



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS (CCM)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE TRANSLACIONAL

JAMAICA GINA ELOI DE SOUZA GUIMARÃES

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTA Th1 e Th2 E A GRAVIDADE DA SÍNDROME
RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE POR SARS-CoV-2**

Recife
2023

JAMAICA GINA ELOI DE SOUZA GUIMARÃES

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTA Th1 e Th2 E A GRAVIDADE DA SÍNDROME
RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE POR SARS-CoV-2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Saúde translacional.

Área de concentração: Saúde Humana e Tecnologias Integrativas.

Orientador (a): Paulo Sérgio Ramos de Araújo

Vínculo: Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional

Coorientador (a): Patrícia Clara Pereira dos Santos

Vínculo: Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP)

Recife

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

G963a Guimarães, Jamaica Gina Eloi de Souza.
 Associação entre resposta Th1 e Th2 e a gravidade da síndrome respiratória
 aguda grave por SARSCoV-2 / Jamaica Gina Eloi de Souza Guimarães – 2023.
 70 p.

 Orientador: Paulo Sergio Ramos de Araujo
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de
 Ciências Médicas. Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional. Recife, 2023.
 Inclui referências e apêndices.

 1. Citocinas. 2. COVID-19. 3. SARS-CoV-2. 4. Síndrome respiratória aguda grave.
 5. Mortalidade. Araujo, Paulo Sergio Ramos de (orientador). II. Título.

614.07 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2023 - 211)

JAMAICA GINA ELOI DE SOUZA GUIMARÃES

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTA Th1 e Th2 E A GRAVIDADE DA SÍNDROME
RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE POR SARS-CoV-2**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Saúde Translacional da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Saúde
Translacional.

Aprovada em: 22/06/2023

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
JOSE ANGELO RIZZO
Data: 11/07/2023 08:47:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profº. Dr. José Ângelo Rizzo (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
FABIANNE MAISA DE NOVAES ASSIS DANT.
Data: 08/07/2023 13:36:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª. Drª. Fabianne Maísa de Novaes Assis Dantas

Universidade de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
LIDIER ROBERTA MORAES NOGUEIRA
Data: 07/07/2023 19:45:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª. Drª. Lidier Roberta Moraes Nogueira

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP)

Dedico este trabalho aos estudantes, mestrandos e doutorandos, que buscam a solução para muitos questionamentos, permitindo que a inquietação da mente possa contribuir no tratamento de pacientes e no conhecimento para a comunidade científica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir que eu acreditasse que era possível e que me deu condições para que esse sonho se tornasse real.

À minha família, todo o agradecimento do mundo pela compreensão, incentivo e apoio incondicional.

Aos meus mestres, gratidão por toda a orientação, estímulo e por mostrar que mesmo sendo árduo o caminho, sempre vale a pena se dedicar à ciência.

RESUMO

A tempestade de citocinas está sendo considerada como um dos principais mecanismos que contribuem para a lesão pulmonar aguda e o desenvolvimento da COVID-19. Diante do papel fundamental que as citocinas parecem desempenhar na fisiopatologia da COVID-19, torna-se essencial analisar e compreender melhor os fatores subjacentes que influenciam no agravamento da doença. Neste contexto, o estudo visou analisar os perfis das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e a gravidade da síndrome respiratória aguda grave (SRAG) por COVID-19. Trata-se de um estudo analítico, de natureza quantitativa, observacional retrospectivo, envolvendo 167 pacientes que estiveram internados em Unidade de Terapia Intensiva do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, apresentando SRAG por COVID-19. Os dados referentes às informações sociodemográficas e clínicas foram coletados através dos prontuários dos pacientes e tabulados em uma planilha. Os dados laboratoriais foram obtidos através pesquisa realizada no setor de Imunologia do Instituto Aggeu Magalhães – Fundação Fiocruz e, posteriormente, inseridos e tabulados juntamente com os dados obtidos anteriormente. As citocinas IFN- γ , IL-10 e IL-6 se apresentaram elevadas no momento da admissão na UTI. Os níveis séricos das citocinas IL-10 e IL-6 permaneceram elevados para ambos os momentos, com associação significativa ao desfecho óbito. Ainda, houve relação destas citocinas com o grau de comprometimento pulmonar, necessidade de ventilação mecânica e tempo de internação hospitalar. Houve relação significativa entre índices elevados das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias com a gravidade da SRAG, especialmente em relação aos níveis de IL-6 e IL-10.

Palavras-chave: citocinas; COVID-19; SARS-CoV-2; síndrome respiratória aguda grave; mortalidade.

ABSTRACT

Cytokine storm is being considered as one of the main mechanisms contributing to acute lung injury and the development of COVID-19. In view of the fundamental role that cytokines seem to play in the pathophysiology of COVID-19, it is essential to analyze and better understand the underlying factors that influence the worsening of the disease. In this context, the study aimed to analyze the profiles of inflammatory and anti-inflammatory cytokines and the severity of severe acute respiratory syndrome (SARI) due to COVID-19. This is an analytical, quantitative, retrospective observational study, involving 167 patients who were admitted to the Intensive Care Unit of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco, presenting SARS due to COVID-19. Data referring to sociodemographic and clinical information were collected from patients' medical records and tabulated in a spreadsheet. Laboratory data were obtained through research carried out in the Immunology sector of the Instituto Aggeu Magalhães – Fundação Fiocruz and, subsequently, entered and tabulated together with the data obtained previously. Cytokines IFN- γ , IL-10 and IL-6 were elevated upon admission to the ICU. Serum levels of IL-10 and IL-6 cytokines remained high for both moments, with a significant association with the outcome of death. Furthermore, there was a relationship between these cytokines and the degree of pulmonary impairment, need for mechanical ventilation and length of hospital stay. There was a significant relationship between elevated levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines and SARS severity, especially in relation to IL-6 and IL-10 levels.

Keywords: cytokines; COVID-19; SARS-CoV-2; severe acute respiratory syndrome; mortality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Diferentes apresentações clínicas de gravidade da doença para COVID-19	19
Figura 2 –	Resposta imune fisiológica do hospedeiro à infecção por SARS-CoV-2	21
Figura 3 –	Kit comercial (BD <i>Cytometric Bead Array</i> – CBA)	30
Figura 4 –	<i>Beads</i> dos padrões de citocinas humanas liofilizada que compõem o BD <i>Cytometric Bead Array</i> – CBA	31
Figura 5 –	Etapas preparatórias para as análises das citocinas plasmáticas	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição do número e percentagem das variáveis sexo, desfecho, via de respiração e morte em 30 dias de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	38
Tabela 2 – Distribuição das médias das variáveis idade, relação da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial e a fração inspirada de oxigênio, dias de UTI, tempo de internação hospitalar e tempo de ventilação mecânica de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	38
Tabela 3 – Distribuição e comparação entre a primeira e segunda avaliação das concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	39
Tabela 4 – Relação entre respiração espontânea/ventilação mecânica e concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	40
Tabela 5 – Relação entre respiração espontânea/ventilação mecânica e concentrações plasmáticas médias das citocinas IL-2 e IL-4 de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	40
Tabela 6 – Relação entre desfecho morte e recuperação e concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	41
Tabela 7 – Relação entre desfecho e concentrações plasmáticas médias das citocinas IL-2 e IL-4 de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	41
Tabela 8 – Correlações em relação ao desfecho óbito em 30 dias e concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	42
Tabela 9 – Correlações em relação ao desfecho óbito em 30 dias e concentrações plasmáticas médias das citocinas IL-2 e IL-4 de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE 2	Enzima Conversora de Angiotensina Tipo 2 – <i>Type 2 Angiotensin Converting Enzyme</i>
BK	Bradicinina
CAR-T	Células Receptoras de Antígeno Quimérico
CBA	<i>Cytometric Bead Array</i>
CCL	Ligante de Motivo CC de Quimiocina
CD4+	Células de grupamento de diferenciação 4
CD8+	Células de grupamento de diferenciação 8
Células B	Linfócitos B
Células NK	Células Natural <i>Killer</i>
Células T	Linfócitos T
COVID-19	Doença do Coronavírus - <i>Coronavirus Disease</i>
CoVs	Coronavírus
CrCl	Creatinina
CXCL	Ligante de Motivo de Quimiocina C XC
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Danos
DP	<i>Driving Pressure</i>
DRC	Doença Renal Crônica
dsRNA	RNA de Fita Dupla
ECG	Eletrocardiograma
FiO ₂	Fração Inspirada de Oxigênio
FR	Frequência Respiratória
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos-Macrófagos
GVHD	Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro
IFN-I	Interferon Tipo I
IFN- γ	Interferon- γ
IL-10	Interleucina 10
IL-17	Interleucina 17
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
KKS	Sistema Caliceína-Cinina

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LDH	<i>Lactato Desidrogenase</i>
LPA	Lesão Pulmonar Aguda
LPIV	Lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica
LRA	Lesão Renal Aguda
MCP-1	Proteína Quimioatraente de Monócitos - Monocyte chemoattractant protein-1
MERS	Síndrome Respiratória Do Oriente Médio
MIP-1b	Proteína Inflamatória de Macrófagos - Macrophage Inflammatory Proteins
MP	<i>Mechanical Power</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
O ₂	Oxigênio
P/F	PaO ₂ /FiO ₂ – Relação da Pressão Parcial de Oxigênio no Sangue Arterial e a Fração Inspirada de Oxigênio
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PaO ₂	Pressão Parcial de Oxigênio no Sangue Arterial
PaO ₂ /FiO ₂	Relação da Pressão Parcial de Oxigênio no Sangue Arterial e a Fração Inspirada de Oxigênio
PCR	Proteína C Reativa
PCT	Procalcitonina
PRR	Receptores de Reconhecimento Padrão
PRRs	Receptores de Reconhecimento de Padrão
PTX3	Pentraxina 3
RAS	Sistema Renina Angiotensina
RE	Respiração Espontânea
RIG-I citosólico	Gene Induzível pelo Ácido Retinóico I
RLRs	Receptores Semelhantes a RIG (<i>RIG-Like Receptor</i>)
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-PCR	Transcrição Reversa Seguida de Reação em Cadeia da Polimerase
SAA	Amiloide Sérica A
SARS-CoV-2	Vírus da Família dos Coronavírus (COVID-19)
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SIVEP-Gripe	Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica da Gripe
SPSS	<i>Statistical Package For The Social Sciences</i>
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SRC	Síndrome de Liberação de Citocinas
ssRNA	RNA Viral de Fita Simples
T CD4+	Grupamento de diferenciação 4 - <i>Cluster of Differentiation</i>
T CD8+	Grupamento de diferenciação 8 - <i>Cluster of Differentiation</i>
TC	Tomografia Computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
THP-1	Linhagem de Monócitos Humanos
TH1	T helper 1
TH2	T helper 1
TLRs	Receptor Toll-Like (<i>Toll-Like Receptor</i>)
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral- A
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VC	Volume Corrente
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
VM	Ventilação Mecânica
VMI	Ventilação Mecânica Invasiva
VNI	Ventilação não Invasiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	RESPOSTA IMUNOLÓGICA FISIOLÓGICA INICIAL	20
3.2	RESPOSTA IMUNE EXACERBADA	22
3.3	LESÃO PULMONAR NA COVID-19	25
4	MÉTODO	28
4.1	TIPO DE ESTUDO	28
4.2	LOCAL DO ESTUDO	28
4.3	PERÍODO DE REFERÊNCIA	28
4.4	POPULAÇÃO DO ESTUDO	28
4.4.1	Critérios de inclusão	28
4.4.2	Critérios de exclusão	29
4.5	DELINEAMENTO DO ESTUDO	29
4.5.5	Monitoramento dos parâmetros clínicos	29
4.5.6	Coleta das amostras de sangue	30
4.6	VARIÁVEIS DO ESTUDO	31
4.7	ANÁLISE DOS DADOS	32
4.8	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	ASSOCIAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE CITOCINAS E A GRAVIDADE DA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE POR COVID-19	34
6	CONCLUSÕES	56
	REFERÊNCIAS	57
	APENDICE A – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO	63
	ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	64
	ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	68
	ANEXO C - BULA DO KIT DE CITOCINAS	70

1 INTRODUÇÃO

Relatada pela primeira vez em novembro de 2019, a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), doença causada pelo novo coronavírus, denominado SARS-CoV-2, resultou numa emergência de saúde pública de interesse internacional (OMS, 2020).

Esta evoluiu como a pandemia mais relevante da história moderna, causando o colapso dos sistemas de saúde de todo o mundo, contabilizando mais de 762 milhões de casos confirmados e mais de 6,8 milhões de mortes relatadas globalmente até abril de 2023 (OMS, 2023).

A pandemia estabelecida em escala global gerou vários impactos e repercussões, além dos de ordem biomédica e epidemiológica, evidenciando consequências sociais, econômicas, políticas, culturais e históricas. Neste contexto, o Brasil é um dos países mais afetados. Até o abril de 2023, havia 37.319.254 milhões de casos confirmados e cerca de 700.556 mil mortes pela doença no país (MUSTAFA, 2022; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

Os pulmões são os principais órgãos alvo atingidos pelo SARS-CoV-2. O tecido pulmonar obtido *post mortem* de pacientes que tiveram COVID-19 revelou edema alveolar extenso, exsudato proteico, deposição de fibrina e infiltrado de células imunológicas. Semelhante a outras infecções virais, como na SRAG e na Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS), a tempestade de citocinas tem sido considerada como um dos principais mecanismos que contribuem para a lesão pulmonar aguda e o desenvolvimento da doença (CHEN *et al.*, 2020).

Os pacientes com COVID-19 podem evoluir para quadro clínico grave, podendo apresentar insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção de múltiplos órgãos, com necessidade de oxigênio suplementar e até ventilação mecânica prolongada. Estes pacientes desenvolvem uma notável resposta inflamatória, com importante comprometimento vascular e, conseqüentemente, possíveis alterações cardíacas e insuficiência hepática e renal, que podem contribuir para piora da capacidade física e funcional (COVID-ICU GROUP ON BEHALF OF THE REVA NETWORK AND THE COVID-ICU INVESTIGATORS, 2021).

A maioria dos doentes infectados com SARS-CoV-2 tem uma contagem sanguínea de leucócitos normal ou reduzida e linfocitopenia. De acordo com um estudo de coorte prospectivo com 709 pacientes internados com diagnóstico

confirmado de COVID-19 e apresentação moderada ou grave da doença, os pacientes com COVID-19 tiveram um aumento na contagem absoluta de leucócitos e uma redução dos linfócitos a partir dos pacientes classificados como moderados (BARBOSA et al., 2023). Aqueles com a forma grave da doença, mostraram níveis significativamente elevados de neutrófilos, D-dímero e uréia no sangue, com diminuição contínua de linfócitos (COSTELA-RUIZ *et al.*, 2020).

Diante do papel fundamental que as citocinas parecem desempenhar na fisiopatologia da COVID-19, torna-se essencial analisar e compreender melhor os fatores subjacentes que influenciam no desenvolvimento da doença para que, com isso, possamos desenvolver métodos mais eficazes de controle e tratamento desta enfermidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a associação das respostas Th1 (Interferon Gama, Fator de Necrose Tumoral Alfa e Interleucina 2) e Th2 (Interleucina 4, Interleucina 6 e Interleucina 10) através do perfil das citocinas e a gravidade da SRAG por SARS-CoV-2.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a resposta Th1 (Interferon Gama, Fator de Necrose Tumoral Alfa e Interleucina 2) e Th2 (Interleucina 4, Interleucina 6 e Interleucina 10) através do perfil das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias na fase aguda da SRAG por SARS-CoV-2 de pacientes internados numa unidade de terapia intensiva (UTI);
- Descrever a gravidade da SRAG por SARS-CoV-2 de acordo com o tempo de ventilação mecânica (VM) e a relação PaO_2/FiO_2 ;
- Avaliar a relação entre a resposta Th1 (Interferon Gama, Fator de Necrose Tumoral Alfa e Interleucina 2) e Th2 (Interleucina 4, Interleucina 6 e Interleucina 10), através do perfil das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e comprometimento pulmonar, através da relação PaO_2/FiO_2 ;
- Avaliar a associação entre a resposta Th1 (Interferon Gama, Fator de Necrose Tumoral Alfa e Interleucina 2) e Th2 (Interleucina 4, Interleucina 6 e Interleucina 10), através do perfil das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias, e o tempo de VM, tempo de permanência na UTI tempo de internação hospitalar e morte em 30 dias.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O SARS-CoV-2 é responsável pela doença de COVID-19 e se associa principalmente a apresentações assintomáticas e leves, mas pode progredir, nos piores casos, para pneumonia grave, levando à SRAG, com consequente necessidade de admissão na UTI (COVID-ICU GROUP ON BEHALF OF THE REVA NETWORK AND THE COVID-ICU INVESTIGATORS, 2021).

Além da resposta inflamatória sistêmica, pode ocorrer uma inflamação pulmonar vigorosa e, possivelmente, ocasionar uma síndrome do desconforto respiratório de difícil tratamento. Um possível mecanismo, seria o vírus utilizar a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE 2) como receptor para entrar nas células e perpetuar seu ciclo de vida viral. Tendo em vista que as células epiteliais brônquicas humanas e os pneumócitos secretam ACE 2, a infecção dessas células desencadeia mecanismos moleculares de defesa (morte celular e apoptose), juntamente com o recrutamento do sistema imunológico (NUNNARI *et al.*, 2020).

