



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

JÔSE DE MELO

**MULHERES COM COVID-19 INTERNADAS NA UTI DO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DE LONDRINA: UM COHORT DE MULHERES COM
DESFECHO DE ALTA E ÓBITO.**

LONDRINA

2023

JÓSE DE MELO

**MULHERES COM COVID-19 INTERNADAS NA UTI DO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DE LONDRINA: UM COHORT DE MULHERES COM
DESFECHO DE ALTA E ÓBITO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia Experimental.

Orientador: Prof. Dra. Alessandra Lourenço Cecchini Armani

LONDRINA

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

M528m Melo, Jôse de .
Mulheres com Covid-19 internadas na UTI do Hospital Universitário de Londrina : um cohort de mulheres com desfecho de alta e óbito / Jôse de Melo. - Londrina, 2023.
61 f. : il.

Orientador: Alessandra Lourenço Cecchini Armani.
Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, 2023.
Inclui bibliografia.

1. COVID-19 - Tese. 2. Síndrome respiratória aguda grave (SARS) - Tese. 3. Estresse oxidativo - Tese. 4. Marcadores dos parâmetros bioquímicos sanguíneos - Tese. I. Armani, Alessandra Lourenço Cecchini . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental. III. Título.

CDU 616

JÓSE DE MELO

**MULHERES COM COVID-19 INTERNADAS NA UTI DO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DE LONDRINA: UM COHORT DE MULHERES COM
DESFECHO DE ALTA E ÓBITO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia Experimental.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr. Rubens Cecchini
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fernando Pinheiro de Souza Neto
Universidade Estadual de Londrina – UEL

SUPLENTES

Prof^a. Dra. Maria Isabel Lovo-Martins.
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Prof. Dr. Rodrigo Cabral Luiz
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 27 de junho de 2023.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho dedico primeiramente a Deus, por ter me sustentado até aqui, por ter me dado força e ter me ajudar a realizar meu sonho de entrar no programa de Patologia Experimental da UEL.

Ao meu esposo Paulo que sempre esteve do meu lado tanto nos momentos da felizes e tanto nos momentos de medo e angústia, sempre me incentivando com palavras positivas, muito obrigada por todo apoio e nunca ter deixado eu desistir. Te amo! Aos meus amados filhos, Nicole, Sarah e Davi que apesar de tão pequenos conseguiram compreender os momentos de ausência ao longo desse tempo. Vocês são o amor da minha vida.

Agradecer aos meus amados pais Francisco e Marly, que por muitas vezes cuidaram dos meus filhos Sarah e Davi para eu estudar, obrigada pelo incentivo, pela educação que vocês me deram. Em especial ao meu pai por ter cuidado do Davi (meu filho autista que requer muito cuidado e atenção) nos momentos das minhas apresentações. Obrigada mãe por sempre ter acreditado em mim. Vocês são minha vida!

Agradecer aos meus irmãos Neto e Juliana, por estarem sempre ao meu lado. Em especial minha irmã Juliana, que sempre acreditou em mim mesmo quando eu mesma não acreditava, foi minha incentivadora, nesses dois anos foi a pessoa que me encorajava erguer a cabeça e continuar. Amo você pra sempre.

A minha querida Professora Dra. Alessandra Lourenço Cecchini Armani, é impossível expressar em palavras toda a gratidão que sinto por ter me aceito como orientanda. Obrigada pelos conhecimentos transmitidos, por ter me ajudado inúmeras vezes e pela paciência ao longo desse processo. Admiro como pessoa e como profissional. Só posso dizer muito obrigada!

Agradecer aos meus amigos de laboratório, doutorandos Thiago Nascimento, Isabela Chagas, Liara Freitas, e o mestrando William Campellari, presentes durante a minha jornada, obrigada pelo companheirismo,

confidências, momentos de descontração e incentivo. Obrigada aos graduandos Bianca e Pedro pela dedicação e colaboração ao projeto.

Ao técnico Jesus Antônio Vargas pela valorosa ajuda na parte experimental e pela dedicação aos mestrandos e doutorandos do laboratório e a secretária do Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental Tatiana Monteiro pela ajuda e eficiência.

Agradeço também a banca composta pelo prof. Dr. Rubens e o prof. Dr. Fernando Pinheiro de Souza Neto, pela disposição em avaliar nosso projeto, pelos conselhos e sugestões para contribuir na pesquisa.

À CAPES por apoiar financeiramente meus estudos.

A todos que, direta ou indiretamente me ajudaram a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

Nos últimos dois anos, muitas publicações científicas foram divulgadas com o intuito de aprimorar o entendimento da fisiopatologia e das manifestações da COVID-19. Embora as pesquisas clínicas tenham fornecido importantes informações sobre a doença, a identificação de possíveis marcadores que possam influenciar a evolução do paciente internado é crucial para compreender não apenas a COVID-19, mas também a resposta oxidativa e sistêmica do organismo diante de doenças virais. Considerando que as mulheres apresentam uma resposta mais eficaz ao vírus, este estudo foi desenhado com pacientes do sexo feminino, identificando os fatores que podem influenciar o desfecho de alta ou óbito, chamado de sobreviventes e não sobreviventes, neste estudo. Utilizando marcadores hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo para comparação, evidenciamos que pacientes não sobreviventes possuíam níveis maiores de marcadores oxidativos sistêmicos, um marcador secundário de lipoperoxidação de membrana. Além disso, as sobreviventes apresentam parâmetros hematológicos e bioquímicos mais próximos da normalidade. Esse estudo é importante para trazer o destaque da análise de moléculas oxidantes e antioxidantes como marcadores que possam ser utilizados para acompanhamento da COVID-19.

Palavras-chaves: COVID-19, síndrome respiratória aguda grave (SARS) Estresse oxidativo, marcadores dos parâmetros bioquímicos sanguíneos e antioxidantes.

