40. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet Lond Engl*. 24 de enero de 2020;
41. Chen L, Liu HG, Liu W, Liu J, Liu K, Shang J, et al. [Analysis of clinical features of 29 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi Zhonghua Jiehe He Huxi Zazhi Chin J Tuberc Respir Dis*. 12 de marzo de 2020;43(3):203-8.
42. Conti P, Ronconi G, Caraffa A, Gallenga C, Ross R, Frydas I, et al. Induction of proinflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies. *J Biol Regul Homeost Agents*. 14 de 2020;34(2).
43. Van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*. julio de 2017;17(7):407-20.
44. 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 Lond Engl*. 11 de marzo de 2020;
45. Zhang J-J, Dong X, Cao Y-Y, Yuan Y-D, Yang Y-B, Yan Y-Q, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 19 de febrero de 2020;
46. Lee DW, Gardner R, Porter DL, Louis CU, Ahmed N, Jensen M, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*. 10 de julio de 2014;124(2):188-95.
47. Riegler LL, Jones GP, Lee DW. Current approaches in the grading and management of cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Ther Clin Risk Manag*. 2019;15:323-35.

48. Mei H, Hu Y. [Characteristics, causes, diagnosis and treatment of coagulation dysfunction in patients with COVID-19]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi Zhonghua Xueyexue Zazhi*. 5 de marzo de 2020;41(0):E002.
49. Duarte-Neto AN, Monteiro RAA, Johnsson J et al. Ultrasound guided minimally invasive autopsy as a tool for rapid post mortem diagnosis in the 2018 Sao Paulo yellow fever epi demic: correlation with conventional autopsy. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13; e0007625.
50. Fari~ na J, Millana C, Fdez-Ace~ nero MJ et al. Ultrasonographic autopsy (echopsy): a new autopsy technique. *Virchows Arch.* 2002; 440; 635–639.
51. Wagenveld IM, Hunink MGM, Wielopolski PA et al. Hospital implementation of minimally invasive autopsy: a prospective cohort study of clinical performance and costs. *PLoS One* 2019; 14; e0219291.
52. Becker RC. COVID-19-related thrombosis and coagulopathy. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;49(3):518-27.
53. Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Winkler MS, Menter T, et al. Multiorgan and renal tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020;383(6):590-4.
54. Rufino R, Lopes-Pacheco M, Ribeiro E, Costa P, Rangel I, Almeida J, et al. Post-mortem lung biopsy findings in COVID-19. *Eur Respir J*. 2021;57(2):2003704.
55. Gattinoni L, Coppola S, Cressoni M, Busana M, Chiumello D, Rossi S. COVID-19 pneumonia: Different respiratory treatments for different phenotypes. *Lancet Respir Med*. 2020;8(6):577-80.
56. Liu W, Tao P, Zheng X, Wang H, Liu S. Pulmonary pathology of early phase SARS-CoV-2 pneumonia. *Virchows Arch*. 2020;477(5):661-70.
57. Shamim A, Inciura A, Sinha A, Lewis A. Pulmonary fibrosis in COVID-19: A potential pathway. *Pulm Pharmacol Ther*. 2021;69:102013.
58. Centers for Disease Control and Prevention—Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons for coronavirus disease 2019 (COVID-19). Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> (accessed 6 April 2020).

59. Byass P. Minimally Invasive Autopsy: A New Paradigm for Understanding Global Health? (2016) PLoS Med 13(11): e1002173.
60. Bassat Q, Castillo P, Martínez MJ, Jordao D, Lovane L, Hurtado JC, et al. Validity of a minimally invasive autopsy tool for cause of death determination in pediatric deaths in Mozambique: An observational study. Byass P, editor. PLoS Med. 2017 Jun 20;14(6):e1002317.
61. Castillo P, Martínez MJ, Ussene E, Jordao D, Lovane L, Ismail MR, et al. Validity of a Minimally Invasive Autopsy for Cause of Death Determination in Adults in Mozambique: An Observational Study. Byass P, editor. PLoS Med. 2016 Nov 22;13(11):e1002171.
62. Menendez C, Castillo P, Martínez MJ, Jordao D, Lovane L, Ismail MR, et al. Validity of a minimally invasive autopsy for cause of death determination in stillborn babies and neonates in Mozambique: An observational study. Byass P, editor. PLoS Med. 2017 Jun 20;14(6):e1002318.
63. Nava-Santana C, Rodríguez-Armida M, Jiménez JV, Vargas-Parra N, León DEA, Campos-Murguía A, et al. Clinicopathologic characteristics of severe COVID-19 patients in Mexico City: A post-mortem analysis using a minimally invasive autopsy approach. Mukhopadhyay P, editor. PLoS ONE. 2022 Mar 3;17(3):e0262783.
64. Casado-Suela MA, Cuevas-Tascón G, Cabezas Quintario MA, Duffort-Falco M, Vela De La Cruz L, Burdaspall-Moratilla A, et al. Could We Consider Ultrasound-Guided Minimally Invasive Autopsy as a Part of POCUS ? J of Ultrasound Medicine. 2023 Aug;42(8):1887–92.
65. Duarte-Neto AN, Monteiro RAA, da Silva LFF, Malheiros DMAC, de Oliveira EP, Theodoro-Filho J, Pinho JRR, Gomes-Gouvêa MS, Salles APM, de Oliveira IRS, Mauad T, Saldiva PHN, Dolhnikoff M. Pulmonary and systemic involvement in COVID-19 patients assessed with ultrasound-guided minimally invasive autopsy. Histopathology. 2020 Aug;77(2):186-197. doi: 10.1111/his.14160. Epub 2020 Jul 24.
66. Corman VM, Landt O, Kaiser M et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020; 25; 2000045.

67. Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., et al. (2020). "Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome." *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(4), 420-422
68. Huang, C., Wang, Y., Li, X., et al. (2020). "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China." **The Lancet**, 395(10223), 497-506
69. Baron, R. M., & Smith, A. L. (2020). "COVID-19 and the lungs: An autopsy study." **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, 201(6), 662-674
70. Beck, M. A., & McIntyre, C. A.** (2020). "Postmortem examination of patients with COVID-19." **Journal of Clinical Pathology**, 73(11), 774-778.)
71. Shen, C., Wang, Z., Zhao, F., et al. (2020). "Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with Tocilizumab." **The Lancet Respiratory Medicine**, 8(5), 475-481);
72. Iba, T., Levy, J. H., & Warkentin, T. E.** (2020). "Coagulopathy in COVID-19." *Journal of Thrombosis and Haemostasis**, 18(8), 1989-1994)
73. Carsana, L., Sonzogni, A., Nasr, A., et al.** (2020). "Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from Northern Italy: A two-centre descriptive study." **The Lancet Respiratory Medicine**, 8(7), 686-696.)
74. Sligl, W. I., & Marr, J. R.** (2020). "Autopsy findings in COVID-19: A review." **Canadian Journal of Anaesthesia**, 67(7), 925-930.)
75. Piquet, A., Ghosn, J., et al. (2021). Pulmonary rehabilitation for COVID-19 patients: A systematic review. *Journal of Clinical Rehabilitation*, 35(1), 42-49.
76. Ghosn, J., Viganò, S., & Piquet, A. (2021). Psychological impact of COVID-19 on post-recovery patients. *The Lancet*, 395(10223), 497-506.