A ACE 2 está presente em praticamente todos os tecidos, com expressão relativamente maior em células epiteliais respiratórias, células alveolares tipo I e II, cavidade oral, rins, testículos e intestinos (TOLOUIAN *et al.*, 2020). Essa é a primeira via de identificação de entrada viral, mediada pela ACE 2, e está representada em diversos órgãos humanos como rins, coração, pulmões, intestino delgado, tireoide, testículos, e tecido adiposo (NI *et al.*, 2020). Para entrar na célula alvo, o SARS-CoV, se liga à ACE 2 por meio de sua glicoproteína de pico (proteína Spike), expressa em seu envelope. Por meio da proteína Spike o vírus invade a célula, injetando seu ácido nucleico (RNA) e a partir desse momento, ela deixa de trabalhar para sua sobrevivência, passando a multiplicar as fitas de RNA e produzir as proteínas virais (TOLOUIAN *et al.*, 2020).

A ACE 2 tem a função de converter a angiotensina II (vasoconstritor) em angiotensina 1-7 (vasodilatador), diminuindo, assim, a pressão arterial. Outra função dessa enzima é diminuir os níveis de bradicinina (BK), afetando assim o sistema renina angiotensina (RAS) e sistema calicreína-cinina (KKS). Portanto, o equilíbrio entre ACE2 e BK pode afetar doenças vasculares, considerando que a atividade vasodilatadora e permeabilizadora da BK facilita a migração dos leucócitos para o tecido afetado, aumentando processos inflamatórios sistêmicos (JIA, 2016).

A BK é um importante peptídeo pró-inflamatório no sistema KKS e um membro

essencial dos vasodilatadores (prostaglandinas, cininas e óxido nítrico) que atua como hormônio tecidual para regular o fluxo sanguíneo regional. Os papéis fisiológicos da bradicinina incluem, portanto, propagação de processos inflamatórios, relaxamento vascular e interação com estruturas neurais regionais. Níveis elevados de mediadores inflamatórios através da ativação do sistema BK podem aumentar o risco de permeabilidade capilar, SRAG e falência de múltiplos órgãos (TOLOUIAN *et al.*, 2020).

Neste contexto, o efeito da COVID-19 pode abranger desde doença assintomática até infecção crítica. As taxas de mortalidade sofrem influência do envelhecimento e da presença de comorbidades como obesidade, diabetes, problemas cardiovasculares, câncer e hipertensão (CASTELLI, CIMINI e FERRI, 2020). Os pacientes idosos com COVID-19 podem apresentar comorbidades com maior frequência, como distúrbios cardiovasculares, diabetes ou hipertensão, que podem piorar o curso da doença (BINDOLI *et al.*, 2020).

A infecção pelo SARS-CoV-2 é caracterizada por alta mortalidade, principalmente nos idosos e frágeis, podendo ser quatro vezes maior em pessoas de 35 a 39 anos e 570 vezes maior em pessoas de 85 anos ou mais, quando relacionado a grupo de idade entre 18 e 30 anos. Nessa população idosa, a capacidade de formar nova memória imunológica é reduzida e, portanto, são mais suscetíveis a infecções devido a uma resposta imunológica prejudicada e fraca (WIERSINGA *et al.*, 2020).

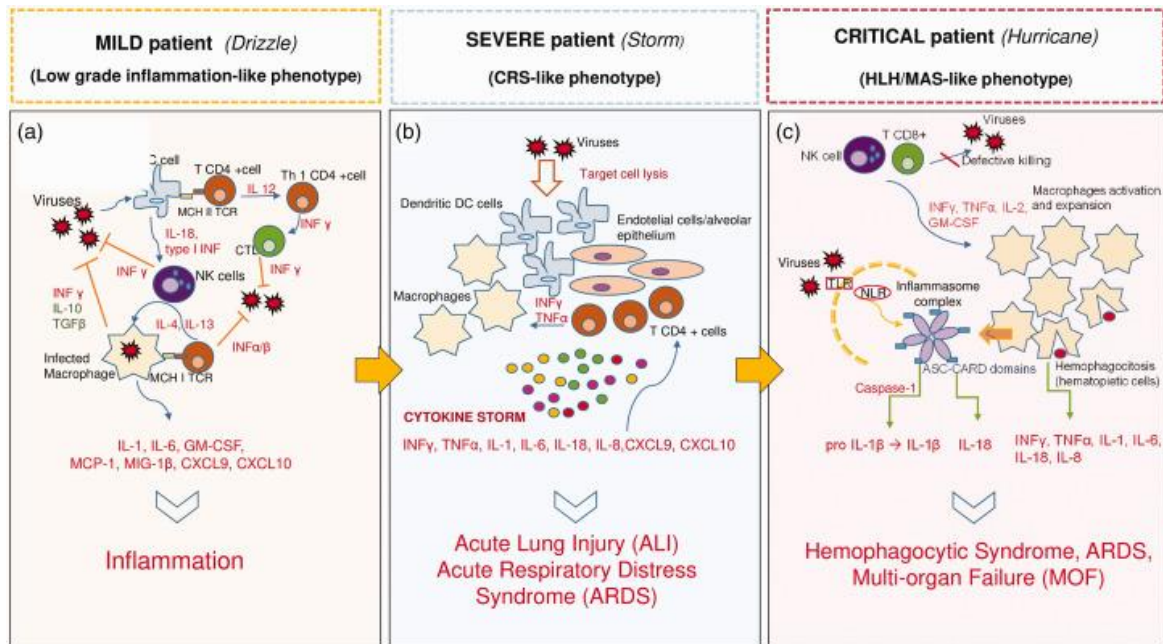
Embora a maioria dos indivíduos com COVID-19 desenvolva apenas a forma leve da doença, alguns pacientes evoluem para formas mais graves e desenvolvem complicações como SRAG, eventos tromboembólicos, hiperinflamação e falência múltipla de órgãos (CHEN *et al.*, 2020).

O principal fator responsável pela SRAG é a chamada “tempestade de citocinas”, que é uma resposta anormal do sistema imunológico do hospedeiro, ocorrendo uma liberação exagerada de citocinas/quimocinas pró-inflamatórias (CASTELLI, CIMINI e FERRI, 2020).

Os fenótipos da COVID-19 podem ser identificados como: “leve”, “grave” e “crítico” (BINDOLI *et al.*, 2020). O que é fundamental para determinar a gravidade da doença é a quantidade de citocinas liberadas após a resposta imune do hospedeiro ao SARS-CoV-2, que pode variar de um “chuveiro” de citocinas (COVID-19 leve) ou uma “tempestade” (COVID-19 grave) para um “furacão” (COVID-19 crítica) (**Figura 1**). Portanto, a tempestade de citocinas pode estar relacionada com a intensidade das

manifestações sintomáticas do paciente, associada a outros fatores, como idade avançada, condições pré-existent e resposta imunológica individual (BAQI, NAZ e SAYEED, 2021). Nesse contexto, estudos também demonstraram uma ligação entre a resposta imune do hospedeiro e a gravidade da doença (BRODIN, 2021).

Figura 1 – Diferentes apresentações clínicas de gravidade da doença para COVID-19.



Fonte: Bindoli *et al.*, 2020

Legendas: (a) Resposta imunológica normal contra infecção viral. (b) A síndrome de liberação de citocinas. (c) Os pacientes críticos apresentam um fenótipo semelhante a uma linfocitose hemofagocítica secundária, produzindo grandes quantidades de mediadores pró-inflamatórios que levam a manifestações com risco de vida e falência de múltiplos órgãos. SRC: síndrome de liberação de citocinas; HLH: linfocitose hemofagocítica; MAS: síndrome de ativação de macrófagos; MOF: falência de múltiplos órgãos; NLR: receptor nod-like; TLR: receptor toll-like.

Pacientes com COVID-19 grave apresentaram rápido avanço dos infiltrados pulmonares e falência de múltiplos órgãos, o que é concomitante com uma liberação sustentada de citocinas inflamatórias e mediadores bioquímicos de inflamação. Nesta perspectiva, a maioria dos pacientes com COVID-19 tem replicação viral no trato respiratório superior, com sintomas leves, como febre e tosse seca, recuperando-se facilmente sem desenvolver mais sintomas. Porém, é possível que, ao atingir o trato respiratório inferior, o SARS-CoV-2 resulte numa doença mais grave, devido a uma maior quantidade de receptores ACE 2 nos alvéolos (POLIDORO *et al.*, 2020).

As principais anormalidades laboratoriais nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2 são linfocitopenia (até 80% dos casos) e aumentos da proteína C reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS), D-dímero, transaminases e ferritina

com procalcitonina geralmente normal. Os linfócitos expressam a ACE 2 e uma diminuição na contagem de linfócitos pode ser atribuída à necrose ou apoptose de células causada por partículas virais invasivas (BINDOLI *et al.*, 2020).

Segundo Baqi, Naz e Sayeed (2021), a síndrome de liberação de citocinas (SRC) é definida como qualquer um dos seguintes achados na presença de doença moderada, grave ou crítica:

- Ferritina > 1000 mcg/L e subindo nas últimas 24 horas;
- Ferritina > 2000 mcg/L em paciente que requer oxigênio de alto fluxo ou ventilação mecânica;
- Contagem absoluta de linfócitos < 800 células/ml, ou proporção de neutrófilos para linfócitos > 5 e duas das seguintes alterações:
 - a) Ferritina > 700 mcg/mL e subindo nas últimas 24 horas;
 - b) Lactato desidrogenase (LDH) > 300 UI e subindo nas últimas 24 horas;
 - c) D-dímero > 1000ng/mL (ou >1 mcg/ml) e subindo nas últimas 24 horas.

3.1 RESPOSTA IMUNOLÓGICA FISIOLÓGICA INICIAL

Um sistema imunológico oportuno, localizado e bem coordenado é a primeira linha de resposta fisiológica de defesa contra a infecção por SARS-CoV-2. Semelhante a outros vírus citopáticos, a infecção causada por este vírus induz lesão nas células epiteliais das vias aéreas e, conseqüentemente, morte celular (CHEN *et al.*, 2019). Esta morte celular mediada por vírus desencadeia a liberação de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) e padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (BOHN *et al.*, 2020).

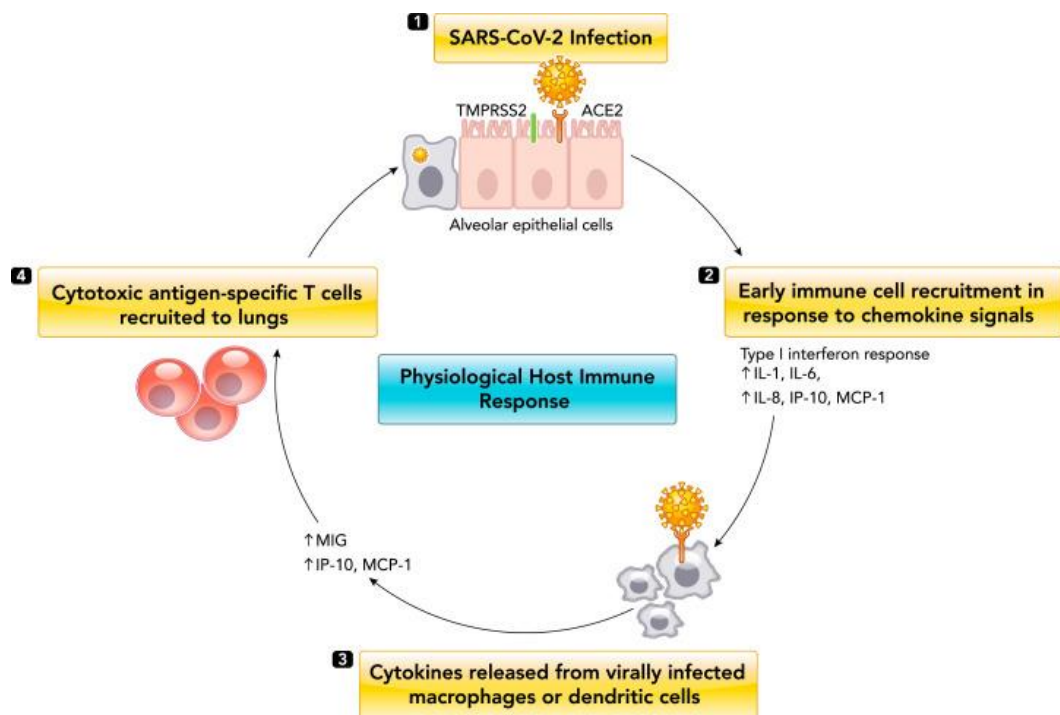
A resposta imune imediata à infecção por vírus, bactérias ou outros microorganismos envolve a participação de células e moléculas e utiliza recursos energéticos, enzimáticos e biossintéticos, ou seja, recursos metabólicos (**Figura 2**) (BOHN *et al.*, 2020).

No caso de vírus de ácido ribonucleico (RNA), como SARS-CoV-2, essas vias de defesa são iniciadas pelo envolvimento de receptores de reconhecimento de padrão (PRRs) por RNA viral de fita simples (ssRNA), via gene induzível pelo ácido retinóico I (RIG-I citosólico), receptores tipo Toll (RLRs) e os receptores semelhantes a RIG-I (RLRs) extracelulares e endossomais. Tais proteínas desempenham um papel importante na resposta imune inata, através do reconhecimento de uma ampla

variedade de padrões moleculares incluindo ácidos nucleicos virais, promovendo a detecção de infecções virais e a ativação de respostas antivirais. Após a ativação de receptores de reconhecimento padrão (PRR), as cascatas de sinalização, na sequência, desencadeiam uma resposta imune para combater a infecção, pela secreção de citocinas (CHANNAPPANAVAR *et al.*, 2016).

As citocinas são um grupo de moléculas polipeptídicas sinalizadoras responsáveis por regular muitos processos biológicos via células receptoras de superfície. As principais citocinas são aquelas envolvidas na adaptação da imunidade, citocinas pró-inflamatórias e interleucinas (VABRET *et al.*, 2020).

Figura 2 - Resposta imune fisiológica do hospedeiro à infecção por SARS-CoV-2



Fonte: Bohn *et al.*, 2020

Legenda: SARS-CoV-2: vírus da família dos Coronavírus (COVID-19); TMPRSS2: enzima protease serina transmembranar 2; ACE2: enzima conversora de angiotensina Tipo 2; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IP-10: proteína 10 induzida por interferon gama; MCP-1: proteína quimioatraente de monócitos 1; MIG: monócina induzida por interferon gama; T cells: linfócitos T.

Interleucinas, quimiocinas, interferons e fator de necrose tumoral são todas pequenas citocinas e proteínas não estruturais que têm efeitos pleiotrópicos, de controle de diversas ações e funções em muitos órgãos. Em muitas infecções e distúrbios do sistema imunológico, as citocinas são liberadas por vias parácrinas, autócrinas ou endócrinas e exibem processos pró-inflamatórios ou anti-inflamatórios.

As citocinas que têm reações pró-inflamatórias incluem as interleucinas 1 β (IL-1 β), interleucina 17 (IL-17), interferon- γ (IFN- γ) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α). Aquelas com propriedades anti-inflamatórias incluem interleucina 10 (IL-10) e interleucina 4 (IL-4) (ORTEGA e FORNONI, 2010).

Várias teorias sugerem que, em pacientes com COVID-19 grave, a tempestade de citocinas tem um efeito importante na fisiopatologia dessa doença e na SDRA. Normalmente, a invasão viral causa o recrutamento de diferentes células inflamatórias como macrófagos, neutrófilos, e células natural killer (células NK), que são as principais produtoras de citocinas pró-inflamatórias (COOKE *et al.*, 2008).

A indução da cascata inflamatória desencadeada pela liberação de citocinas, quimiocinas e proteínas da fase aguda, contribui para o progresso dos processos ateroscleróticos e potencializam a aterogênese (AMIN *et al.*, 2020). A inflamação persistente, caracterizada por níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias e inflamatórias por um longo período de tempo, comum naqueles pacientes que desenvolvem a doença de forma mais grave, também está fortemente relacionada à doença cardíaca coronária, ataques cardíacos, insuficiência cardíaca e outros eventos cardíacos prejudiciais.

Processos inflamatórios mediados por citocinas também têm sido relacionados à patogênese do insulto renal, seja por lesão renal aguda (LRA) ou por doença renal crônica (DRC) agudizada (ORTEGA e FORNONI, 2010).

3.2 RESPOSTA IMUNE EXACERBADA

O sistema imunológico desempenha um papel fundamental na patogênese de doenças infecciosas. Evidências sobre intervenções nas ações virais, disfunções metabólicas e mecanismos moleculares desencadeantes de citocinas podem refletir a maneira pela qual o sistema imune inato responde a uma infecção viral, seja controlando a inflamação de uma forma mais rápida ou mantendo um processo inflamatório mais prolongado (SANCHEZ e LAGUNOFF, 2015).

A geração de resposta imune pró-inflamatória e antiinflamatória depende de vários fatores, incluindo a carga de patógenos, duração da exposição ao patógeno, estado imunológico do hospedeiro (presença de condições imunossupressoras prévias, câncer, diabetes ou tratamento com agentes imunossupressores em pacientes com doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD) e autoimunidade)

(VIJAYKUMAR, 2020).