ABSTRACT

In the last two years, a lot of information about the SARS-CoV-2 virus has been published in the literature, the pathophysiology and manifestations are already known. Research in the clinical area involved with COVID-19 was important to understand the disease, and its evolution. Knowing that the response to SARS-CoV-2, is heterogenous, our study compared two groups of women that were in ICU and had different outcomes or death or survival. Patients that progress to death, the levels of systemic oxidative markers were higher than the patients that survived. In addition, patients that survived showed hematological and biochemical parameters closer to normal. This study show that the analysis of oxidants and antioxidants could be indicators of patient's outcome when in ICU.

Key-words: Oxidative stress, SARS-CoV-2, markers, blood biochemical parameters and antioxidants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1- Estrutura do SARS-Cov-2 | 13 |
| Figura 2- Mecanismo de entrada do vírus na célula..... | 14 |
| Figura 3- Patogênese da COVID-19 e Estresse Oxidativo..... | 20 |
| Figura 4- Reações da enzima superóxido dismutase (1) e pela catalase (2)..... | 24 |
| Figura 5- Ciclo catalítico da glutathione, demonstrando a conversão de sua forma reduzida (GSH) a forma oxidada (GSSG), pelas enzimas glutathione peroxidase (GSH-px) ou glutathione oxidase (GO), e sua oxidação de GSH a GSSG pela enzima glutathione reductase (GR)..... | 25 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------------|---|
| CAT | Catalase |
| ECA-2 | Enzima conversora de angiotensina 2 |
| ERN | Espécies reativas de nitrogênio |
| ERO | Espécies reativas de oxigênio |
| GO | Glutaciona Oxidase |
| GPx | Glutaciona peroxidase |
| GR | Glutaciona redutase |
| GSH | Glutaciona reduzida |
| GSSG | Glutaciona oxidada |
| H ₂ O ₂ | Peróxido de hidrogênio |
| IFN- γ | Interferon gama |
| IL | Interleucina |
| Keap 1 | Proteína 1 associada à ECH do tipo <i>Kelch</i> |
| MDA | Malondialdeído |
| N ₂ | Nitrogênio |
| NADPH | nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzida |
| NF- κ B | Fator nuclear kappa B |
| NO | Óxido nítrico |
| Nrf2 | Fator de transcrição nuclear associado ao E2 |
| O ₂ ^{•-} | Ânion radical superóxido |
| O ₂ | Oxigênio |
| •OH | Radical hidroxila |
| OMS | Organização mundial da saúde |
| SARS-CoV-2 | Coronavirus 2 da síndrome respiratória aguda grave |
| SOD | Superóxido dismutase |
| TNF | Fator de necrose tumoral |
| UTI | Unidade de terapia intensiva |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. REVISÃO DE LITERATURA | 11 |
| 1.1 COVID-19..... | 11 |
| 1.2 SARS-CoV-2..... | 12 |
| 1.3 COVID-19 E ESTRESSE OXIDATIVO..... | 18 |
| 1.4 ESTRESSE OXIDATIVO..... | 22 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 26 |
| 3. OBJETIVOS | 27 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 27 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 27 |
| 4 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO | 28 |
| 5. CONCLUSÃO | 29 |
| 6 REFERÊNCIAS | 30 |

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 COVID-19

O vírus SARS-CoV-2 (coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave) é uma ameaça global, responsável pela pandemia de COVID-19, que foi declarada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020 (JACKSON, 2021). Os coronavírus são conhecidos por provocar surtos que ameaçam a saúde, incluindo a síndrome respiratória aguda grave (SARS), que ocorreu na China em 2002, e a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), em 2012. Ambos os surtos foram contidos antes de se transformarem em pandemias (SILVA *et al.*, 2020). No entanto, a pandemia de COVID-19, teve início em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na China, se tornou pandemia sendo que no Brasil, mais de 37 milhões de casos foram registrados, resultando em 699 mil mortes até o momento OMS (2023).

A COVID-19 é uma doença altamente contagiosa, transmitida principalmente pelo contato direto ou indireto com gotículas de saliva, tosse, espirro e superfícies contaminadas por indivíduos infectados (CAVALCANTE *et al.*, 2021; CEVIK *et al.*, 2020). O período médio de incubação viral é de cerca de 4 a 5 dias antes do início dos sintomas (CEVIK *et al.*, 2020; TAN YI, 2021), podendo se estender por até 14 dias em alguns casos. Durante esse período, o vírus se multiplica no organismo e começa a se disseminar para outras células, levando ao aparecimento dos primeiros sintomas da doença (TAN YI, 2021). Essa fase assintomática é considerada um dos principais desafios para o controle da disseminação da COVID-19, uma vez que indivíduos infectados podem transmitir o vírus sem apresentar sintomas.

A COVID-19 apresenta um amplo espectro de sintomas, desde assintomáticos até quadros graves, sendo que a maioria dos pacientes infectados, em torno de 80%, apresenta sintomas leves ou moderados, como febre, dor de cabeça, tosse seca, fadiga, perda do olfato e paladar (SOUZA *et al.*, 2021). Entretanto, cerca de 20% dos pacientes podem evoluir para casos graves que requerem internação, podendo apresentar falta de ar com dispnéia, hipoxemia com saturação de oxigênio abaixo de 85%, levando à SARS e

internação na unidade de terapia intensiva (UTI) (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; AZUKUR *et al.*, 2020; JAMAL M, *et al.*, 2021). É importante destacar que a doença pode apresentar um perfil grave e resultar em óbito, principalmente em pacientes que possuem outras comorbidades, como hipertensão, diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares e doença renais (STEVENS, J.S *et al.*, 2021; DJAHARUDDIN, *et al.*, 2021).