A primeira resposta contra infecções virais é uma reação imune inata sincronizada e rápida. Porém, reações imunológicas extremas e descontroladas podem desencadear deficiência imunológica no corpo humano (CHANNAPPANAVAR *et al.*, 2016). No caso dos pacientes acometidos por SARS-CoV-2, essa resposta pró-inflamatória extrema, representa a patogênese da COVID-19, causando impacto destrutivo para o hospedeiro. Quando o sistema imunológico não é mais capaz de neutralizar o vírus e concluir a resposta inflamatória, a produção exagerada das citocinas leva à hiperatividade dos macrófagos, com consequências para todo o corpo, incluindo febre, anemia e mau funcionamento dos órgãos. Em algum momento, a tempestade de citocinas se torna imparável, levando à disfunção irreversível do órgão-alvo e até mesmo à morte (CHAKRABORTY e BURNS, 2020; YAZDANPANAHA *et al.*, 2020).

Entendendo melhor como ocorre essa resposta exacerbada, estudos *in vitro* observaram que, na fase inicial da infecção por SARS-CoV-2, macrófagos, células epiteliais das vias aéreas e células dendríticas liberam tardiamente quimiocinas e citocinas. Nas fases seguintes, as células secretam quantidades elevadas de citocinas pró-inflamatórias (incluindo interleucinas e fator de necrose tumoral) e quimiocinas, que está em paralelo com baixas quantidades de interferons de fatores antivirais (YE *et al.*, 2020; LAU *et al.*, 2013).

A fosforilação em ACEs durante a infecção por SARS-CoV-2 aumenta a liberação de IL-6 e TNF- α , ocasionando o dano pró-inflamatório ao órgão (BOUHADDOU *et al.*, 2020).

Evidências relevantes de pacientes graves com os coronavírus (CoVs) sugerem que as respostas pró-inflamatórias desempenham um papel fundamental na patogênese destes vírus. Considerando os CoVs que, sabidamente podem infectar seres humanos, temos os CoVs patogênicos e CoVs altamente patogênicos. Nestes, podemos incluir o coronavírus da síndrome respiratória aguda (SARS-CoV), o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e o SARS-CoV-2 (NG *et al.*, 2016).

Além disso, a SDRA fatal em humanos foi acompanhada por expressão robusta e persistente de interferon (IFN) e de genes estimulados por IFN, associados ao prejuízo de respostas de células T e de anticorpos. Assim, as manifestações clínicas deletérias do SARS-CoV podem resultar de uma combinação de respostas imunes

inatas exuberantes e efeitos citopáticos diretos induzidos por vírus. Consistente com uma resposta imune inata desregulada em pacientes, a infecção de macrófagos humanos e células dendríticas é abortiva, com expressão elevada de várias citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, porém com expressão tardia do interferon tipo I (IFN-I), crítico para o início da resposta imune inata antiviral. A indução de IFN-I também é retardada após a infecção de uma linha celular epitelial das vias aéreas humanas (CHANNAPPANAVAR *et al.*, 2016).

Os níveis séricos elevados de citocinas e quimiocinas em pacientes com MERS estão relacionados ao alto número de neutrófilos e monócitos nos tecidos pulmonares e no sangue periférico dos pacientes, sugerindo que essas células podem desempenhar um papel na patologia pulmonar (NG *et al.*, 2016).

A resposta imunológica dos pacientes graves com COVID-19 se assemelha muito a uma forma de tempestade de citocinas clássica. Esta síndrome pode ser observada como resultado da terapia com receptor de antígeno quimérico (células CAR-T) ou quando as células B (linfócitos B) e T (linfócitos T) são alvo de vários anticorpos em leucemias ou linfomas. Este mecanismo provoca a lise das células imunes com consequente liberação de uma grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias (GARCIA BORREGA *et al.*, 2019).

Comparativamente, a desregulação da resposta imune provocada pelo SARS-CoV-2 pode levar ao desenvolvimento dessa “tempestade de citocinas”, provocando lise de macrófagos, células dendríticas, células B e T e, consequentemente, a liberação maciça das interleucinas IL-6, IL-1, IL-18, IL-8, proteína quimioatraente de monócitos (MCP)-1, proteína inflamatória de macrófagos (MIP)-1b, fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), ligante de motivo CC de quimiocina (CCL) 5, ligante de motivo de quimiocina CXC (CXCL) 9 e CXCL10 (LI *et al.*, 2020).

Uma resposta imune eficaz contra o SARS-CoV-2 requer o envolvimento de células do sistema imunológico inato e adaptativo. No entanto, ao contrário do que se observa na maioria das respostas antivirais, os pacientes com COVID-19 apresentam algumas variações na resposta imunológica como a redução da contagem de linfócitos e o aumento da relação neutrófilo/linfócito, que são considerados características desta doença. Além disso, há evidências de que a COVID-19 é marcada por desregulação no compartimento das células mieloides (SCHULTE-SCHREPPING *et al.*, 2020).

3.3 LESÃO PULMONAR NA COVID-19

A pneumonia é a manifestação clínica mais importante da infecção por COVID-19 relacionada ao prognóstico de pacientes graves. Há uma notável heterogeneidade no curso individual e na gravidade da doença. Uma resposta exagerada ou redução da depuração viral imunodependente em alguns pacientes pode agravar a manifestação pulmonar. Diferenças individuais no tropismo viral, carga viral, duração da eliminação viral e distribuição do tecido viral podem desempenhar um papel fundamental na evolução da doença (MUNKER *et al.*, 2021).

A SRAG ocorre como resultado de uma resposta inflamatória sistêmica aguda, que pode ser causada por insultos ao pulmão, de forma direta ou indireta. A fase exsudativa inicial apresenta dano alveolar difuso com destruição do tecido epitelial e células endoteliais, sendo a tosse seca o sintoma mais comum (ZHOU *et al.*, 2020).

Retrospectivamente, temos SDRA causada por outros fatores, na qual o desenvolvimento desta patologia apresenta semelhanças clínicas como insuficiência respiratória e troca gasosa comprometida, evidenciada por baixos índices da relação entre a pressão parcial de oxigênio no sangue arterial e da fração inspirada de oxigênio (PaO_2/FiO_2). Porém o curso inicial dessas doenças é diferente.

Segundo o Consenso de Berlim, em 2012, que define a SDRA clássica, a instalação desta condição clínica ocorre em até sete dias após um insulto clínico conhecido ou sintomas respiratórios novos ou agravados (ARDS DEFINITION TASK FORCE *et al.*, 2012). No entanto, os relatos de SRAG relacionada à COVID-19, apresentaram variação de período de instalação da doença de oito a doze dias. Desta forma, como os critérios de Berlim não se aplicavam nesta patologia, seria interessante acompanharmos com ponderação aqueles pacientes que apresentavam COVID-19 por mais de uma semana, para assim podermos dar suporte mais adequado em tempo hábil (LI e MA, 2020).

Outras diferenças clínicas apontavam para uma patologia diferente da SDRA clássica, como a complacência pulmonar, que poderia ser relativamente normal, inconsistente com a hipoxemia apresentada, sugerindo outro tipo de comprometimento pulmonar. Os achados típicos de tomografia computadorizada (TC) nos pacientes com COVID-19 mostraram opacidade em vidro fosco bilateral com distribuição pulmonar periférica, diferente da distribuição bilateral difusa, presente na forma clássica da SDRA (CHUNG *et al.*, 2019).

Em relação à gravidade, a SDRA clássica pode ser dividida em três estágios com base na relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ em SDRA leve, cujo índice de oxigenação varia entre 200 mmHg e 300 mmHg; SDRA moderada, com $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ variando entre 100 mmHg e 200 mmHg; e SDRA grave, com $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100$ mmHg. (RANIERI *et al.*, 2012). Segundo Li e Ma (2020), a SDRA relacionada à COVID-19 foi dividida em três categorias com base na relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, com pressão expiratória final positiva de 5 cmH₂O: SDRA leve ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ variando entre 200 e 300 mmHg), SDRA leve-moderada ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ variando entre 150 e 200 mmHg) e moderada-grave ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 150$ mmHg).

As taxas de mortalidade são altas nos pacientes com COVID-19 que precisam de ventilação mecânica invasiva (VMI) por insuficiência respiratória aguda. Em pacientes que receberam VMI por motivos diferentes da COVID-19, estudos recentes mostraram associações da *driving pressure* (DP) e da *mechanical power* (MP) com a mortalidade, tanto em pacientes com SDRA quanto aqueles que não apresentaram essa patologia (AMATO *et al.* 2015).

DP é a pressão aplicada pelo ventilador para fornecer um volume corrente (VC), representando assim a tensão aplicada ao pulmão a cada respiração. MP é um valor resumido para a quantidade de energia por unidade de tempo transferida do ventilador para o sistema respiratório (GATTINONI *et al.*, 2016). Parte dessa energia atua diretamente no tecido pulmonar, onde pode causar danos. A MP é calculada a partir de volume corrente (VC), frequência respiratória (FR) e DP (SCHUIJT *et al.*, 2021).

Ao analisar marcadores sistêmicos da inflamação, observamos um prolongado processo de resposta inflamatória sistêmica de IL-6 e procalcitonina (PCT) nas 2-3 semanas após uma elevação inicial e diminuição da PCR (semana 2). Esses resultados suportam dados publicados anteriormente que caracterizam a resposta imunológica em pacientes gravemente doentes (LUCAS *et al.*, 2020).

Durante a epidemia inicial na China, foram observados perfis anormais de coagulação em pacientes graves com COVID-19. D-dímeros acima de 1000 ng/mL foi um fator de risco independente de morte intra-hospitalar (ZHOU *et al.*, 2020). A hipótese de microtrombose foi proposta uma vez que altos níveis de creatinina estavam associados a níveis mais elevados de D-dímeros (>500 ng/mL), em favor de uma origem microtrombótica para insuficiência renal (CHENG *et al.*, 2020).

Além da insuficiência renal, esse dano endotelial no nível microvascular pode desempenhar um papel importante não apenas na incidência de insuficiência renal,

mas também em alguns aspectos da patogênese da insuficiência respiratória, além de insultos alveolares. De fato, o receptor SARS-CoV-2 (ACE2) é fortemente expresso nas células endoteliais (WAN ey al., 2020). Como o pulmão aceita todo o débito cardíaco em seu rico leito vascular e microvascular, é possível, portanto, que a infecção das células endoteliais induza lesões endoteliais pulmonares, desencadeando a ativação da coagulação. Assim, a infecção viral de células endoteliais, endotelite vascular pulmonar e microtrombose vascular pulmonar são cada vez mais relatadas em estudos de autópsia (VARGA *et al.*, 2020).

Um estudo prospectivo observacional multicêntrico realizado em 15 UTIs na Itália no ano de 2020, envolvendo 607 pacientes, identificou como fator de risco para ventilação mecânica prolongada a presença de complicações durante a permanência na UTI. De fato, o desfecho de sobrevida de pacientes ventilados mecanicamente não depende apenas das características basais, mas também do desenvolvimento de complicações. Estas podem ser subdivididas em não pulmonares e pulmonares. Entre as complicações não pulmonares, as mais frequentes foram lesão renal com necessidade de terapia de substituição renal (19%) e eventos cardiovasculares (17%). Entre as complicações pulmonares, a mais frequente foi a pneumonia associada ao ventilador de início tardio (175 pacientes, 44,8%) (GAMBERINI *et al.*, 2020).

Identificar as possíveis relações entre os níveis de citocinas e evolução da gravidade da SRAG em pacientes com COVID-19 pode reforçar as evidências atuais acerca da manifestação da doença, de forma a consolidar biomarcadores para avaliação do paciente e sua evolução clínica, visando mitigar possíveis agravos e delinear novas abordagens e tecnologias de tratamentos baseados em terapias imunomoduladoras, que proporcionem um melhor prognóstico dos casos.

4 MÉTODO

4.1 TIPO DO ESTUDO

O presente trabalho é um estudo analítico, de natureza quantitativa, (observacional).

4.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado em uma Unidade de Terapia Intensiva do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

4.3 PERÍODO DE REFERÊNCIA

A coleta dos dados teve início em abril de 2020 e término em junho de 2021.

4.4 POPULAÇÃO DO ESTUDO

A amostra populacional foi não probabilística e selecionada por conveniência, através da análise retrospectiva do banco de dados do Hospital após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. Participaram do estudo 167 pacientes que estiveram internados em UTI apresentando SRAG por COVID-19.

4.4.1 Critérios de Inclusão

- Idade maior ou igual a 18 anos;
- Pacientes diagnosticados por COVID-19, confirmado segundo os critérios utilizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), através de transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR);
- Pacientes internados em UTI, que apresentaram quadro clínico de SRAG por COVID-19, conforme critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde.

4.4.2 Critérios de Exclusão

- Pacientes com falta de dados por falha de preenchimento no prontuário durante o internamento.

4.5 DELINEAMENTO DO ESTUDO

4.5.5 Monitoramento dos Parâmetros Clínicos

Após confirmação da infecção pelo SARS-CoV-2, através de RT-PCR, os pacientes foram admitidos na UTI do HC-UFPE mediante regulação de leitos do Estado de Pernambuco.

Ao chegar na UTI, aqueles que apresentavam saturação periférica de oxigênio (SpO_2) < 92% eram submetidos a oxigenioterapia suplementar. Os indivíduos que não respondiam à esta terapia, ou aqueles que permaneciam com desconforto respiratório, eram intubados precocemente e submetidos à ventilação mecânica invasiva (VMI).

Naquele período, no serviço onde foi realizado o estudo, os pacientes não eram submetidos à ventilação mecânica não invasiva (VNI) na fase inicial da doença, pelo risco de contaminação. As orientações dos órgãos de saúde competentes, na ocasião do estudo, para realizar esta terapia, não puderam ser atendidas por falta de material e estrutura física adequada. Desta forma, os pacientes que não apresentavam uma boa evolução com a oxigenioterapia convencional, eram intubados de forma precoce, na tentativa de evitar mais lesão pulmonar diante do esforço respiratório persistente.

Os dados referentes a informações sociodemográficas e clínicas (tempo de ventilação mecânica e índice PaO_2/FiO_2 , tempo de internação em UTI, tempo de internação hospitalar e desfecho) foram coletados através de consulta aos registros de prontuários dos pacientes e tabulados em uma planilha.

Na ocasião da pandemia, período em que os dados foram coletados, o grande volume de pacientes graves em contraste com a quantidade reduzida de profissionais com expertise atuando nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) se mostravam como obstáculo ao registro eficiente dos dados e evolução clínica dos internados nesta unidade.

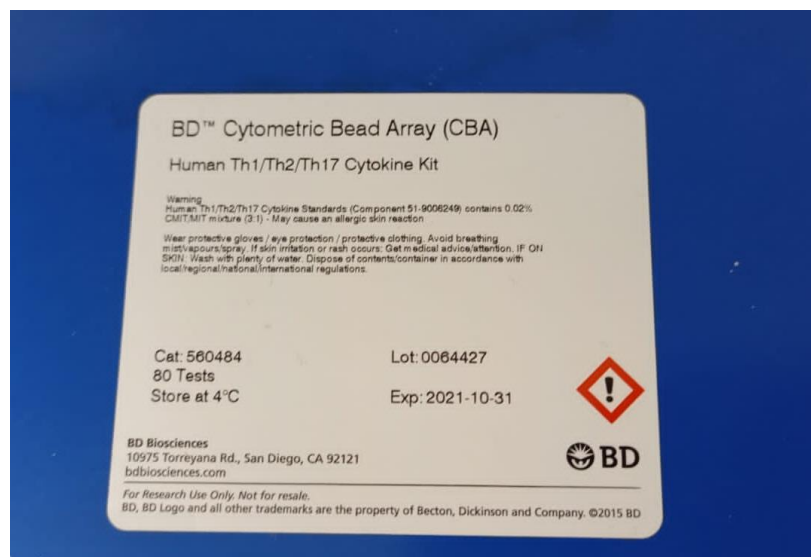
4.5.6 Coleta das Amostras de Sangue

Os exames laboratoriais de hematologia e bioquímica são realizados na admissão do paciente na UTI e conforme indicação clínica para monitorar as complicações, como lesão hepática aguda, lesão renal aguda, lesão cardíaca aguda ou choque.

As amostras foram coletadas pelo laboratório do hospital, na ocasião da realização dos exames hematológicos de rotina, seguindo todo o padrão de qualidade assistencial da instituição. As coletas para a dosagem das citocinas foram realizadas em dois momentos, na admissão na UTI (identificada como “M1”) e sete dias após a admissão (denominada “M2”).

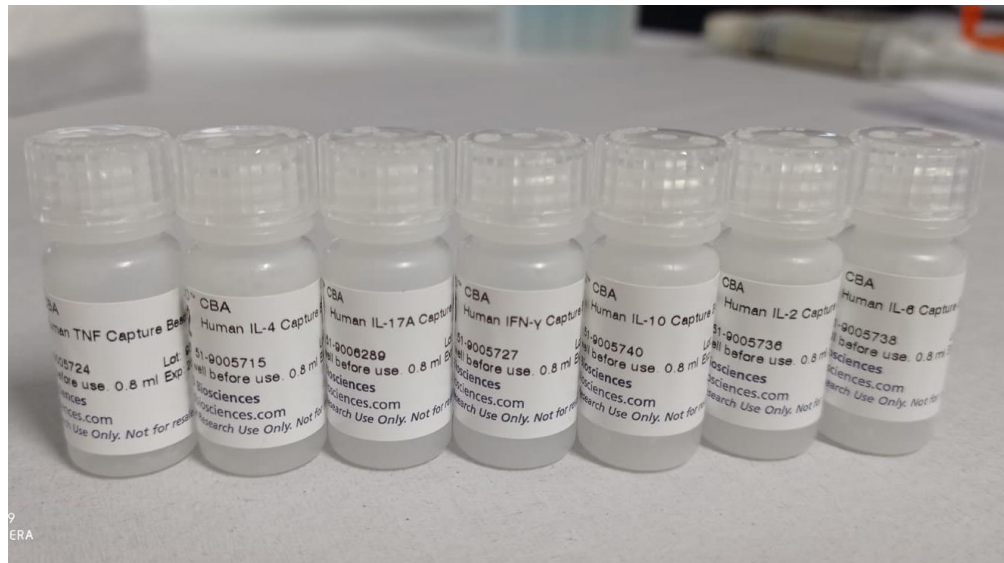
O sangue foi armazenado em caixa térmica com controle de temperatura e transportado pelo pesquisador até o Instituto Aggeu Magalhães/ FIOCRUZ, Departamento de Imunologia, onde as amostras foram centrifugadas, refrigeradas e, posteriormente, testadas as dosagens das citocinas pela utilização do Kit comercial (BD Cytometric Bead Array - CBA) (**Figura 3**).

Figura 3 - Kit comercial (BD Cytometric Bead Array – CBA)



Fonte: a autora

Figura 4 – Beads dos padrões de citocinas humanas liofilizada que compõem o BD Cytometric Bead Array - CBA



Fonte: a autora

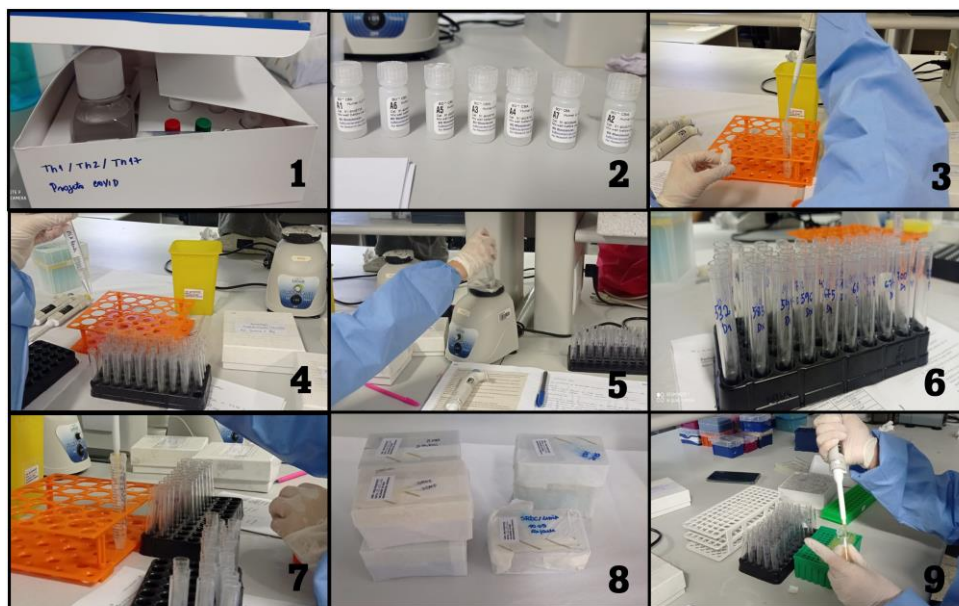
Para a realização desta pesquisa, os experimentos foram conduzidos conforme especificações da bula e protocolo de marcação proposto pelo fabricante (**Anexo B**). As citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ) foram quantificadas no plasma por citometria de fluxo. Para a análise das citocinas plasmáticas, foi utilizado o *software* FCAP *array* (BDbioscience), e os resultados foram expressos em pg/ml. A **Figura 5** mostra algumas etapas preparatórias para as análises das citocinas plasmáticas.

4.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Como variáveis dependentes, foram considerados o tempo de internação hospitalar; tempo de permanência na UTI; tempo de ventilação mecânica; desfecho (morte em 30 dias) e índice $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$.

A variável independente consiste no perfil das citocinas inflamatórias (interleucina 2 (IL-2), IL-6, $\text{TNF-}\alpha$ e IFN- γ) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10).

Figura 5 – Etapas preparatórias para as análises das citocinas plasmáticas utilizando o kit BD Cytometric Bead Array



Fonte: a autora

Legenda: kit BD Cytometric Bead Array – CBA (1), padrões de citocina inflamatória humana liofilizada (2), reconstituição e diluição (3), Mixed Capture Beads (4), centrifugação das contas de captura (5), diluição das amostras (6, 7), realizando o ensaio de citocina (8, 9).

4.7 ANÁLISE DOS DADOS

Para a análise dos dados foram utilizados os Softwares SPSS 13.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*) para Windows e o Microsoft Excel 365.

Todos os testes foram aplicados com 95% de confiança e os resultados foram calculados levando em consideração respostas válidas, ou seja, não foram contabilizadas as respostas ignoradas. Os resultados estão apresentados em forma de tabela com suas respectivas frequências absoluta e relativa. As variáveis numéricas estão representadas pelas medidas de tendência central e medidas de dispersão.

Para as variáveis quantitativas foi aplicado o Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov.

Para verificar a existência de associação entre as variáveis categóricas, foi aplicado o Teste Qui-quadrado.

A comparação com dois grupos foi realizada mediante o Teste *t Student* (Distribuição Normal) e *Mann-Whitney* (Não Normal).

Os testes entre grupos pareados foram realizados pela aplicação do *Wilcoxon*

(Não Normal).

4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo está inserido no projeto “Prospecção de biomarcadores de evolução clínica da COVID-19”, aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco, com Parecer Consubstanciado número 4.031.889 (**Anexo A**).

Foram cumpridos os princípios éticos previstos na Resolução 466/2012 do Ministério da Saúde do Brasil sobre pesquisas envolvendo seres humanos, respeitando o sigilo ético dos conteúdos e identificações dos sujeitos pesquisados.

O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (**Anexo B**) foi aplicado nas enfermarias, enquanto o paciente ainda estava internado, no ambulatório ou por contato telefônico, caso o paciente não tenha sido abordado pelo grupo de pesquisa anteriormente.

O contato com o paciente ou familiar, no caso de óbito, objetivou identificar o grupo de pesquisa e explicar de forma esclarecedora sobre o estudo proposto, além solicitar a autorização do TCLE, informando, inclusive, que o sangue foi coletado durante o internamento do paciente para realização de exames laboratoriais de rotina e que, após os resultados, o sangue foi guardado e estocado pelo próprio pesquisador.

A pesquisa obteve financiamento da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da UFPE, mediante contrato n. 43/20.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

5.1 ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTAS DAS CITOCINAS E GRAVIDADE DA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE DECORRENTE DO NOVO CORONAVÍRUS

JGES GUIMARÃES¹; PCP SANTOS², PSR ARAÚJO³, VMBL⁴

¹ Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional, Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional, Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

³ Hospital das Clínicas de Pernambuco, EBSEH. Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil.

⁴ Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Imunologia, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Tempestade de citocinas tem sido considerada como um dos principais mecanismos que contribuem para a lesão pulmonar aguda e o desenvolvimento da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) por Covid-19 (SARS-CoV-2). Diante do papel fundamental que as citocinas parecem desempenhar na fisiopatologia da COVID-19, torna-se essencial analisar e compreender melhor a sua influência no agravamento da doença. Neste contexto, o estudo visou analisar o perfil de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e a gravidade da SRAG por SARS-CoV-2. Trata-se de um estudo analítico, de natureza quantitativa, observacional retrospectivo, envolvendo 167 indivíduos que estiveram internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) apresentando SRAG por SARS-CoV-2, confirmados através de reação em cadeia da polimerase. Os dados referentes a informações sociodemográficas, clínicas e laboratoriais foram coletados através de dados secundários de prontuários. As citocinas IFN- γ , IL-10 e IL-6 se apresentaram elevadas no momento da admissão na UTI. Os níveis séricos das citocinas IL-10 e IL-6 permaneceram elevados para ambos os momentos, com associação significativa ao desfecho óbito. Ainda, houve relação destas citocinas com o grau de comprometimento pulmonar, necessidade de ventilação mecânica e tempo de internação hospitalar. Houve relação significativa entre índices elevados das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias com a gravidade da SRAG, especialmente em relação aos níveis de IL-6 e IL-10.

Palavras-chave: citocinas; COVID-19; SARS-CoV-2; síndrome respiratória aguda grave; mortalidade.

Abstract

Cytokine storm has been considered as one of the main mechanisms contributing to acute lung injury and the development of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) by Covid-19 (SARS-CoV-2). In view of the fundamental role that cytokines seem to play in the pathophysiology of COVID-19, it is essential to analyze and better understand their influence on the worsening of the disease. In this context, the study aimed to analyze the profile of inflammatory and anti-inflammatory cytokines and the severity of SARS by SARS-CoV-2. This is an analytical, quantitative, observational retrospective study, involving 167 individuals who were admitted to an Intensive Care Unit (ICU) with SARS due to SARS-CoV-2, confirmed by polymerase chain reaction. Data referring to sociodemographic, clinical and laboratory information were collected through secondary data from medical records. Cytokines IFN- γ , IL-10 and IL-6 were elevated upon admission to the ICU. Serum levels of IL-10 and IL-6 cytokines remained high for both moments, with a significant association with the outcome of death. Furthermore, there was a relationship between these cytokines and the degree of pulmonary impairment, need for mechanical ventilation and length of hospital stay. There was a significant relationship between elevated levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines and SARS severity, especially in relation to IL-6 and IL-10 levels.

Key words: cytokines; COVID-19; SARS-CoV-2; severe acute respiratory syndrome; mortality.

Introdução

O SARS-CoV-2 é responsável pela COVID-19 e se está associado principalmente a apresentações assintomáticas e leves, mas pode progredir, nos piores casos, para pneumonia grave, levando à Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), necessitando de suporte respiratório e consequente admissão na UTI (1). Além disso, aqueles que evoluem para sintomas mais graves, podem desenvolver complicações como eventos tromboembólicos, hiperinflamação e falência múltipla de órgãos (2).

As taxas de mortalidade estão comumente relacionadas ao envelhecimento e a presença de comorbidades como obesidade, diabetes, problemas cardiovasculares, câncer e hipertensão (3). Estudos também demonstraram uma ligação entre a resposta imune do hospedeiro e a gravidade da doença (4).

Pacientes com COVID-19 grave apresentaram rápido avanço dos infiltrados pulmonares e falência de múltiplos órgãos, concomitante com a liberação sustentada de citocinas inflamatórias e mediadores bioquímicos de inflamação. O principal fator responsável pela SRAG é a chamada “tempestade de citocinas”, que é uma resposta

anormal do sistema imunológico do hospedeiro, ocorrendo uma liberação exagerada de citocinas/quimiocinas pró-inflamatórias (2).

Quando estimulado pela presença do vírus SARS-CoV-2, o sistema de defesa dos pacientes pode responder de forma desregulada e exagerada, provocando a hiperinflamação das vias aéreas (5).

Diante do papel fundamental que as citocinas parecem desempenhar na fisiopatologia da COVID-19, torna-se essencial analisar e compreender melhor esses fatores subjacentes que influenciam no desenvolvimento da doença para que, com isso, possamos desenvolver métodos mais eficazes de controle e tratamento desta enfermidade. Neste contexto, este estudo visa analisar os perfis das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e a gravidade da SRAG por SARS-CoV-2.

Materiais e métodos

Trata-se de um estudo analítico, de natureza quantitativa, observacional retrospectivo, transversal, realizado na UTI do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Foram incluídos indivíduos maiores de 18 anos; diagnosticados para SARS-CoV-2 através de transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), internados em UTI com diagnóstico clínico de SRAG, sendo este definido por apresentar, simultaneamente, as seguintes manifestações: febre, mesmo que auto referida; tosse ou dor de garganta; dispneia ou saturação de oxigênio (O_2) < 94% ou desconforto respiratório; que tenham sido hospitalizados ou evoluído a óbito independentemente de hospitalização prévia (6). Foram excluídos indivíduos sem preenchimento adequado de dados em prontuário. A amostra foi constituída por 167 indivíduos.

As variáveis de interesse foram os tempos de internação hospitalar, permanência na UTI e ventilação mecânica (VM); relação do índice de pressão parcial de oxigênio no sangue arterial e a fração inspirada de oxigênio (PaO_2/FiO_2); e óbito em até 30 dias. Foram analisadas interleucina 2 (IL-2), interleucina 4 (IL-4), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), fator de necrose tumoral- α ($TNF-\alpha$) e interferon- γ (IFN- γ) através do *Kit BD Cytometric Bead Array* (CBA) no soro dos participantes com coletas tendo sido realizadas no momento da admissão na UTI e sete dias após a admissão.

Variações das medianas das concentrações das citocinas foram estudadas em

dois momentos. O primeiro momento corresponde à coleta realizada na admissão do paciente na UTI, identificada como “M1” e o segundo momento se refere à coleta realizada sete dias após a primeira, identificada como “M2”.

Os dados referentes a informações sociodemográficas e clínicas foram coletados através de dados secundários de prontuários e tabulados em planilha. As informações referentes aos exames laboratoriais foram extraídas a partir de registros dos resultados de exames coletados no período de internamento do paciente.

A amostra para a dosagem das citocinas foi coletada pelo laboratório do hospital durante a realização dos exames hematológicos de rotina, seguindo todo o padrão de qualidade assistencial da instituição. Para análise dos níveis plasmáticos das citocinas, foi utilizando o *Kit* comercial (BD Cytometric Bead Array - CBA), medidas pelo método de citometria de fluxo.

Para a análise dos dados foram utilizados os *Softwares* SPSS 13.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*) para *Windows* e o *Microsoft Excel* 365. Todos os testes foram aplicados com 95% de confiança.

Para as variáveis quantitativas foi aplicado o Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Para verificar a existência de associação entre as variáveis categóricas, foi aplicado o Teste *Qui-quadrado*. A comparação com dois grupos foi realizada mediante o Teste *t Student* (Distribuição Normal) e *Mann-Whitney* (Não Normal). Os testes entre grupos pareados foram realizados pela aplicação do *Wilcoxon* (Não Normal).

Este estudo está inserido no projeto “Prospecção de biomarcadores de evolução clínica da COVID-19”, aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco, com Parecer Consubstanciado número 4.031.889. A pesquisa obteve financiamento da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da UFPE, mediante contrato n. 43/20.

Resultados

Um total de 167 pacientes diagnosticados com SRAG foram incluídos para análise neste estudo, sendo 92 do sexo masculino (55,1%), com média de idade de $57,19 \pm 14,88$ anos de vida.

O tempo médio de internação hospitalar foi de $20,46 \pm 22,02$ dias e de

permanência na UTI de $10,75 \pm 11,39$ dias. A maioria necessitou de VM (58,4%), por uma média de $7,54 \pm 10,54$ dias. O índice $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ sugeriu presença de lesão pulmonar aguda para a maioria dos pacientes, com valor médio de $201,38 \pm 118,54$. A maioria dos pacientes teve alta hospitalar (61,7%) e 64/167 (38,3%) morreram durante a internação hospitalar, sendo que 58 (34,7%) ainda nos 30 dias após a internação hospitalar (**Tabela 1 e Tabela 2**).

Tabela 1 – Distribuição do número e porcentagem das variáveis sexo, desfecho, via de respiração e morte em 30 dias de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Variáveis	n	%
Sexo		
Masculino	92	55,1
Feminino	75	44,9
Desfecho		
Alta	103	61,7
Óbito	64	38,3
RE/VM		
RE	69	41,6
VM	97	58,4
Morte em 30 dias		
Sim	58	34,7
Não	109	65,3

Legenda: RE (respiração espontânea); VM (ventilação mecânica).

Tabela 2 – Distribuição das médias das variáveis idade, relação da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial e a fração inspirada de oxigênio, dias de UTI, tempo de internação hospitalar e tempo de ventilação mecânica de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Variáveis	Média $\pm$ DP
Idade	$57,19 \pm 14,88$
$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	$201,38 \pm 118,54$
Dias de UTI	$10,75 \pm 11,39$
Tempo de internação hospitalar	$20,46 \pm 22,02$
Tempo de VM	$7,54 \pm 10,54$

Legenda: $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (relação da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial e a fração inspirada de oxigênio); UTI (Unidade de Terapia Intensiva); VM (ventilação mecânica).

Na admissão na UTI (M1), os níveis de IFN- γ , IL-10 e IL-6 se apresentaram aumentados em relação às outras citocinas estudadas (**Tabela 3**), havendo uma diferença estatisticamente significativa dos níveis destas citocinas na primeira avaliação em relação a segunda avaliação realizada sete dias após admissão na UTI (M2) ($p < 0,001$).