1.2 O SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples, de sentido positivo e envelopado de gênero *Betacoronavirus* (HOSSEINI *et al.*,2020; SILVA *et al.*,2020). O vírion é composto por quatro proteínas estruturais, nucleocapsídeo (N), membrana (M), envelope (E) e *spike* (S) (Figura 1) (AZKUR, 2020). A proteína N tem dois domínios que podem se ligar ao vírus de RNA, onde regula o processo de replicação viral e transcrição do genoma viral e da montagem dos vírions; a proteína M tem três domínios transmembrana importantes para montagem dos vírions, promove a curvatura da membrana e se liga ao nucleocapsídeo; a proteína E participa na montagem e liberação do vírus, além disso, participa da patogênese viral e a proteínas S é uma proteína transmembrana encontrada no envelope viral (HOSSEINI *et al.*,2020; SILVA *et al.*,2020; CAVALCANTE *et al.*,2021).

A proteína S do coronavírus consistem em três segmentos: um ectodomínio, uma âncora transmembrana de passagem única e uma cauda intracelular. O ectodomínio contém duas subunidades: a subunidade S1 é composta por dois domínios, sendo eles o Domínio N-terminal (NTD) e o Domínio de Ligação ao Receptor (RBD) sendo essencial ao reconhecimento do receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (R-ECA2) e a ligação do vírus na superfície da membrana das células e a subunidades S2 permite a fusão das membranas da célula viral com a hospedeira (PINHEIRO,2022; JACKSON *et al.*, 2021;)

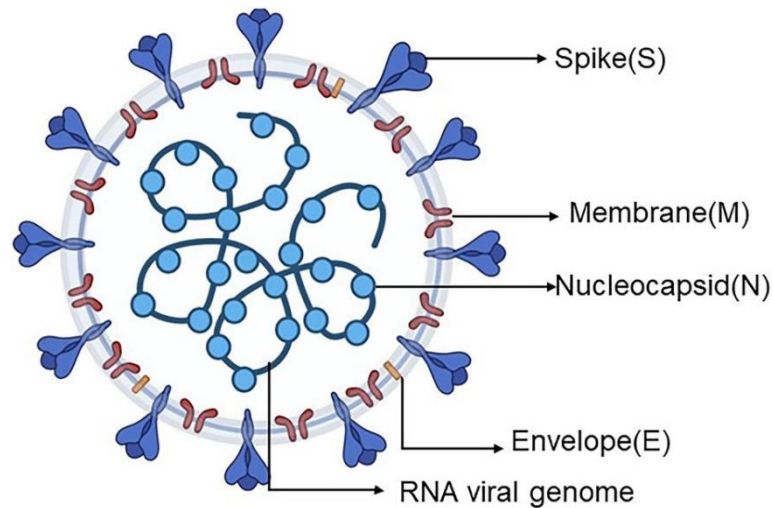


Figura 1 – Estrutura do SARS-CoV-2. Fonte: adaptado de TURONOVA *et al.*, 2020.

Na infecção pelo SARS-CoV-2, a proteína S é fundamental para a entrada do vírus nas células hospedeiras. Essa proteína se liga ao receptor ECA2 e é clivada pelas subunidades S1 e S2 por uma serina protease transmembrana 2 conhecida como (TMPRSS2), que é altamente expressa em células epiteliais do pulmão. Além disso, a TMPRSS2 auxilia na ativação do inflamassoma NLRP3 aumentando a produção de citocinas e contribui para a inflamação pulmonar na COVID-19 (BELTRÁN-GARCIA *et al.*, 2020; JACKSON *et al.*, 2021). Embora a ECA2 e o TMPRSS2 sejam os principais mediadores da entrada do SARS-CoV-2 nas células hospedeiras, estudos recentes têm investigado outras proteínas que interagem com a proteína S, incluindo a neuropilina-1 (NRP1), a basigina (CD147) e o dipeptidil peptidase-4 (DPP4), além de proteases endossomais, como as catepsinas B e L, que podem ativar a proteína S em células que não expressam TMPRSS2 (BORDALO, 2020; ALIPOOR; MIRSAEIDI, 2022).

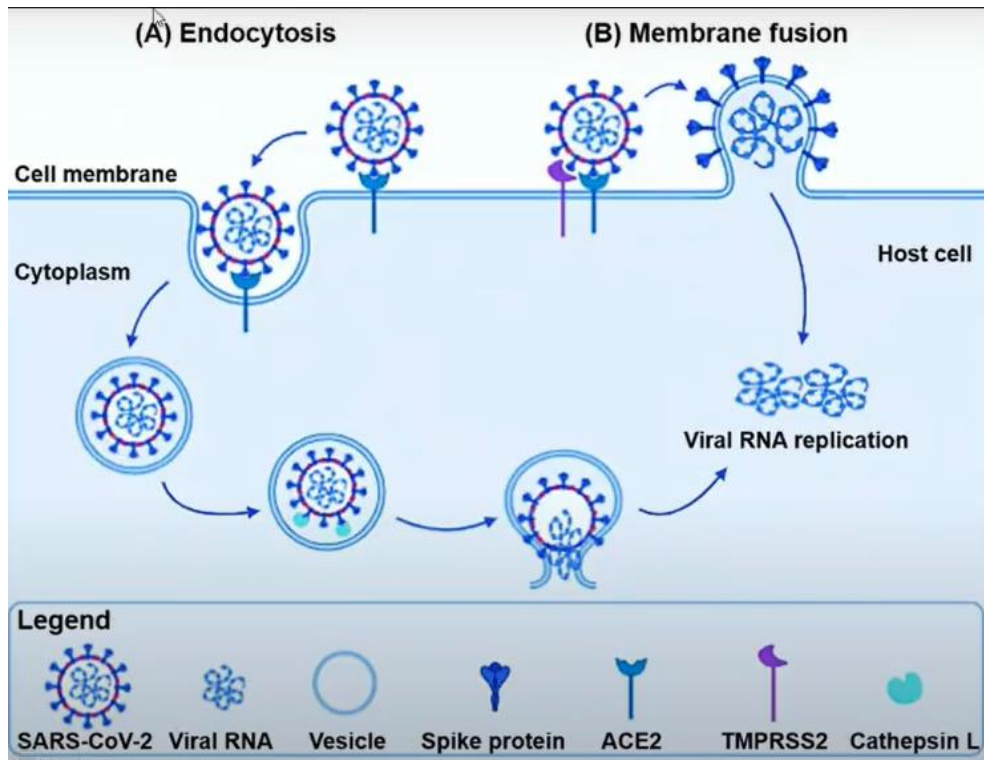


Figura 2 – Ciclo de vida do SARS-CoV-2. Fonte: adaptado de SILVA *et al.*, 2020.