Tabela 3 – Distribuição e comparação entre a primeira e segunda avaliação das concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Citocinas	Momentos		p-valor *
	Avaliação 1 Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	Avaliação 2 Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	
IFN- γ	5,15 (4,78; 5,55)	4,72 (4,44; 5,01)	< 0,001
TNF- α	3,75 (3,42; 3,98)	3,62 (3,39; 3,98)	0,249
IL-10	8,57 (6,82; 11,50)	6,26 (5,64; 7,48)	< 0,001
IL-6	41,90 (19,31; 73,78)	19,23 (13,26; 41,38)	< 0,001
IL-4	3,08 (2,89; 3,25)	3,01 (2,76; 3,28)	0,079
IL-2	6,93 (6,69; 7,18)	6,99 (6,72; 7,28)	0,512

Legenda: IFN- γ (Interferon); TNF- α (fator de necrose tumoral); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4); IL-6 (interleucina 6); IL-10 (Interleucina 10). * Teste de *Wilcoxon*

A média do Índice PaO₂/FiO₂ (168,91) foi menor para os pacientes que foram submetidos à ventilação mecânica (VM), sugerindo lesão pulmonar grave. Pacientes que permaneceram em respiração espontânea (RE) apresentaram médias elevadas de PaO₂/FiO₂ (248,85) em relação aos demais que necessitaram de VM (p<0,001).

A maioria dos pacientes permaneceu cerca de 22 dias na UTI. Os pacientes que foram submetidos à VM passaram mais dias em UTI (p<0,001), com permanência de 12 dias em comparação aos pacientes que permaneceram em RE, os quais permaneceram por quatro dias na UTI. Aqueles que subsistiram em RE apresentaram maiores índices de alta (61,2%), comparado aos pacientes que utilizaram VM (38,8%) (p<0,001).

A maioria dos pacientes que morreu foi submetida à VM (90,5%) e, destes, 89,5% (n=51) dos óbitos ocorreram em até 30 dias.

Pacientes que apresentaram, no M1 níveis séricos das citocinas anti-inflamatória IL-10 (8,86 pg/mL) e pró-inflamatória IL-6 (49,63 pg/mL) elevadas em relação as demais citocinas, apresentaram maior necessidade de VM (p<0,001) (Tabela 4 e Tabela 5).

Tabela 4 – Relação entre respiração espontânea/ventilação mecânica e concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Citocinas	RE/VM		p-valor **
	RE	VM	
	Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	
M1 IFN- γ	4,86 (4,55; 5,19)	5,09 (4,71; 5,65)	0,091
M1 TNF- α	3,49 (3,32; 3,81)	3,68 (3,38; 3,99)	0,042
M1 IL-10	6,70 (5,49; 8,41)	8,86 (6,70; 12,82)	< 0,001
M1 IL-6	16,12 (9,72; 43,36)	49,63 (19,46; 75,66)	< 0,001
M1 IL-4	2,98 (2,82; 3,26)	3,05 (2,86; 3,24)	0,857
M1 IL-2	6,81 (6,63; 6,99)	6,87 (6,69; 7,14)	0,272
M2 IFN- γ	4,87 (4,44; 5,32)	4,66 (4,46; 4,97)	0,380
M2 TNF- α	3,85 (3,47; 4,04)	3,60 (3,35; 3,98)	0,136
M2 IL-10	6,10 (5,51; 6,97)	6,55 (5,66; 8,52)	0,083
M2 IL-6	17,47 (11,79; 26,99)	21,86 (13,42; 42,62)	0,298

Legenda: M1 (admissão na UTI); M2 (sete dias após admissão na UTI); RE (respiração espontânea); VM (ventilação mecânica); IFN- γ (interferon); TNF- α (fator de necrose tumoral); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4); IL-6 (interleucina 6); IL-10 (interleucina 10). ** *Mann-Whitney*

Tabela 5 – Relação entre respiração espontânea/ventilação mecânica e concentrações plasmáticas médias das citocinas IL-2 e IL-4 de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Variáveis	RE/VM		p-valor ***
	RE	VM	
	(n= 69) Média $\pm$ DP	(n= 97) Média $\pm$ DP	
M2 IL-4	3,04 $\pm$ 0,42	3,06 $\pm$ 0,45	0,898
M2 IL-2	7,12 $\pm$ 0,43	7,04 $\pm$ 0,61	0,643

Legenda: M2 (sete dias após admissão na UTI); RE (respiração espontânea); VM (ventilação mecânica); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4); IL-6 (interleucina 6); IL-10 (interleucina 10). *** *t Student*

Pacientes que apresentaram tempo de internação hospitalar mais prolongado (mediana de 17 dias) apresentaram maiores índices de alta hospitalar ($p < 0,001$) quando comparados àqueles que permaneceram internados por menos tempo (mediana de nove dias). Neste contexto, 75% dos internados que foram submetidos à VM por 14 ou mais dias, evoluíram para óbito ($p < 0,001$). Houve relação estatisticamente significativa entre níveis séricos mais elevados de IL-10 e IL-6 no M1 e M2 com desfecho morte ($p < 0,001$) (**Tabela 6 e Tabela 7**).

Tabela 6 – Relação entre desfecho morte e recuperação e concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Citocinas	Óbito		p-valor **
	Sim (n= 64)	Não (n= 103)	
	Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	
M1 IFN- γ	4,95 (4,61; 5,39)	4,98 (4,65; 5,43)	0,877
M1 TNF- α	3,60 (3,34; 4,02)	3,60 (3,34; 3,86)	0,703
M1 IL-10	9,41 (6,72; 13,25)	7,36 (6,04; 9,13)	0,006
M1 IL-6	40,17 (22,22; 81,22)	22,40 (11,44; 68,34)	0,037
M1 IL-4	3,05 (2,76; 3,24)	3,01 (2,88; 3,24)	0,518
M1 IL-2	6,87 (6,72; 7,18)	6,81 (6,63; 7,01)	0,131
M2 IFN- γ	4,81 (4,44; 5,14)	4,66 (4,44; 5,01)	0,689
M2 TNF	3,71 (3,32; 4,02)	3,60 (3,42; 3,92)	0,910
M2 IL-10	7,24 (6,12; 9,18)	5,94 (5,51; 6,81)	< 0,001
M2 IL-6	41,20 (18,92; 71,47)	17,19 (11,79; 23,20)	0,001

Legenda: M1 (admissão na UTI); M2 (sete dias após admissão na UTI); IFN- γ (Interferon); TNF- α (fator de necrose tumoral); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4); IL-6 (interleucina 6); IL-10 (interleucina 10). ** *Mann-Whitney*

Tabela 7 – Relação entre desfecho e concentrações plasmáticas médias das citocinas IL-2 e IL-4 de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Citocinas	Óbito		p-valor ***
	Sim (n= 64)	Não (n= 103)	
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	
M2 IL-4	3,09 $\pm$ 0,50	3,03 $\pm$ 0,40	0,602
M2 IL-2	7,04 $\pm$ 0,74	7,08 $\pm$ 0,40	0,792

Legenda: M2 (sete dias após admissão na UTI); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4). *** *t Student*

Os pacientes morreram em até 30 dias apresentaram mediana de 8 dias de internação hospitalar, enquanto aqueles que permaneceram vivos neste período, apresentaram uma mediana de 18 dias de internação hospitalar ($p < 0,001$), entretanto, 50% daqueles submetidos à VM por ao menos sete dias, evoluíram para a morte em até 30 dias ($p < 0,001$).

Níveis séricos de IL-10 (7,51 pg/mL) e IL-6 (41,55 pg/mL) no M2 apresentaram relação estatisticamente significativa com desfecho morte em até 30 dias ($p = 0,001$ e $p = 0,002$, respectivamente). Indivíduos que apresentaram desfecho morte e morte em até 30 dias apresentaram uma média de idade maior que $65,00 \pm 13,73$ e $64,71 \pm 14,00$ anos, respectivamente, em relação aos pacientes recuperados (**Tabela 8 e Tabela 9**).

Tabela 8 – Correlações em relação ao desfecho óbito em até 30 dias e concentrações plasmáticas medianas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Citocinas	Óbito em até 30 dias		p-valor **
	Sim	Não	
	Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	Mediana (P ₂₅ ; P ₇₅)	
M1 IFN- γ	4,95 (4,63; 5,42)	4,97 (4,62; 5,41)	0,937
M1 TNF- α	3,53 (3,28; 4,10)	3,62 (3,36; 3,86)	0,994
M1 IL-10	10,20 (6,74; 13,89)	7,46 (6,07; 9,20)	0,006
M1 IL-6	43,72 (24,17; 99,69)	22,40 (11,53; 66,49)	0,018
M1 IL-4	3,08 (2,71; 3,24)	3,01 (2,87; 3,24)	0,692
M1 IL-2	6,93 (6,69; 7,18)	6,81 (6,63; 7,04)	0,092
M2 IFN- γ	4,66 (4,36; 5,01)	4,72 (4,44; 5,01)	0,778
M2 TNF	3,83 (3,32; 4,06)	3,60 (3,42; 3,98)	0,515
M2 IL-10	7,51 (6,16; 12,75)	5,98 (5,51; 6,93)	0,001
M2 IL-6	41,55 (19,63; 71,44)	17,26 (11,93; 30,58)	0,002

Legenda: M1 (admissão na UTI); M2 (sete dias após admissão na UTI); IFN- γ (Interferon); TNF- α (fator de necrose tumoral); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4); IL-6 (interleucina 6); IL-10 (interleucina 10). ** *Mann-Whitney*

Tabela 9 – Correlações em relação ao desfecho óbito em 30 dias e concentrações plasmáticas médias das citocinas IL-2 e IL-4 de 167 pacientes diagnosticados com SRAG por SARS-CoV-2.

Citocinas	Óbito em até 30 dias		p-valor ***
	Sim	Não	
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	
M2 IL-4	3,13 $\pm$ 0,55	3,02 $\pm$ 0,38	0,323
M2 IL-2	7,02 $\pm$ 0,81	7,08 $\pm$ 0,40	0,690

Legenda: M2 (sete dias após admissão na UTI); IL-2 (interleucina 2); IL-4 (interleucina 4). *** *t Student*

Discussão

A maioria dos pacientes internados era do sexo masculino, resultado semelhante aos estudos anteriores, em que homens têm maior probabilidade de contrair e transmitir o vírus da COVID-19 do que as mulheres, bem como são mais suscetíveis a desenvolver casos graves e morrer em decorrência da doença (7).

Neste estudo, pacientes que evoluíram para o óbito em 30 dias apresentaram uma média de idade maior em relação aos pacientes que permaneceram vivos. Idade avançada e COVID-19 são dois fatores que podem influenciar na gravidade da doença causada pelo coronavírus. Pessoas com mais de 60 anos têm maior risco de desenvolver complicações e óbito pela COVID-19 e isso

se deve, em parte, à presença de comorbidades nessa faixa etária e maior susceptibilidade à infecção por mudanças na resposta do sistema imunológico do organismo decorrente da idade (8).

Estudos apontam uma correlação significativa da idade com a gravidade do acometimento pulmonar, também sendo referida como fator de risco para a pneumonia por COVID-19 grave e internação em UTI (9,10,11). Em termos de preditores de severidade, idade mais avançada foi a única variável independentemente associada à necessidade de ventilação mecânica (9). Para Morais Filho *et al.* (12), a idade apresentou associação com óbito, também sendo, um preditor independente de mortalidade.

Um levantamento abrangendo cerca de 50 UTI's públicas e privadas estimou o tempo médio de permanência hospitalar para tratamento de COVID-19 em 22 dias, e de UTI em 11,6 dias (13). Estes dados refletem os resultados apresentados nesta pesquisa, o que influenciou a necessidade emergente de reorganização dos serviços de saúde, considerando a taxa de ocupação dos leitos em função do tempo de permanência do paciente pelos cuidados intensivos necessários na fase aguda da doença.

Na COVID-19, a maioria dos pacientes apresenta um curso clínico leve da doença. No entanto, cerca de 15% dos casos de COVID-19 evoluem para doença grave, que pode requerer oxigenoterapia ou hospitalização (14). Considerando que o período de incubação viral pode durar em média cinco a sete dias, é possível que os sintomas demorem até 14 dias para aparecer após a infecção. Ainda no ano de 2021, o tempo de duração entre o início dos sintomas e a admissão hospitalar foi em média de seis dias, e, para a admissão em UTI, de sete dias (15). Neste contexto, a busca pela assistência de saúde ocorria tardiamente, na ocorrência dos sintomas respiratórios significativos, o que permite inferir que estes pacientes já eram admitidos em condições clínicas mais graves, com insuficiência respiratória aguda instalada.

Como evidenciado nesta pesquisa, mesmo apresentando um quadro de lesão pulmonar aguda no momento da internação, a maioria dos pacientes teve alta. No entanto, entre aqueles que morreram, o óbito ocorreu, em sua maioria, nos primeiros 30 dias de internação, evidenciando, assim, a rápida progressão do processo inflamatório decorrente da infecção por uma possível desregulação imunológica. Quando existe resposta inflamatória adequada, os pacientes não progridem da fase leve e ocorre resolução da infecção. À medida que existe uma resposta imune

exacerbada, a doença evolui para as formas graves e crítica (16).

Perfil das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias na fase aguda da SRAG por SARS-CoV-2 de pacientes internados em UTI

Os dados analisados evidenciaram uma diferença estatisticamente significativa nas concentrações das citocinas IFN- γ , IL-10 e IL-6, em relação aos momentos analisados. No entanto, podemos observar diferenças no comportamento destas citocinas no curso da doença. Na primeira coleta, realizada na admissão na UTI, as citocinas pró-inflamatórias IFN- γ e IL-6 se apresentaram elevadas em comparação as outras citocinas estudadas. Entretanto, apenas os níveis de IFN- γ se reduziram após sete dias.

Níveis séricos elevados de IFN- γ foram relatados anteriormente em pacientes com SARS-CoV e Síndrome Respiratória do Oriente Médio (17). Pode-se inferir que, o valor elevado desta citocina, no momento da admissão na UTI, reflete uma resposta imunológica inicial do organismo, para indução da atividade macrofágica de destruição do patógeno e ampliação na liberação das demais citocinas (pró-inflamatórias, pró-fibróticas e regulatórias da resposta imune) (16). Huang et al. (18) evidenciaram que os níveis séricos de IFN- γ eram maiores em pacientes com COVID-19 do que em indivíduos saudáveis e propuseram que a elevação dessa e de outras citocinas pode resultar da ativação de células T *helper* 1 (Th1) e T *helper* 2 (Th2).

Em outro estudo, os níveis dessa citocina eram mais baixos nas células de grupamento de diferenciação 4 (T CD4+) de pacientes infectados pelo coronavírus com sintomas graves *versus* leves, sugerindo que a infecção pode afetar inicialmente as células T CD4+ e as células de grupamento de diferenciação 8 (CD8+), reduzindo assim a produção de IFN- γ (19). Sabe-se que as respostas diminuídas dos linfócitos T retardam ainda mais a depuração viral, levando assim a um ciclo vicioso acionado por citocinas (4).

A produção de IL-6 é induzida rapidamente durante as reações inflamatórias agudas, especialmente nas fases iniciais, induzindo um grande número de proteínas de fase aguda, incluindo proteína C-reativa (PCR), amiloide sérica A (SAA), fibrinogênio, haptoglobina, e α 1-antitripsina, portanto, uma alta expressão da IL-6 em pacientes com COVID-19 pode acelerar o processo inflamatório, contribuindo para a tempestade de citocinas e piorando o prognóstico). Níveis elevados de IL-6 foram

observados em casos de SRAG e relacionados à gravidade dos sintomas e no SARS-CoV, estando implicado na possível disfuncionalidade dos linfócitos T (17).

Como descrito em 2004, pacientes com SRAG tinham elevação marcada de citocina IFN- γ , citocinas inflamatórias IL-1, IL-6 e IL-12 para pelo menos duas semanas após o início da doença (20).

Um estudo de 452 pacientes infectados com SARS-CoV-2 evidencia que a elevação dos níveis de IL-6 apresentou relação com sintomas mais graves (21), mau prognóstico e gravidade da lesão pulmonar em pacientes com COVID-19 que desenvolveram pneumonia (19).

Estudos têm utilizado mecanismos farmacológicos bloqueadores de IL-6 em pacientes com COVID-19 e os achados fornecem evidências que apoiam os resultados favoráveis. Os índices de oxigenação respiratória em pacientes com COVID-19 que apresentavam estado crítico ou grave melhoraram em graus variados com a utilização de anticorpo monoclonal recombinante do receptor de IL-6, sugerindo o potencial de bloqueio progressão inflamatória para reduzir a mortalidade (19). Wan et al. (22) referem melhora nos níveis de CD4⁺ T, CD8⁺ T e IL-6 em pacientes com COVID-19 grave antes da alta, sugerindo que a função imunológica celular dos pacientes havia sido restaurada durante o período de internação.

Assim como com outras citocinas, os níveis de IL-10 se apresentaram elevados em pacientes com COVID-19, comparado àqueles com SARS-CoV ou Síndrome Respiratória do Oriente Médio (16,17).

Sun et al. (23) relataram que os níveis de IFN- γ , IL-6 e IL-10 eram maiores em pacientes com infecção por SARS-CoV-2, mas não diferiam entre pacientes que necessitavam de internação em UTI e aqueles que não necessitavam.