Após a clivagem de um dos domínios, ocorre a fusão das membranas virais com as membranas da célula-alvo, permitindo a entrada do material genético do vírus na célula hospedeira por meio de endocitose ou fusão de membranas (SILVA *et al.*, 2020). Após esse estágio inicial, o vírus inicia a síntese de novas partículas virais por meio da desencapsulação do seu material genético e da subsequente replicação dentro da célula hospedeira (JACKSON *et al.*, 2021) (Figura 2). Este processo é crucial para a sobrevivência e disseminação do vírus, uma vez que permite a produção de novas partículas virais que podem infectar outras células e, potencialmente, outros indivíduos.

Ao infectar uma célula-alvo, o RNA do SARS-CoV-2 é reconhecido por receptores de reconhecimento de padrão (PRR) como os receptores toll-like (TLR3, TLR7 e TLR8). Isso leva à ativação da via do factor nuclear kappa B (NF- κ B), que desencadeia a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, desempenhando um papel importante na resposta à inflamação exacerbada induzida pelo vírus (AZUKUR AZKUR *et al.*, 2020; BRODIN, 2021; CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; HOSSEINI *et al.*, 2020). A resposta do receptor TLR3

desencadeia a transcrição do inflamassoma, membro da família NLR de pirinas (TAN YI, 2021; CECCHINI & CECCHINI AL., 2020). Além disso, a invasão viral causa o acúmulo de proteínas, o fluxo de cálcio para o citoplasma e a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), em especial o peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Estes eventos desencadeiam a ativação do inflamassoma NLRP3 e do NF-κB (BRODIN, 2021; DELGADO-ROCHE, TAN YI, 2021).

A ativação do inflamassoma NLRP3 é o resultado de uma série de respostas celulares que culminam em uma estrutura molecular citossolútica complexa. Essa estrutura exibe atividade enzimática mediada pelo recrutamento e ativação da caspase-1, que ativa e regula a geração de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1β (IL-1β) e IL-18, ativas a partir de formas inativas, levando a piroptose (BRODIN, 2021; ZITVOGEL *et al.*, 2012).

Segundo TAY *et al.*, (2020) a piroptose é uma forma de morte celular programada altamente inflamatória, que tem sido evidenciada em infecções virais. A piroptose é observada em células infectadas por vírus citopáticos, que ativam uma cascata de sinalização inflamatória levando à liberação de componentes intracelulares como DNA, citocinas pró-inflamatórias, entre outros. Esses componentes desencadeiam uma resposta imune pró-inflamatória que pode levar à degeneração de células infectadas, e à ativação de células imunes (BRODIN, 2021; ZITVOGEL *et al.*, 2012).

Todo esse processo pode ser estimulado por Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) e por células apresentadoras de antígenos (APC), desencadeando uma resposta imunológica que resulta em uma projeção elevada de citocinas pró-inflamatórias promove o recrutamento de células do sistema imune inato e adaptativo, incluindo células endoteliais, células dendríticas, macrófagos, neutrófilos, células T como os linfócitos, conforme indicado por estudos recente (LI Q, *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2020; TAY *et al.*, 2020). Esse recrutamento é importante para a defesa do organismo contra a infecção, pois essas células desempenham papéis cruciais na fagocitose, apresentação de antígenos e eliminação de patógenos.

No decorrer da resposta imune a uma infecção, as células ativadas podem produzir uma série de citocinas que desencadeiam uma cascata inflamatória. Essa cascata é positivamente regulada pela expressão dessas citocinas via NF-κB, o que pode resultar em uma tempestade de citocinas. Essa tempestade pode

levar à ativação de macrófagos e neutrófilos, que por sua vez podem induzir o estresse oxidativo por meio de uma explosão respiratória. Esse processo pode levar a uma maior liberação de citocinas, perpetuando o ciclo inflamatório e causando danos teciduais, independentemente do vírus (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020). Durante uma infecção por SARS-CoV-2, os macrófagos e neutrófilos podem desempenhar um papel patológico, produzindo numerosas espécie reativa de oxigênio (ERO) tais como H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ e radical hidroxila ($\cdot OH$) (BELTRÁN-GARCÍA *et al.*, 2020; TAN YI, 2021). Esse desequilíbrio do sistema redox pode levar a um estresse oxidativo que afeta o sistema imunológico, alterando a função das células imunes e a resposta inflamatória. Notadamente, o excesso de ERO pode resultar em danos celulares e inflamação, agravando a doença CECCHINI & CECCHINI AL., 2020).

A infiltração exacerbada de células inflamatórias pode mediar danos nos pulmões por meio da secreção excessiva de proteases e ERO, além do dano direto causado pelo vírus. Juntos, eles resultam em dano alveolar difuso, incluindo descamação de célula alveolares, formação de membrana hialina e edema pulmonar (FRISONI P, *et al.*, 2022; TANG XD, *et al.*, 2021). Devido à presença dessas citocinas, a resposta inflamatória desencadeia o aumento da permeabilidade do alvéolo-capilar levando as consequências pulmonares conhecidas como edema alveolar, diminuição das trocas gasosas, dispneia progressiva e hipoxemia (TANG XD, *et al.*, 2021; MARTINS-FILHO, TAVARES, SANTOS, 2020).

A resposta imune é fundamental para controlar a infecção pelo vírus SARS-CoV-2, e sua falha pode levar a uma progressão mais grave da doença (AZUKUR AZKUR *et al.*, 2020). Além disso, a infecção pelo SARS-CoV-2 pode levar a um estado de estresse oxidativo (BELTRÁN-GARCÍA *et al.*, 2020).

Pesquisas recentes apontam sinais de que a resposta imunológica das mulheres à COVID-19 pode ser mais eficiente em comparação a dos homens. Estudos sugerem que as mulheres têm menor suscetibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2 e uma taxa de menor mortalidade quando comparado aos homens. Essa proteção pode estar relacionada a fatores biológicos, como a presença de dois cromossomos X, bem como à produção de hormônios esteroides femininos, como o estrogênio e a progesterona, conferindo uma resposta imune mais eficiente (TAN YI, 2021; CONTI P, YOUNES A., 2020). Os aspectos genéticos,

sendo a resposta imune mais eficiente em mulheres, pode ser explicado, então, pela presença de dois cromossomos X, o que aumenta a diversidade de proteínas, além de gerar uma população maior de células imunológicas.

Por outro lado, o cromossomo X também desempenha um papel importante na função de células do sistema imunológico, incluindo linfócitos T CD4 e receptores Toll-like. Dentre eles, o Toll-like receptor 7 (TLR7) é particularmente importante na resposta à infecção pelo SARS-CoV-2, detectando o RNA do vírus. Quando estimulado, o TLR7 pode aumentar a expressão em células imunológicas femininas e tornar mais eficaz a resposta ao IFN tipo 1 (BRONDIN, 2021). Supõe-se, então, que a presença de dois cromossomos X nas mulheres confere uma vantagem significativa na resposta imunológica à infecção viral (LIU, et al., 2020).

Novas evidências têm mostrado a importância dos hormônios sexuais femininos, principalmente o estrogênio, na resposta imunológica das mulheres à COVID-19 (BRONDIN, 2021; CONTI P, YOUNES A., 2020). O tipo da resposta imune é estimulado pelo nível de estrógeno, quando em doses mais baixas estimula a resposta TH1 e a liberação de citocinas pró-inflamatórias, portanto, em doses mais altas promovem o aumento da resposta TH2, ativando a produção de citocinas anti-inflamatória. Já a progesterona, por sua vez, tem efeito anti-inflamatório, com a modificação da resposta TH1 em TH2, com o aumento da liberação de IL-4, IL-5 e IL-10 (PASCOALI, et al., 2020).

Além disso, as mulheres apresentam níveis mais elevados de imunoglobulinas IgM e IgG circulantes, tornando uma produção mais eficaz de protetores após vacinas contra influenza, hepatite, sarampo e febre amarela. Também possuem frequências mais altas de células T auxiliares CD4+ e CD8+ do que os homens (BRONDIN, 2021; CONTI P, YOUNES A., 2020). No entanto, a variação dos níveis hormonais durante o ciclo menstrual e a redução da capacidade de resposta imune na menopausa devem ser levadas em consideração para uma melhor compreensão dos fatores que influenciam a suscetibilidade e a gravidade da doença em mulheres (CONTI P, YOUNES A., 2020; HUSSAIN NA, et al., 2020). Portanto, é importante que as pesquisas continuem a investigar os efeitos dos hormônios sexuais no sistema imunológico feminino, a fim de desenvolver estratégias de prevenção e tratamento mais

eficazes para as mulheres com COVID-19 (PASCOALI, *et al.*, 2020; CONTI P, YOUNES A., 2020).

1.3 COVID-19 e Estresse oxidativo

A pandemia da COVID-19 afetou milhões de pessoas em todo o mundo, apresentando uma série de sintomas e efeitos adversos à saúde. Entre as várias consequências dessa doença, o estresse oxidativo tem sido estudado como mecanismo contribuinte para o agravamento do quadro clínico em pacientes internados em UTIs (DELGADO-ROCHE, MESTA., 2020). A infecção pelo SARS-CoV-2 tem sido associada a uma resposta inflamatória exacerbada e a um aumento do estresse oxidativo, trombose vascular e disfunção endotelial, que caracteriza a gravidade da COVID-19 (CHERNYAK *et al.*, 2020).

A patogênese da COVID-19 em casos mais graves é caracterizada por uma série de eventos complexos. Uma das primeiras constatações foi uma resposta inflamatória exacerbada conhecida como "tempestade de citocinas" (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020) Essa visão é descrita pelo aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias e pela ativação de vias inflamatórias, como NF-κB, e produção aumentada de NADPH oxidase. Esses eventos levam ao aumento dos marcadores inflamatórios em pacientes com COVID-19, que podem ser tanto causa como consequência da produção de ERO. (ROCHE e MESTA, 2020; BAQI HR, *et al.*, 2020). O aumento da produção de ERO pode levar a danos celulares, causando lesões pulmonares significativas e afetando a estrutura e a função de vários órgãos e tecidos associados à doença. Esses fatos demonstram que o estresse oxidativo é uma peça-chave na COVID-19 (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; MUHAMMAD Y, *et al.*, 2021).