Em estudo realizado por Del Valle *et al.* (24) a maioria dos pacientes apresentou citocinas elevadas ou tempestade de citocinas, mas, estes níveis de citocinas não foram tão altamente correlacionados entre si, sugerindo padrões diferenciais de expressão de citocinas e apresentações clínicas potencialmente distintas com base no perfil relativo de cada citocina independente.

Evolução da gravidade da SRAG por SARS-CoV-2 de acordo com o tempo de ventilação mecânica e a relação PaO₂/FiO₂

Estudos apontam que a saturação de oxigênio em ar ambiente, no momento

da admissão na UTI esteve associada significativamente a um maior grau de envolvimento pulmonar, necessidade de internação, ventilação mecânica e óbito, o que também foi visto na literatura (12). De acordo com Bastos *et al.* (25), índices baixos de $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ estiveram significativamente associados à necessidade de ventilação mecânica, ao estágio de progressão da doença e à morte precoce ou admissão na UTI em pacientes hospitalizados, especialmente naqueles com envolvimento pulmonar.

Em estudo de coorte envolvendo 254.288 pacientes hospitalizados com COVID-9 no Brasil, Ranzani *et al.* (15), demonstraram uma taxa de mortalidade hospitalar de aproximadamente 60% entre os pacientes admitidos na UTI e de cerca de 80% entre aqueles que receberam VM.

Os resultados deste estudo apontam que, dos pacientes que foram a óbito (N=74), 75% foram submetidos a VM por 14 dias. Bastos *et al.* (25) analisaram os dados de pacientes internados em decorrência da COVID-19 no Brasil, a partir de registros no Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica da Gripe (SIVEP-Gripe) no ano de 2020. Os autores relataram que dentre os indivíduos que receberam VM, 80% (36.046 / 45.205) foram a óbito. Em estudo desenvolvido por Corrêa *et al.* (10), os pacientes que usaram VM tiveram mortalidade hospitalar mais alta em comparação àqueles que não a usaram. Os tempos de internação em UTI e hospitalar foram mais longos em pacientes que usaram VM em comparação aos que não usaram ventilação mecânica. O mesmo estudo identificou que os preditores independentes de mortalidade hospitalar incluíram idade e necessidade de VM.

Em uma metanálise de um total de 28 estudos e 12.437 pacientes admitidos na UTI com COVID-19 em todo o mundo, a mortalidade dos pacientes admitidos em UTI e mecanicamente ventilados foi de 28,3% e 43%, respectivamente (26).

Um estudo retrospectivo concluiu que a necessidade de VM foi comum tanto em pacientes graves hospitalizados devido à COVID-19, quanto à influenza. No entanto, em comparação com aqueles com influenza, os pacientes na UTI com COVID-19 tiveram piores resultados respiratórios, incluindo maior duração da ventilação mecânica. Além disso, os pacientes nestas condições apresentavam maior risco de mortalidade hospitalar (27).

Os pacientes que morreram em até 30 dias apresentaram uma mediana de oito dias de internação hospitalar e metade dos pacientes que foram submetidos à VM evoluíram para o óbito. Segundo Corrêa *et al.* (10), pacientes com quadro grave da

COVID-19 admitidos na UTI apresentaram considerável mortalidade e morbidade, com alta demanda de terapia de suporte e internação prolongada na UTI.

Perfil das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e comprometimento pulmonar através da relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$

Para Channappanavar e Perlman (28,29) relatam que a ativação hiperinflamatória caracterizada por infiltração de células imunes e níveis elevados de citocinas como as IL-6, IL-8, IL-10, proteína 10 induzida por interferon gama (IP-10) e Pentraxina 3 (PTX3), é o principal mecanismo que leva a doença crítica e SRAG.

Em uma análise de subconjuntos de linfócitos e citocinas de 123 pacientes (102 pacientes leves e 21 graves), pesquisadores evidenciaram que o número de células T CD4+ e células T CD8+ diminuiu, e os níveis de IL-6 e IL-10 aumentou em casos graves (30).

Em achados de Del Valle *et al.* (24), níveis de IL-6 e IL-8 estavam intimamente correlacionados com a escala de gravidade (moderada, grave e grave com lesão de órgão-alvo), que leva em consideração imagens pulmonares, depuração de creatinina, vasoativos e uso de ventilação, enquanto TNF- α não distinguiu apresentação moderada de COVID-19 grave ou uso de VM, mas, em vez disso, aumentou apenas com dano de órgão-alvo.

Tanto IL-2 quanto IL-6 foram estatisticamente correlacionados com a gravidade da lesão pulmonar acessada pelo escore de gravidade da tomografia computadorizada e $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ em pacientes com COVID-19 com pneumonia (19).

Perfil das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias e o tempo de ventilação mecânica, tempo de permanência na UTI tempo de internação hospitalar e morte em 30 dias

O tempo de recuperação do paciente com COVID-19 depende da gravidade dos sintomas, das condições clínicas do paciente, da disponibilidade de recursos terapêuticos e das possíveis complicações ou sequelas da doença. Estudos mostram que o tempo médio de UTI para pacientes com COVID-19 é de cerca de 14 dias, e o tempo médio de ventilação mecânica é de cerca de 10 dias (31). Neste estudo, os pacientes submetidos à VM passaram mais tempo em UTI, com uma mediana de 12

dias, em relação aos pacientes que permaneceram em respiração espontânea.

A implementação de terapias e medidas de monitoramento de suporte, incluindo o monitoramento dos sinais de alerta de complicações (especialmente insuficiência respiratória e sepse de progressão rápida) e suas comorbidades são importantes estratégias de controle da progressão da doença nos pacientes internados. Os critérios de internação do paciente com SRAG por COVID-19 em enfermaria considera o diagnóstico clínico da SRAG, presença de comorbidades e outros sinais de gravidade, saturação de $O_2 > 92\%$ em oxigênio por cateter nasal até 6L/min., frequência respiratória < 25 incursões respiratórias por minuto (IRPM) e ausência de quadro clínico de sepse ou choque séptico (6). Ainda na enfermaria, o paciente é monitorado periodicamente quanto aos sinais vitais, oxigenação, exames laboratoriais e de imagem. Neste ambiente haverá garantia de hidratação, nutrição e a mobilização precoce do paciente, bem como a prescrição de medicamentos sintomáticos e profiláticos para outras possíveis complicações. Diante do exposto, o tempo de permanência do paciente internado pode ser prolongado e a adoção das medidas supracitadas influencia em sua recuperação. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, a recuperação ocorre, em média, em duas semanas para os casos leves e moderados (32).

O tempo de ventilação mecânica pode se constituir como um fator de risco para o desenvolvimento de complicações de saúde e para o aumento da mortalidade dos pacientes (13,15,25). Os dados desta pesquisa refletem que aqueles pacientes que evoluíram para óbito, apresentaram uma mediana de 8 dias de VM. Isto pode estar associado tanto a rápida evolução da doença, quanto gravidade do quadro apresentado pelo paciente e aos próprios fatores de risco inerentes à VM. O papel do fisioterapeuta é fundamental no processo de desmame, pois ele pode avaliar, monitorar e intervir no paciente, visando otimizar sua função respiratória, prevenir complicações e facilitar a retirada da ventilação mecânica (33).

O biotrauma é o processo inflamatório desencadeado pelas estratégias ventilatórias lesivas, que envolve a liberação de mediadores inflamatórios, levando à liberação de citocinas pró-inflamatórias, recrutamento de leucócitos e inflamação. Sabe-se que a IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que regula negativamente a expressão de citocinas pró-inflamatórias, antígenos de classe II do complexo principal de histocompatibilidade e moléculas coestimulatórias em macrófagos. Em um possível contexto inflamatório associado ao biotrauma decorrente da VM na admissão na UTI,

esta citocina pode desempenhar um papel importante na limitação da resposta imune e na prevenção de danos ao hospedeiro enquanto mantém a homeostase normal dos tecidos, mantendo efeitos protetores na lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica (LPIV), ao reduzir a inflamação e o estresse oxidativo nos pulmões (34).

A LPIV é outro efeito adverso da VM, caracterizada por dano pulmonar com produção local de citocinas, infiltrado inflamatório neutrofílico e quebra da barreira alveolocapilar. Importante destacar que a citocina pró-inflamatória IL-6 é uma das citocinas envolvidas na LPIV, sendo produzida pelas células alveolares e endoteliais em resposta à distensão pulmonar (35). A IL-6 também pode atuar como um fator de agravo da LPIV pelo aumento da permeabilidade vascular pulmonar, facilitando o edema e a hemorragia alveolar, bem como potencializando a inflamação e a lesão celular. Associado a este fenômeno, a IL-6 também tem sido descrita como um fator crítico na resposta imune à COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, o que se reflete em valores significativamente elevados desta citocina no momento da admissão na UTI, quando comparada as outras citocinas.

Houve relação estatisticamente significativa entre níveis séricos mais elevados da citocina anti-inflamatória IL-10 e citocina pró-inflamatória IL-6, tanto no momento da admissão na UTI como sete dias após admissão e tendência para o óbito.

Todos os braços do sistema imune, respostas inata e adaptativa, bem como mediadores e células imunológicas estão envolvidos na resposta ao SARS-CoV-2. As citocinas envolvidas no sistema imune inato desempenham um papel fundamental na defesa contra patógenos, na inflamação e na modulação da resposta imune adaptativa. Considerando que as fases da COVID-19 parecem estar relacionadas à intensidade da resposta imune, temos que em geral, os pacientes são admitidos na UTI ainda na fase aguda da doença, onde ainda há uma atividade significativa do sistema imune inato. No caso da SRAG, a hiperatividade da resposta imune inata desencadeia uma série de ocorrências e, especificamente, está relacionada à tempestade de citocinas, que pode gerar também lesão de múltiplos órgãos e coagulação intravascular disseminada (36).

A IL-6 é uma das principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas na resposta imune ao SARS-CoV-2, pela a indução da fase aguda de resposta e ativação de células imunes. Estudos demonstram que uma alta expressão de IL-6 em pacientes com COVID-19 pode acelerar o processo inflamatório, contribuindo para a tempestade de citocinas e piorando o prognóstico (17), estando associada a piores desfechos

clínicos em pacientes com COVID-19, especialmente naqueles com doença grave ou crítica.

Estudos de Wan et al. (22) demonstram que as taxas de sobrevivência mais altas ocorreram no grupo leve e naqueles com IL-6 dentro dos valores normais. Portanto, a IL-6 pode ser considerada um dos principais biomarcadores inflamatórios associados à gravidade e ao óbito em pacientes com COVID-19, pois contribui para a desregulação imunológica hiperinflamatória que caracteriza essa doença.

Pesquisas apontam que, embora não tenha havido diferença significativa na carga de ácido ribonucleico (RNA) viral entre pacientes com COVID-19 moderada e grave, os pacientes com doença moderada mostraram um declínio constante na carga viral ao longo do curso da doença, enquanto aqueles com doença grave não.

As correlações longitudinais de citocinas, medidas em termos de dias a partir do início dos sintomas, indicaram que as principais diferenças nos fenótipos imunológicos entre doença moderada e grave eram aparentes após o dia 10 de infecção. Nos primeiros dias, os pacientes infectados apresentaram citocinas, quimiocinas e marcadores imunológicos semelhantes; após o décimo dia, esses marcadores diminuíram constantemente em pacientes com doença moderada e se mantiveram elevados nos pacientes considerados graves (37). Tanto a IL-6, quanto a IL-10, se apresentaram elevados em relação às outras citocinas estudadas, desde a admissão do paciente na UTI até o sétimo dia após admissão. Neste contexto, as respostas inflamatórias continuavam acontecendo, contribuindo para seu agravamento e desfecho.

IL-10 é uma citocina anti-inflamatória e imunossupressora que é produzida por várias células do sistema imunológico, tendo como principal função a inibição da resposta imune do hospedeiro a patógenos e microbiota, evitando, assim, danos teciduais e imunopatologia. A elevação dramática precoce de IL-10 parece ser uma característica distintiva da hiperinflamação durante a infecção grave por SARS-CoV-2, como uma tentativa de atenuar a hiperinflamação e prevenir danos teciduais (19).

Chen et al. (19) detectaram índices de IL-10 elevados em pacientes com COVID-19 e relacionou seus níveis com a gravidade e progressão da doença, assim no caso de outras citocinas. Outros estudos indicam que os níveis de IL-10 predizem desfechos desfavoráveis em pacientes com COVID-19, por apresentar efeitos pró-inflamatórios “não clássicos” que contribuem para a tempestade de citocinas durante a COVID-19 ou alguma resistência à ação anti-inflamatória clássica de IL-10 em

pacientes com COVID-19 grave (38). Neste contexto, os níveis elevados de IL-10 em pacientes graves com COVID-19 podem ser inicialmente atribuídos a um mecanismo de *feedback* negativo por meio de suas atividades anti-inflamatórias.

Lu *et al.* (38) propuseram um papel participativo da IL-10 em dois estágios na progressão da doença por COVID-19. No início da infecção viral, a IL-10 atua como uma contramedida aos moduladores pró-inflamatórios em um mecanismo de *feedback* negativo. No entanto, com a progressão da doença, o nível endógeno de IL-10 aumenta, ativando seu aspecto pró-inflamatório e contribuindo para a furiosa tempestade de citocinas.

Estudos mostram que os pacientes com quadro grave de COVID-19 podem apresentar níveis significativamente elevados de IL-6 e a IL-10, quando comparadas as outras citocinas e esta possível desregulação na resposta imune contra o COVID-19 pode influenciar na gravidade da doença (39).

Ainda no início da pandemia no Brasil, próximo ao período de referência deste estudo, a falta de conhecimento sobre o curso da doença, a organização dos serviços de saúde e as constantes atualizações nos protocolos clínicos introduziu algumas limitações à investigação. Uma delas esteve relacionada ao próprio diagnóstico da SRAG por COVID-19, que inicialmente, estava baseado primordialmente nas condições clínicas dos pacientes, considerando a série de sintomas apresentados, enquanto aguardavam os resultados dos exames laboratoriais, e, em detrimento da falta de recursos físicos e humanos, logística e condições clínicas dos pacientes que pudessem ser submetidos a exames de imagem com maior definição, como a tomografia computadorizada. Importante ressaltar que os casos de SRAG por COVID-19 no Brasil só passaram a ser de fato confirmados por testes laboratoriais no Brasil a partir da 10^a semana epidemiológica (março de 2020). Outra limitação esteve relacionada a baixa qualidade no preenchimento de informações importantes nos prontuários dos pacientes, especialmente aquelas que visam descrever características clínicas e epidemiológicas do agravo, bem como do processo de internação.

Houve relação significativa entre índices elevados das citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias com a gravidade da SRAG, especialmente em relação aos níveis de IL-6 e IL-10 quando comparadas as demais citocinas estudadas, com implicações importantes nos índices de PaO₂/FiO₂, utilização de VM tempo de internação na UTI, e desfecho de óbito. A interação entre as citocinas IL-6 e IL-10

pode ser um fator importante na regulação da resposta imune e inflamatória no quadros de SRAG decorrentes da COVID-19.

Referências

1. COVID-ICU Group on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators. Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: a prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2021; 47 (1): 60-73, doi: 10.1007/s00134-020-06294-x.
2. Castelli V, Cimini A, Ferri C. Cytokine Storm in COVID-19: "When You Come Out of the Storm, You Won't Be the Same Person Who Walked in". *Front Immunol.* 2020; 2 (11): 2132, doi: 10.3389/fimmu.2020.02132.
3. Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, *et al.* Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int.* 2020; 97 (5): 829-38, doi: 10.1016/j.kint.2020.03.005
4. Brodin P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. *Nat. Med.* 2021; 27: 28–33, doi: 10.1038/s41591-020-01202-8
5. Baqi S, Naz A, Sayeed MA, Khan S, Ismail H, Kumar V. *et al.* Clinical characteristics and outcome of patients with severe COVID-19 pneumonia at a public sector hospital in Karachi, Pakistan. *Cureus* 2021; 13 (2): e13107, doi: 10.7759/cureus.13107
6. Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo de Manejo Clínico para o Novo Coronavírus (2019-nCoV). Fluxo de Pacientes com Sintomas Respiratórios em Unidades de Urgência. Brasília, 2020. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/biblioteca/protocolo-de-manejo-clinico-para-o-novo-coronavirus2019-ncov/>
7. Silva MVR, Castro MV, Passos-Bueno MR, Otto PA, Naslavsky MS, Zatz M. Men are the main COVID-19 transmitters: lessons from couples. *MedRxiv* 2021; doi: 10.1101/2021.08.18.21262187
8. Tavares C de AM, Avelino-Silva TJ, Benard G, Cardozo FAM, Fernandes JR, Girardi ACC, *et al.* Alterações da ECA2 e Fatores de Risco para Gravidade da COVID-19 em Pacientes com Idade Avançada. *Arq Bras Cardiol.* 2020; 115 (4): 701–7, doi: 10.36660/abc.20200487.
9. Rosenberg S.A. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer. *J. Immunol.* 2014; 192 (12): 5451–5458, doi: 10.4049/jimmunol.1490019.
10. Corrêa TD, Midega TD, Timenetsky KT, Cordioli RL, Barbas CSV, Silva Júnior M, *et al.* Clinical characteristics and outcomes of COVID-19 patients admitted to the intensive care

unit during the first year of the pandemic in Brazil: a single center retrospective cohort study. *Einstein (São Paulo)* 2021; 19:eAO6739, doi: 10.31744/einstein_journal/2021AO6739.