Sendo assim, o SARS-CoV-2 é capaz de infectar células com grande número de mitocôndrias, como os pneumócitos tipo II, que apresentam alta expressão da ECA2 favorecendo a replicação do vírus, levando a um aumento na produção de ERO (CHERNYAK *et al.*, 2020;) De acordo com OLIVEIRA, (2020) a ECA2 desempenha um papel fundamental na regulação do sistema renina-angiotensina (SRA), mantendo a homeostase regulada do organismo. No entanto, quando o vírus SARS-CoV-2 infecta os pulmões, há uma redução na

atividade da ECA2, o que pode levar a um desequilíbrio no SRA e à ocorrência de um processo inflamatório mediado por radicais livres. Esse mecanismo começa com a produção de angiotensinogênio no fígado, que é então clivado pela renina, uma enzima liberada pelos rins, para formar a angiotensina I. A angiotensina I é então convertida em angiotensina II pela ação da ECA, presente principalmente nos pulmões e no endotélio vascular. A angiotensina II é um vasoconstritor que age principalmente através do receptor de Angiotensina tipo 1 (AT₁R), originado em processos que agravam o dano pulmonar, como vasoconstrição, fibrose, apoptose de células alveolares e permeabilidade vascular pulmonar, disfunção do endotélio (SCHOLZ *et al.*, 2020). Além disso, a angiotensina II pode ativar o NF-κB, que induz a ativação da NADPH oxidase levam à produção ERO, principalmente H₂O₂ (CAVALCANTI *et al.*, 2021; JACKON, 2021). A ativação da NADPH oxidase é responsável pela produção ERO, o que pode promover o desequilíbrio redox das células.

Conforme já mencionado, após a invasão do vírus no organismo, várias células imunes são recrutadas para iniciar a resposta imunológica, e dentre elas, os neutrófilos, pois são responsáveis pela defesa inicial contra uma infecção (figura 3). Eles são os primeiros a chegar aos tecidos infectados, liberando enzimas e outras substâncias para combater o agente infeccioso (LAFORGE *et al.*, 2020; DENNISON *et al.*, 2021). No entanto, em condições inflamatórias, como na COVID-19, a atividade dos neutrófilos pode levar à liberação de grandes quantidades de ânion radical superóxido (O₂^{•-}) e H₂O₂ altamente reativos, o que resulta em estresse oxidativo (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020).

Além da “explosão oxidativa”, os neutrófilos também utilizam outros mecanismos para matar patógenos, como as Armadilhas Extracelulares Neutrófilicas (NETs), que são estruturas importantes contra infecções virais. A NETs são compostas por histonas, enzimas oxidantes, proteínas granulares e por cromatina que visam capturar patógenos extracelulares ou células infectadas (DENNISON *et al.*, 2021). Contudo, as NETs podem aumentar também a produção de células imunes, como macrófagos alveolares, que liberam citocinas pró-inflamatórias como IL-1β, e ativar ainda mais neutrófilos, que, por sua vez,

aumentam a formação de NETs e potencializando a inflamação (BELTRÁN-GARCÍA *et al.*, 2020).

Além disso, a formação excessiva de NETs pode ser ativada pela ação NADPH oxidase e mieloperoxidase formando ERO, que iniciam a formação das NETs. Esse processo pode ser prejudicial ao tecido pulmonar e a outros órgãos, pois o excesso de ERO pode levar à lesão oxidativa (BELTRÁN-GARCÍA *et al.*, 2020). As NETs também podem contribuir para a coagulação sanguínea, pois ativam a via de contato da coagulação e se ligam às plaquetas ativadas. Essa interação pode resultar em um aumento na formação de coágulos sanguíneos, o que é especialmente problemático em pacientes com COVID-19, já que essa doença pode aumentar o risco de complicações trombóticas (HOLM *et al.*, 2021).

O SARS-CoV-2 pode inibir as vias mediadas pelo fator nuclear relacionado ao eritróide 2 (Nrf2), levando a uma redução na produção de enzimas antioxidantes e aumentando ao dano oxidativo (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020). O Nrf2 é responsável por promover a produção de enzimas antioxidantes, o que é essencial para o equilíbrio redox das células (TSERMPINI *et al.*, 2022).

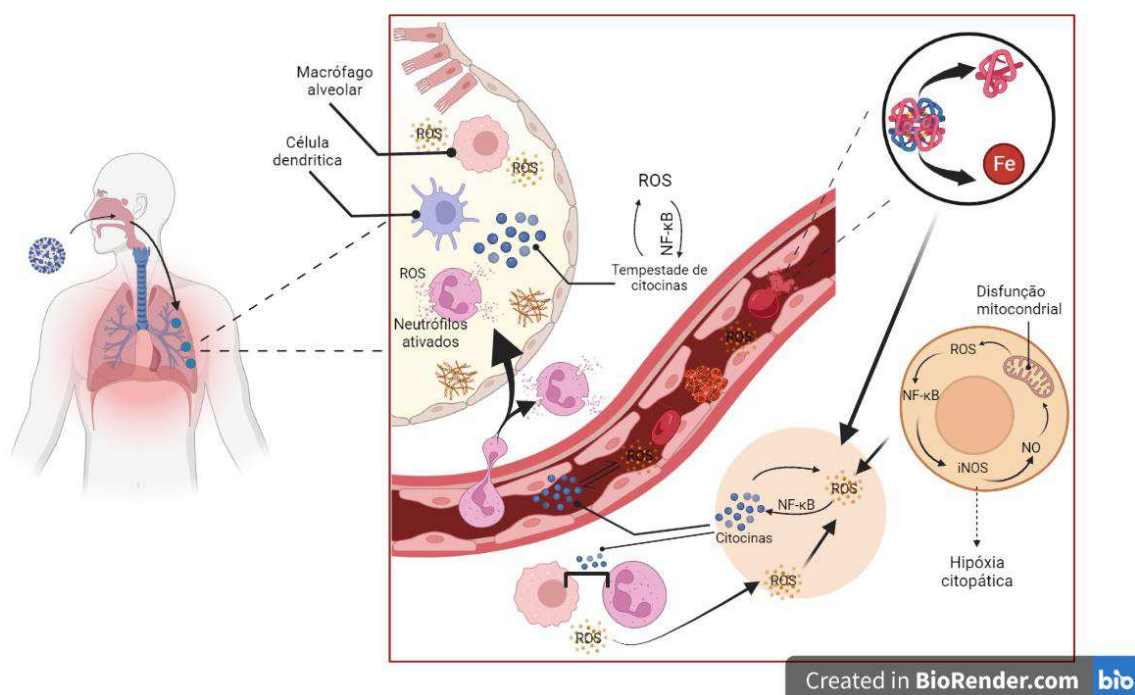


Figura 3 – Covid-19 e estresse oxidativo. Fonte: Cecchini & Cechinni AL.,2020.