11. Chang R, Elhousseiny KM, Yeh YC, Sun WZ. COVID-19 ICU and mechanical ventilation patient characteristics and outcomes-a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2021; 16 (2): e0246318, doi: 10.1371/journal.pone.0246318.
12. Moraes Filho RM de, Carvalho WA de, Carvalho AA de, Fernandes A de AS, Santos BF dos, Ferreira ALC, *et al.* Associação entre comprometimento pulmonar, fatores de risco e desfechos em pacientes com covid-19 atendidos em hospital de referência na Paraíba. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2022; 55 (2): e-192731, doi: 10.11606/issn.2176-7262.rmrp.2022.192731
13. Programa de Apoio ao Desenvolvimento Institucional do Sistema Único de Saúde (PROADI-SUS). Pós-COVID Brasil: impacto em longo prazo da COVID-19 na população brasileira. Projeto impacto MR. Porto Alegre, 2021. Disponível em: <https://hospitais.proadi-sus.org.br/projeto/pos-covid-brasil1>
14. World Health Organization. WHO Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. WHO [Internet]. 2020 [citado 23 de março de 2023]. Disponível em: [https://www.who.int/publications-detail/clinicalmanagement-of-severe-acute-respiratory-infectionwhen-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/clinicalmanagement-of-severe-acute-respiratory-infectionwhen-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected).
15. Ranzani OT, Bastos LS, Gelli JG, Marchesi JF, Baiao F, Hamacher S, *et al.* Characterisation of the first 250 000 hospital admissions for COVID-19 in Brazil: a retrospective analysis of nationwide data. *Lancet Respir Med.* 2021; 9: 407-18, doi: 10.1016/S2213-2600(20)30560-9
16. Brandão SCS, Godoi ETAM, Ramos J de OX, Melo LMMP de, Sarinho ESC. COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. *J vasc bras.* 2020; 19: e20200131, doi: 10.1590/1677-5449.200131
17. Costela-Ruiz VJ, Illescas-Montes R, Puerta-Puerta JM, Ruiz C, Melguizo-Rodríguez L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020; 54: 62-75. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.06.001.
18. 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* 2020; 395: 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
19. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, *et al.* Clinical and immunologic features in severe and moderate Coronavirus Disease 2019. *J. Clin. Invest.* 2020;130 (5): 2620-2629. doi: 10.1172/JCI137244.

20. Wong CK, Lam CW, Wu AK, Ip WK, Lee NL, Chan IH, *et al.* Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2004; 136 (1): 95–103, doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02415.x.
21. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, *et al.* Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71 (15): 762-768, doi: 10.1093/cid/ciaa248.
22. Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, *et al.* Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *Br J Haematol.* 2020; 189 (3): 428-437, doi: 10.1111/bjh.16659.
23. Sun D, Li H, Lu XX, Xiao H, Ren J, Zhang FR, *et al.* Clinical features of severe pediatric patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan: a single center's observational study. *World J. Pediatr.* 2020; 16 (3): 251-259, doi: 10.1007/s12519-020-00354-4.
24. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, *et al.* An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med.* 2020; 26 (10): 1636-1643, doi: 10.1038/s41591-020-1051-9.
25. Bastos LSL, Ranzani OT, Souza TML, Hamacher S, Bozza FA. Internações hospitalares por COVID-19: comparação entre a primeira e a segunda onda do Brasil. *Lancet Respir Med.* 2021; 9: E82-E83, doi: 10.1016/S2213-2600(21)00287-3
26. Chang R, Elhusseiny KM, Yeh YC, Sun WZ. COVID-19 ICU and mechanical ventilation patient characteristics and outcomes-a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2021; 16 (2): e0246318, doi: 10.1371/journal.pone.0246318.
27. Cobb NL, Sathe NA, Duan KI, Seitz KP, Thau MR, Sung CC, *et al.* Comparison of clinical features and outcomes in critically ill patients hospitalized with COVID-19 versus influenza. *Ann Am Thorac Soc.* 2021; 18 (4): 632-640, doi: 10.1513/AnnalsATS.202007-805OC
28. Zhao Y., Qin L., Zhang P., Li K., Liang L., Sun J. Longitudinal profiling of cytokines and chemokines in COVID-19 reveals inhibitory mediators IL-1Ra and IL-10 are associated with disease severity while elevated RANTES is an early predictor of mild disease. *JCI Insight* 2020; 5 (13): e139834, doi: 10.1172/jci.insight.139834
29. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017; 39 (5): 529-539, doi: 10.1007/s00281-017-0629-x
30. Gong J, Dong H, Xia QS, Huang ZY, Wang DK, Zhao Y, *et al.* Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. *BMC Infect Dis.* 2020; 20 (1): 963. doi: 10.1186/s12879-020-05681-5.

31. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020; 395 (10229): 1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3

32. World Health Organization. Report of the WHO-China joint mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). WHO [Internet]. 2020 [citado 23 de março de 2023]. Disponível em: <https://digitallibrary.un.org/record/3859867>.

33. França EÉT de, Ferrari F, Fernandes P, Cavalcanti R, Duarte A, Martinez BP, *et al.* Fisioterapia em pacientes críticos adultos: recomendações do Departamento de Fisioterapia da Associação de Medicina Intensiva Brasileira. *Rev bras ter intensiva* 2012; 24 (1): 6–22, doi: 10.1590/S0103-507X2012000100003

34. Plötz FB, Slutsky AS, Van Vught AJ, Heijnen CJ. Ventilator-induced lung injury and multiple system organ failure: a critical review of facts and hypotheses. *Intensive Care Med.* 2004; 30 (10): 1865-72, doi:10.1007/s00134-004-2363-9

35. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, Van de Venn W, Bruggen MC, *et al.* Immune Response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 2020; 75 (7): 1564-1581, doi:10.1111/all.14364

36. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, *et al.* Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature* 2020; 584: 463–469. doi: 10.1038/s41586-020-2588-y

37. Herold T, Jurinovic V, Arnreich C, Lipworth BJ, Hellmuth JC, Von Bergwelt-Baildon M, *et al.* Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. *J Allergy Clin Immunol.* 2020; 146 (1): 128-136.e4. doi: **10.1016/j.jaci.2020.05.008**

38. Lu L, Zhang H, Dauphars DJ, He YW. A potential role of interleukin 10 in COVID-19 pathogenesis. *Trends Immunol.* 2021; 42 (1): 3–5. doi:10.1016/j.it.2020.10.012

39. Han H, Ma Q, Li C, Liu R, Zhao L, Wang W. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerg. Microb. Infect.* 2020; 9 (1): 1123–1130. doi:10.1080/22221751.2020.1770129

6 CONCLUSÕES

Nossos resultados contribuem para a compreensão da influência das citocinas no prognóstico das doenças pulmonares graves desencadeadas pela infecção do SARS-CoV-2 e no valor das citocinas Th1 e Th2 enquanto indicador prognóstico para monitoramento, controle e tratamento dos casos, considerando que as maiores complicações, em geral, ocorrem entre o 7º e o 12º dia da doença.

Houve relação significativa entre índices elevados das citocinas Th1 e Th2 com a gravidade da SRAG, especialmente em relação aos níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10, com implicações importantes nos índices de $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, utilização de ventilação mecânica, tempo de internação na UTI, e desfecho de óbito.

Na admissão na UTI, os índices de IFN- γ , IL-10 e IL-6 se apresentaram aumentados em relação as outras citocinas estudadas.

Pacientes que apresentaram, no momento da admissão, níveis séricos das citocinas IL-10 e IL-6 elevados se comportaram com maior tendência para a VM, com índices de $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ sugestivos de lesão pulmonar grave para a maioria dos internados.

Dos pacientes que foram à óbito, a maioria (90,5%) necessitou de VM. E, nestes, a morte ocorreu em até 30 dias (89,5%). Os pacientes que tiveram alta permaneceram por um tempo mais prolongado de internação hospitalar.

Níveis séricos mais elevados de IL-10 e IL-6, sete dias após a entrada na UTI, correlação direta com o desfecho morte e morte em 30 dias.

Entender o papel das citocinas na indução de infecção e inflamação em pacientes com COVID-19 pode revelar estratégias de controle e tratamento eficazes, considerando o mecanismo imunológico envolvido. Recomendamos, portanto, que sejam estabelecidos indicadores prognósticos no cuidado do paciente com SRAG decorrente da infecção pelo SARS-CoV-2, considerando os níveis plasmáticos das citocinas apresentadas. No campo dos métodos de tratamento, mais pesquisas devem ser realizadas visando o controle da replicação do vírus COVID-19 para, finalmente, reduzir seus efeitos colaterais.

REFERÊNCIAS

AMATO, M. B.; MEADE, M. O.; SLUTSKY, A. S.; BROCHARD, L.; COSTA, E. L.; SCHOENFELD, D. A.; STEWART, T. E.; BRIEL, M.; TALMOR, D.; MERCAT, A.; RICHARD, J. C.; CARVALHO, C. R.; BROWER, R. G. Driving pressure and survival in the acute respiratory distress syndrome. **N Engl J Med.**, v. 372, n. 8, p. 747–755, 2015. Disponível em: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMsa1410639?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov. Acesso em: 10 set. 2022.

AMIN, M. N.; SIDDIQUI, S. A.; IBRAHIM, M.; HAKIM, M. L.; AHAMMED, M. S.; KABIR, A.; SULTANA, F. Inflammatory cytokines in the pathogenesis of cardiovascular disease and cancer. **SAGE open medicine**, v. 8, oct. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7594225/>. Acesso em: 12 set. 2022.

ARDS DEFINITION TASK FORCE; RANIERI, V. M.; RUBENFELD, G. D.; THOMPSON, B. T.; FERGUSON, N. D.; CALDWELL, E.; FAN, E.; CAMPOROTA, L.; SLUTSKY, A. S. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. **JAMA**, v. 307, n. 23, p. 2526–2533, jun. 2012. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/1160659>. Acesso em: 12 set. 2022.

BAMBOUSKOVA, M.; GORVEL, L.; LAMPROPOULOU, V.; SERGUSHICHEV, A.; LOGINICHEVA, E.; JOHNSON, K.; KORENFELD, D.; MATHYER, M.E.; KIM, H.; HUANG, L.H.; DUNCAN, D.; BREGMAN, H.; KESKIN, A.; SANTEFORD, A.; APTE, R.S.; SEHGAL, R.; JOHNSON, B.; AMARASINGHE, G.K.; SOARES, M.P.; SATOH, T.; AKIRA, S.; HAI, T.; de GUZMAN STRONG, C.; AUCLAIR, K.; RODDY, T.P.; BILLER, S.A.; JOVANOVIĆ, M.; KLECHEVSKY, E.; STEWART, K.M.; RANDOLPH, G.J.; ARTYOMOV, M.N. Electrophilic properties of itaconate and derivatives regulate the IκBζ-ATF3 inflammatory axis. **Nature**, v. 556, n. 7702, p. 501–504, apr. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6037913/>. Acesso em: 12 set. 2022.

BAQI, S.; NAZ, A.; SAYEED, M. A.; KHAN, S.; ISMAIL, H.; KUMAR, V.; SOMJIMAL, H.; ANEELA, J.; IMTIAZ, S.; AFTAB, S. Clinical characteristics and outcome of patients with severe COVID-19 pneumonia at a public sector hospital in Karachi, Pakistan. **Cureus**, v. 13, n. 2, e13107, feb. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7935076/>. Acesso em: 12 set. 2022.

BARBOSA, D. A. et al. Alterações bioquímicas de pacientes com COVID-19. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 36, eAPE01112, mai. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.37689/acta-ape/2023AO011122>. Acesso em: 15 mai. 2023.

BINDOLI, S.; FELICETTI, M.; SFRISO, P.; DORIA, A. The Amount of Cytokine-Release Defines Different Shades of Sars-Cov2 Infection. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, v. 245, n. 11, p. 970–976, may. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7427176/?report=reader>. Acesso em: 12 set. 2022.

BOHN, M. K.; HALL, A.; SEPIASHVILI, L.; JUNG, B.; STEELE, S.; ADELI, K. Pathophysiology of COVID-19: Mechanisms Underlying Disease Severity and Progression. **Physiology**, v. 35, n. 5, p. 288-301, sep. 2020. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physiol.00019.2020>. Acesso em: 12 set. 2022.

BOUHADDOU, M.; MEMON, D.; MEYER, B.; WHITE, K. M.; REZELJ, V. V.; CORREA MARRERO, M. et al. The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection. **Cell**, v.182, n. 3, p. 685-712.e19, aug. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7321036/>. Acesso em: 12 set. 2022.

BRODIN, P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. **Nat. Med.**, v. 27, p. 28–33, jan. 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-01202-8>. Acesso em: 12 set. 2022.

CASTELLI, V.; CIMINI, A.; FERRI, C. Cytokine Storm in COVID-19: "When You Come Out of the Storm, You Won't Be the Same Person Who Walked in". **Front Immunol.**, v. 11, n. 2132, sep. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7492381/>. Acesso em: 12 set. 2022.

CHAKRABORTY, R. K.; BURNS, B. Systemic Inflammatory Response Syndrome. **StatPearls Publishing.**, jan. 2020. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547669/#:~:text=Systemic%20inflammatory%20response%20syndrome%20\(SIRS,exogenous%20source%20of%20the%20insul](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547669/#:~:text=Systemic%20inflammatory%20response%20syndrome%20(SIRS,exogenous%20source%20of%20the%20insul) t. Acesso em: 12 mar. 2023.

CHANNAPPANAVAR, R.; FEHR, A. R.; VIJAY, R.; MACK, M.; ZHAO, J.; MEYERHOLZ, D. K.; PERLMAN, S. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. **Cell host & microbe**, v. 19 n. 2, p. 181–193, feb. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4752723/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

CHEN, T.; DAI, Z.; MO, P.; LI, X.; MA, Z.; SONG, S.; CHEN, X.; LUO, M.; LIANG, K.; GAO, S.; ZHANG, Y.; DENG, L.; XIONG, Y. Clinical Characteristics and Outcomes of Older Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Wuhan, China: A Single-Centered, Retrospective Study. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci.**, v. 75, n. 9, p.1788-1795, sep. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7184388/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

CHENG, Y.; LUO, R.; WANG, K.; ZHANG, M.; WANG, Z.; DONG, L.; LI, J.; YAO, Y.; GE, S.; XU, G. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. **Kidney international**, v. 97, n. 5, p. 829-38, may. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7110296/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

CHUNG, M.; BERNHEIM, A.; MEI, X.; ZHANG, N.; HUANG, M.; ZENG, X.; CUI, J.; XU, W.; YANG, Y.; FAYAD, Z. A.; JACOBI, A.; LI, K.; LI, S.; SHAN, H. CT Imaging Features of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV). **Radiology**, v. 295, n. 1, p. 202-207, apr. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194022/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

COOKE, A.; FERRACCIOLI, G. F.; HERRMANN, M.; ROMANI, L.; SCHULZE, C.; ZAMPIERI, S.; DORIA, A. Induction and protection of autoimmune rheumatic diseases. The role of infections. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 26, n. 1, Suppl 48, p. S1-7, feb. 2008. Disponível em: <https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=3294>. Acesso em: 12 mar. 2023.

COSTELA-RUIZ, V.J.; ILLESCAS-MONTES, R.; PUERTA-PUERTA, J. M.; RUIZ, C.; MELGUIZO-RODRÍGUEZ, L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 54, p. 62-75, aug. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7265853/?report=reader>. Acesso em: 12 mar. 2023.

COVID-ICU Group on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators. Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: a prospective cohort study. **Intensive Care Med.**, v. 47, n. 1, p. 60-73, jan. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7674575/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

FRANKS, T. J.; CHONG, P. Y.; CHUI, P.; GALVIN, J. R.; LOURENS, R. M.; REID, A. H.; SELBS, E.; MCEVOY, C. P.; HAYDEN, C. D.; FUKUOKA, J.; TAUBENBERGER, J. K.; TRAVIS, W. D. Lung pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a study of 8 autopsy cases from Singapore. *Human pathology*, v. 34, n. 8, p. 743–748, aug. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7119137/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

GAMBERINI, L.; TONETTI, T.; SPADARO, S.; ZANI, G.; MAZZOLI, C. A.; CAPOZZI, C.; RANIERI, V. M. Factors influencing liberation from mechanical ventilation in coronavirus disease 2019: multicenter observational study in fifteen Italian ICUs. **Journal of intensive care**, v. 8, n. 1, p. 1-12, oct. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7558552/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

GARCIA BORREGA, J.; GÖDEL, P.; RÜGER, M. A.; ONUR, Ö. A.; SHIMABUKURO-VORNHAGEN, A.; KOCHANKE, M.; BÖLL, B. In the Eye of the Storm: Immune-mediated Toxicities Associated With CAR-T Cell Therapy. **Hemasphere**, v. 3, n. 2, e19, mar. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6746039/?report=reader>. Acesso em: 12 mar. 2023.