Outro mecanismo crucial na COVID-19 com o aumento de ERO, são os danos à membrana dos eritrócitos, levando à disfunção dessas células sanguíneas e afetando a difusão de oxigênio e dióxido de carbono, bem como sua alteração nos vasos capilares colaborando com a formação de trombos (LAFORGE *et al.*, 2020). Essa disfunção pode causar liberação de hemoglobina livre e grupamento heme, os quais, são degradados pela heme oxigenase-1 (HO-1), gerando ferro livre, afetando a liberação de ATP e óxido nítrico (NO), que são cruciais para o transporte adequado de oxigênio e para a vasodilatação nos tecidos (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; LAFORGE *et al.*, 2020; CAVALCANTI *et al.*, 2020). Estudos mostram que esses eritrócitos danificados por ERO são fagocitados por neutrófilos e macrófagos, os quais, causam ainda mais ERO, perpetuando o ciclo do estresse oxidativo (CHERNYAK *et al.*, 2020; LAFORGE *et al.*, 2020) (figura 3).

Além disso, estresse oxidativo é um processo que ocorre em muitos tipos de células e que pode ser induzido por diversos fatores, incluindo a redução da saturação de oxigênio. Em pacientes com COVID-19, a redução da saturação de oxigênio leva à geração de radicais livres e EROs, incluindo o ânion radical superóxido e o H_2O_2 , pelas mitocôndrias, levando a hipoxia citopática (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020).

Um dos principais efeitos do estresse oxidativo é a produção de radicais hidroxila ($\bullet OH$), um agente altamente reativo. Os radicais hidroxila são gerados a partir da redução do ferro (III) a ferro (II) pelo radical superóxido, em presença de H_2O_2 produzido por células fagocíticas (HENKEL, RALF., 2010). Os radicais hidroxila induzem a formação de peróxidos lipídicos na membrana celular ocasionando a oxidação de proteínas, levando à morte celular por apoptose e/ou necrose (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020).

A trombose é uma condição clínica grave que pode ocorrer durante ou após COVID-19. Um dos principais mecanismos envolvidos na trombose é quando a formação de radicais livres que pode levar à ativação das células endoteliais e à formação de coágulos sanguíneos (ASSAD, 2020). A liberação de ferro III e a elevada produção de radical hidroxil pode ser um fator responsável pelo desenvolvimento da trombose em pacientes com COVID-19. Além disso, o ferro III livre pode ser um fator de risco para a trombose, uma vez que pode

induzir o estresse oxidativo por meio da reação de Fenton, gerando radicais livres altamente reativos que podem converter o fibrinogênio plasmático solúvel em coágulos de fibrina anormais (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; BELTRÁN-GARCÍA *et al.*, 2020). É importante destacar que a trombose em pacientes com COVID-19 é uma complicação grave, que pode evoluir para embolia pulmonar e acidente vascular cerebral.

Segundo MEHRI F. *et al.*, (2021) demonstra que pacientes com COVID-19 grave apresentaram níveis elevados de marcadores de estresse oxidativo, como malondialdeído (MDA) e superóxido dismutase (SOD). Além disso, a quantidade de ERO circulantes tem sido correlacionada com a gravidade da doença e o risco de morte em pacientes com COVID-19. Nesse contexto, o papel protetor antioxidante de GSH torna-se essencial para prevenir possíveis danos às células pulmonares.

1.4 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo resulta em um distúrbio no equilíbrio pró-oxidante – antioxidante com predomínio dos oxidantes (CAVALCANTI *et al.*, 2021). Este distúrbio no equilíbrio resulta em várias modificações bioquímicas decorrentes da reação das espécies reativas com proteínas, lipídeos e DNA, além de afetar a estrutura e a função de vários órgãos (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; REUTER *et al.*, 2010). As espécies reativas ou moléculas pró-oxidantes são classificadas radicalares e não-radicalares (BIRBEN *et al.*, 2012) e os antioxidantes são classificados como enzimáticos e não-enzimáticos. (MAGDER, 2006) Quanto à composição, as mais estudadas são as ERO e espécies reativas do nitrogênio (ERN) (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

As espécies reativas de oxigênio são moléculas produzidas durante a redução parcial do oxigênio na cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria, mas também são produzidas no processo de fagocitose, e pela atividade de enzimas como a NADPH oxidase, xantina oxidase e a do citocromo P450 (MAGDER, 2006; MOLONEY, COTTER, 2018). Os radicais livres são moléculas altamente reativas que apresentam um elétron desemparelhado na última