GATTINONI, L.; TONETTI, T.; CRESSONI, M.; CADRINGHER, P.; HERRMANN, P.; MOERER, O.; PROTTI, A.; GOTTI, M.; CHIURAZZI, C.; CARLESSO, E.; CHIUMELLO, D.; QUINTEL, M. Ventilator-related causes of lung injury: the mechanical power. **Intensive Care Med.**, v. 42, n. 10, p.1567-1575, oct. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00134-016-4505-2>. Acesso em: 12 mar. 2023.

JIA, H. Pulmonary angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and inflammatory lung disease. **Shock**, v. 46, n. 3, p. 239–248, sep. 2016. Disponível em: https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2016/09000/Pulmonary_Angiotensin_Converting_Enzyme_2__ACE2_.3.aspx. Acesso em: 12 mar. 2023.

LAU, S. K. P.; LAU, C. C. Y.; CHAN, K. H.; LI, C. P. Y.; CHEN, H.; JIN, D. Y.; CHAN, J. F. W.; WOO, P. C. Y.; YUEN, K. Y. Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: implications for pathogenesis and treatment. **The Journal of general virology**, v. 94, p. 2679–90, dec. 2013. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.055533-0#tab2>. Acesso em: 12 mar. 2023.

LI, X.; GENG, M.; PENG, Y.; MENG, L.; LU, S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 10, n. 2, p. 102-8, apr. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7104082/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

LI, X.; MA, X. Acute respiratory failure in COVID-19: is it "typical" ARDS? **Critical care**, v. 24, n. 1, p. 198, may. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7202792/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

LUCAS, C.; WONG, P.; KLEIN, J. *et al.* Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. **Nature**, v. 584, n. 7821, p. 463–469, aug. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7477538/>. Acesso em: 12 mar. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. COVID-19 no Brasil. Banco de dados do Sistema Único de Saúde-DATASUS. Brasil: Sistema Único de Saúde-DATASUS, 2023. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em: 11 abr. 2023.

MUNKER, D.; OSTERMAN, A.; STUBBE, H. *et al.* Dynamics of SARS-CoV-2 shedding in the respiratory tract depends on the severity of disease in COVID-19 patients. **The European respiratory journal**, v. 58, n. 1, e2002724, jul. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7898160/?report=reader>. Acesso em: 11 abr. 2023.

MUSTAFA, P. S. A pandemia da COVID-19 no Brasil: Uma análise de seus impactos socioeconômicos e das (des)medidas no seu enfrentamento. **Textos & Contextos**, v. 21, n. 1, e41799, nov. 2022. Disponível em: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fass/article/view/41799>. Acesso em: 11 abr. 2023.

NG, D. L.; AL HOSANI, F.; KEATING, M. K.; GERBER, S. I.; JONES, T. L.; METCALFE, M. G.; TONG, S.; TAO, Y.; ALAMI, N. N.; HAYNES, L. M.; MUTEI, M. A.; ABDEL-WARETH, L.; UYEKI, T. M.; SWERDLOW, D. L.; BARAKAT, M.; ZAKI, S. R.. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in United Arab Emirates. **Am J Pathol.**, v. 186, n. 3, p. 652–658, apr. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7093852/>. Acesso em: 11 abr. 2023.

NI, L.; YE, F.; CHENG, M. L.; FENG, Y.; DENG, Y. Q.; ZHAO, H. *et al.* Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. **Immunity**, v. 52, n. 6, e971–977, jun. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196424/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

NI, W.; YANG, X.; YANG, D.; BAO, J.; LI, R.; XIAO, Y.; HOU, C.; WANG, H.; LIU, J.; YANG, D. *et al.* Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. **Critical care**, v. 24, n. 1, p. 422, jul. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7356137/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

NUNNARI, G.; SANFILIPPO, C.; CASTROGIOVANNI, P.; IMBESI, R.; LI VOLTI, G.; BARBAGALLO, I.; MUSUMECI, G.; DI ROSA, M. Network perturbation analysis in human bronchial epithelial cells following SARS-CoV2 infection. **Experimental cell research**, v. 395, n. 2, e112204, oct. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7386311/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

ORTEGA, L. M.; FORNONI, A. Role of cytokines in the pathogenesis of acute and chronic kidney disease, glomerulonephritis, and end-stage kidney disease. **Int. J. Infereron, Cytokine and Mediator**, v. 2, p. 49-62, may. 2010. Disponível em: <https://www.dovepress.com/role-of-cytokines-in-the-pathogenesis-of-acute-and-chronic-kidney-dise-peer-reviewed-fulltext-article-IJICMR>. Acesso em: 06 nov. 2022.

POLIDORO, R. B.; HAGAN, R. S.; DE SANTIS SANTIAGO, R.; SCHMIDT, N. W. Overview: Systemic Inflammatory Response Derived From Lung Injury Caused by SARS-CoV-2 Infection Explains Severe Outcomes in COVID-19. **Front Immunol.**, v. 11, p. 1626, jun. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7344249/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

REGHUNATHAN, R.; JAYAPAL, M.; HSU, L. Y.; CHNG, H. H.; TAI, D.; LEUNG, B. P.; MELENDEZ, A. J. Expression profile of immune response genes in patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. **BMC Immunol.**, v. 6, jan. 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC546205/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

SANCHEZ, E. L.; LAGUNOFF, M. Viral activation of cellular metabolism. **Virology**, v. 479-480, p. 609-18, may. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424078/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

SCHUIJT, M. T. U.; SCHULTZ, M. J.; PAULUS, F.; SERPA NETO, A.; PROVENT-COVID COLLABORATIVE GROUP. Association of intensity of ventilation with 28-day mortality in COVID-19 patients with acute respiratory failure: insights from the PRoVENT-COVID study. **Critical care**, v. 25, n. 1, p. 283, aug. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8343355/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

SCHULTE-SCHREPPING, J.; REUSCH, N.; PACLIK, D. *et al.* Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. **Cell**, v. 182, n. 6, p 1419-1440, sep. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7405822/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

TOLOUIAN R.; VAHED S.Z.; GHIYASVAND S.; TOLOUIAN A.; ARDALAN M. COVID-19 interactions with angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and the kinin system; looking at a potential treatment. **Journal of Renal Injury Prevention**, v. 9, n. 2, e19, mar. 2020. Disponível em: https://scholarworks.utep.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1059&context=nursing_papers. Acesso em: 06 nov. 2022.

VABRET, N.; BRITTON, G. J.; GRUBER, C.; HEGDE, S.; KIM, J.; KUKSIN, M. *et al.* Immunology of COVID-19: current state of the science. **Immunity**, v. 52, n. 6, p. 910-41, jun. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7200337/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

VARGA, Z.; FLAMMER, A. J.; STEIGER, P.; HABERECKER, M.; ANDERMATT, R.; ZINKERNAGEL, A. S.; MEHRA, M. R.; SCHUEPBACH, R. A.; RUSCHITZKA, F.; MOCH, H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. **Lancet**, v. 395, n. 10234, p. 1417-1418, may 2020. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30937-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30937-5/fulltext). Acesso em: 06 nov. 2022.

VIJAYKUMAR, S. Covid-19: older adults and the risks of misinformation. Disponível em: <https://blogs.bmj.com/bmj/2020/03/13/covid-19-older-adults-and-the-risks-of-misinformation/>. Acesso em: 12 Jan 2023.

WAN, Y.; SHANG, J.; GRAHAM, R.; BARIC, R. S.; LI, F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. **Journal of virology**, v. 94, n. 7, e00127-20, mar. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7081895/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

WIERSINGA, W. J.; RHODES, A.; CHENG, A. C.; PEACOCK, S. J.; PRESCOTT, H. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. **JAMA**, v. 324, n. 8, p. 782-93, aug. 2020. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2768391>. Acesso em: 06 nov. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. IHR procedures concerning public health emergencies of international concern (PHEIC). Disponível em: <http://www.who.int/ihr/procedures/pheic/en/>. Acessado em: 29 jan 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. COVID-19 Weekly Epidemiological Update. Ed. 137. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---6-april-2023>. Acessado em: 11 abr. 2023.

YAZDANPANA, F.; HAMBLIN, M. R.; REZAEI, N. The immune system and COVID-19: Friend or foe? **Life sciences**, v. 256, e117900, sep. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7266583/>. Acessado em: 05 fev. 2023.

YE, Q.; WANG, B.; MAO, J. The pathogenesis and treatment of the “Cytokine Storm” in COVID-19. **The Journal of infection**, v. 80, n. 6, p. 607–613, jun. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194613/>. Acessado em: 05 fev. 2023.

Zhou, F., Yu, T., Du, R., *et al.* (2020) Clinical Course and Risk Factors for Mortality of Adult Inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A Retrospective Cohort Study. **The Lancet**, v. 395, n. 10229, p.1054-1062, mar. 2020. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30566-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30566-3/fulltext). Acessado em: 05 fev. 2023.

APÊNDICE A – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO

Brazilian Journal of Medical and Biological Research



ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTAS DAS CITOCINAS E GRAVIDADE DA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE DECORRENTE DO NOVO CORONAVÍRUS

Journal:	Brazilian Journal of Medical and Biological Research
Manuscript ID:	13063
Manuscript Type:	Full Paper
Date Submitted by the Author:	14-Jun-2023
Complete List of Authors:	Guimaraes, Jamaica Gina; Hospital das Clinicas Universidade Federal de Pernambuco de Araújo, Paulo Sérgio; Universidade Federal de Pernambuco dos Santos, Patrícia; Universidade Federal de Pernambuco
Keywords:	Citocinas, COVID-19, SARS-CoV-2, Síndrome Respiratória Aguda Grave, Mortalidade
Special Sections:	Clinical Investigation/Blood, immunology and organ transplantation

SCHOLARONE[®]
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/bjmb-br-scielo>

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

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



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Prospecção de biomarcadores de evolução clínica do COVID-19

Pesquisador: Virginia Maria Barros de Lorena

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30323620.1.3002.8807

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.031.889

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto e emenda 1 analisados e aprovados pela CONEP. É um estudo prospectivo a ser realizado em 50 pacientes que apresentarem a COVID-19 com manifestações de leve a moderadas, caracterizados como Síndrome Gripal; 50 pacientes que apresentarem a COVID-19 com manifestações respiratórias graves, caracterizados como SRAG; 50 pacientes que vivem com o HIV e que apresentarem a COVID-19 com manifestações de leve a moderadas, caracterizados como Síndrome Gripal e 50 pacientes que vivem com o HIV e que apresentarem a COVID-19 com manifestações respiratórias graves, caracterizados como SRAG, internados e atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE.

Serão submetidos a coleta de 20ml de sangue para avaliação de linfócitos CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD24, CD25, CD27, CD38; concentração das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- γ e TNF e concentração das quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10.

Os resultados serão confrontados com avaliações clínicas de desfecho a serem obtidos dos prontuários:

- Dias de hospitalização;
- Admissão em unidade de terapia intensiva;
- Necessidade de suporte ventilatório;
- Achados radiológicos de radiografia de tórax;

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

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephcupe@gmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.031.889

- Dado de gasimetria arterial que correlacionem as trocas gasosas;
- Utilização de drogas terapêuticas;
- Desfecho óbito.

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco que serão estocadas conforme normas para formação de biorepositório sob responsabilidade da pesquisadora coordenadora declarada em formulário de biorepositório.

Critério de Inclusão:

- Ser maior de 18 anos;
- Diagnóstico de Síndrome Gripal ou SRAG confirmados por teste molecular realizado por LACEN para CoVid-19.

Critério de Exclusão:

- Diagnóstico de Síndrome Gripal ou SRAG causados por outros vírus respiratórios.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar biomarcadores de evolução clínica durante a infecção pelo COVID-19.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

São previstos dois riscos para o participante do projeto:

- 1) a coleta de sangue, que é praticamente isenta de risco, pois todo material utilizado é descartável, porém, poderá causar dor ou hematoma;
- 2) constrangimento por acesso às informações do prontuário, mas que, informaremos ao paciente que na pesquisa, os pacientes serão tratados com código da pesquisa, de forma que a equipe não terá acesso ao nome dos sujeitos, a não ser os seus médicos. Além disso, quando os resultados forem publicados, garantiremos a preservação da identidade do sujeito.

Benefícios:

Não são previstos benefícios direto ao paciente, pois este estudo é de caráter exploratório, quanto ao entendimento da resposta imune dirigida ao COVID-19. Assim, os resultados do presente estudo poderão auxiliar o entendimento da imunopatogênese da doença.

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

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephculpe@gmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.031.889

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nenhuma

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. O TCLE precisa ser corrigido devido a erro de digitação no primeiro parágrafo da pagina. A pendencia apontada pela CONEP sobre a possibilidade de retirada do consentimento para armazenamento de material biológico está adequada.

Recomendações:

Corrigir o TCLE

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Pesquisa COVID aprovada com parecer da CONEP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1547162.pdf	06/05/2020 17:00:31		Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_assinada_FINAL.pdf	06/05/2020 16:59:59	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
Outros	Texto_modelo_anuencia_colaboradores.docx	06/04/2020 18:50:30	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
Outros	Carta_Resposta_Conep.pdf	06/04/2020 18:49:04	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	06/04/2020 13:53:24	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CoVid19_VMBLorena.pdf	06/04/2020 13:53:14	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
Outros	Modelo_Anuencia_Paulo.docx	27/03/2020 13:54:58	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
Outros	Modelo_Anuencia_IAM.docx	27/03/2020 13:54:39	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
Outros	Declaracao_de_relatorios.pdf	27/03/2020 13:54:22	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito

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

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephufpe@gmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.031.889

Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_Biorepositorio.pdf	25/03/2020 17:41:53	Virginia Maria Barros de Lorena	Aceito
---	-------------------------------	------------------------	------------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 17 de Maio de 2020

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

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

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephculpe@gmail.com

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Página 1 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa **Prospecção de biomarcadores de evolução clínica do COVID-19**, sob a responsabilidade da pesquisadora Virginia Lorena do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz. Essa pesquisa pretende entender porque algumas pessoas com a infecção pelo novo coronavírus (COVID-19) apresentam manifestações clínicas graves e outras não.

Sua participação é muito importante, pois, como portador do COVID-19, o (a) Sr (a) possui células que reconhecem o vírus (resposta imune). Desta forma, sua participação nos ajudará a entender a doença trazendo um benefício para outros pacientes, que por ventura apresentarem a infecção pelo COVID-19. Sua participação neste trabalho é voluntária e se dará através de:

(1) permitir a coleta de até 5 (cinco) colheres de chá de sangue (cerca de 25 ml) através de um tubo adaptado a uma agulha, estéril e descartável. Esse procedimento é praticamente isento de risco, pois todo material utilizado é descartável, porém, poderá causar dor ou mancha vermelha (hematoma). O sangue será utilizado para estudar as células da imunidade e seus produtos secretados (quimiocinas e citocinas).

(2) Permitir o acesso às informações de seu prontuário

(3) Assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

É importante você saber que um pouco da amostra de sangue será armazenada a -70°C para utilizações em pesquisas futuras. Essas amostras serão utilizadas nas pesquisas futuras com objetivos de: realizar novos estudos que complementem os objetivos aqui propostos a fim de fechar as “lacunas” no entendimento das respostas imunológicas de pessoas infectadas pelo COVID-19. Desta forma, se no futuro, sua amostra armazenada for utilizada para outra pesquisa, poderemos entrar em contato para preenchimento de outro TCLE. Informações sobre o andamento e resultados das pesquisas podem ser fornecidas para o (a) Sr (a), quando desejar através das formas de contato conosco, disponibilizadas ao final deste documento.

Garantiremos a confidencialidade das informações prestadas, assim como o anonimato de todos que participarem da pesquisa. Se o(a) Sr(a) aceitar participar, estará contribuindo para a geração de conhecimento sobre o a infecção pelo novo coronavírus e resposta imune frente o COVID-19. Caso o(a) Sr(a) não aceite participar da pesquisa o seu atendimento e cuidados no hospital continuarão acontecendo normalmente.

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador responsável: _____

Se depois de consentir em sua participação o (a) Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. A retirada da autorização de guarda da sua amostra armazenada será realizada após assinatura de documento pedindo a retirada com validade a partir da data da comunicação da decisão.

O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. No entanto, caso tenha qualquer necessidade de despesa decorrente da sua participação na pesquisa, haverá ressarcimento pelo grupo de pesquisa. De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da sua participação no estudo, será devidamente indenizado (a) judicialmente.

Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato através do endereço Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Campus da UFPE, Av. Moraes Rego, s/n, pelo telefone (81) 2101-2563 com a pesquisadora Dra Virginia Lorena, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/IAM/FIOCRUZ, telefone (81) 2101-2639.

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____, fui informado (a) sobre o que o pesquisador quer fazer e o porquê precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair do projeto quando quiser.

Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

_____ Data / /
Assinatura do participante ou Impressão do dedo polegar

Virginia M. Barros de Lorena

Virginia Maria Barros de Lorena
IAM/Fiocruz -Pesquisadora Responsável
Telefone IAM/Fiocruz: (81) 2101-2563
E-mail: lorena@cpqam.fiocruz.br



ANEXO C – BULA DO KIT DE CITOCINAS

BD Cytometric Bead Array
(CBA) Human Inflammatory
Cytokines Kit
Instruction Manual