camada de valência, podendo reagir com outras moléculas, torna-o altamente reativo (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). São exemplos de radicais livres o radical superóxido (O_2^-) produzido durante a ativação de leucócitos, radical hidroperoxila (HO_2), radical hidroxila (OH^\cdot) sendo o mais reativo, radical peroxila (RO_2) e o radical e radical alcóxila (RO^\cdot) (VASCONCELOS *et al.*, 2007) Já as espécies reativas não radicalares não possuem elétron desemparelhado. Embora sejam mais estáveis do que os radicais livres, também conseguem reagir com outras moléculas. Dentre os mais estudados, podemos citar peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso ($HOCl$), oxigênio *singlet* (1O_2) e peroxinitrito ($ONOO^-$) (BARRY HALLIWELL & JOHN GUTTERIDGE, 1999; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Em quantidades controladas a geração dessas espécies são importantes na manutenção normal do organismo, pois desempenham um papel importante em algumas vias de sinalização, como nas vias da angiotensina, do fator de necrose tumoral α ($TNF-\alpha$), do fator nuclear kappa B ($NF\kappa B$), além de regular a proliferação celular e atua na resposta inflamatória (SOSA *et al.*, 2013; HAMBRIGHT *et al.*, 2015). Portanto, quando há desequilíbrio entre a geração de espécie reativa e as defesas antioxidantes conseqüentemente acontece modificações bioquímicas decorrentes da reação das espécies reativas com proteínas, lipídeos e DNA das células, podendo levar tanto a citotoxicidade e a morte das células (REUTER *et al.*, 2010; MISHRA *et al.*, 2018). Nas membranas celulares pode ocorrer lipoperoxidação da membrana plasmática, onde uma reação em cadeia entre ERO e lipídeos de membrana resulta na desestabilização estrutural e funcional destas membranas e a formação de moléculas como o malondialdeído (MDA) (REUTER *et al.*, 2010; MOLONEY, COTTER, 2018).

As moléculas antioxidantes possuem um papel importante prevenindo e removendo danos oxidativos e esse efeito dos oxidantes pode ser dividido em dois grandes grupos, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (BARRY HALLIWELL & JOHN GUTTERIDGE). Dos antioxidantes enzimáticos destaca-se a superóxido dismutase (SOD), a Catalase, a Glutathione redutase (GR) e a glutathione peroxidase. Nos antioxidantes não enzimáticos temos glutathione

reduzida (GSH), carotenos, ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), entre outros (ČOLAK *et al.*, 2017; COTTER, 2018).

A SOD é uma metaloenzima extremamente abundante no organismo humano podendo ser encontrada em três compartimentos celulares: no citosol celular encontra-se a SOD1 (Cu/ZnSOD) (dímero), na mitocôndrina encontra-se a SOD2 (MnSOD) (tetrâmero) e no meio extracelular, a SOD 3 (Cu/ZnSOD) (tetrâmero) (MOLONEY, COTTER, 2018). A principal função desta enzima é reagir com o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) transformando-o em H_2O_2 , sendo a primeira linha de defesa contra esse radical (Figura 4) (MISHRA *et al.*, 2018).

A catalase é uma enzima encontrada no citosol das células e nos peroxissomos, que utiliza NADPH como substrato para a conversão de H_2O_2 em H_2O e O_2 . (Figura 4). A catalase também pode atuar na decomposição de pequenos substratos como hidroperóxidos, peroxinitrito e na oxidação do óxido nítrico (KIRKMAN, GAETANI, 2007; GLORIEUX, CALDERON, 2017; MISHRA *et al.*, 2018).

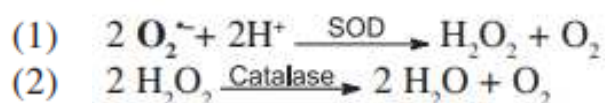


Figura 4 – Reações realizadas pelas enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase. Adaptado de: VASCONCELOS *et al.*, 2007.

O sistema Glutathione envolve reações a partir da glutathione (oxidada e reduzida) e é composto pelas enzimas glutathione peroxidase (GPx), glutathione redutase (GR) e glutathione oxidase (GO). A glutathione peroxidase (GPx) é responsável por reduzir indiretamente o peróxido de hidrogênio durante o processo de oxidação da GSH (Figura 5) (HUBER, ALMEIDA, 2008). A glutathione oxidase (GO) é uma enzima FAD dependente que converte GSH em glutathione oxidada (GSSG) (Figura 5) (WU, BATIST, 2013; OESTREICHER, MORGAN, 2018). A glutathione redutase (GR) é uma flavoproteína que também utiliza a nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzida (NADPH) como substrato para converter GSSG a GSH (Figura 5), todo esse processo é fundamental para a manutenção das defesas antioxidantes (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

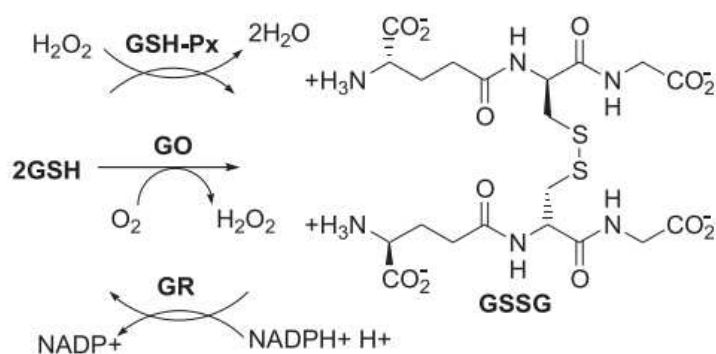


Figura 5 - Ciclo catalítico da glutatona: conversão de GSH a GSSG pelas enzimas glutatona peroxidase (GSH-px) ou glutatona oxidase (GO) e redução de GSH a GSGG pela enzima glutatona redutase (GR). Fonte: HUBER, ALMEIDA, 2008.

Os níveis dos antioxidantes intracelulares como SOD, catalase, GSH, são reguladas por uma rede de vias de sinalização, sendo umas das mais importantes a via de sinalização a do Nrf2. A ativação desta via aumenta a expressão e a atividade da SOD, catalase e GPx, além de aumentar a produção de GSH (MOLONEY, COTTER, 2018). No citoplasma celular a proteína Nrf2 esta normalmente silenciada pela associação de duas moléculas. Além disso, essa associação permite a formação de um complexo que leva a degradação proteossomal (MÁRTON *et al.*, 2018).

O aumento de espécies reativas pode levar dissociação do fator de transcrição Nrf2 (TSERPINI *et al.*, 2022). Ele é então ativado por quinases e se transloca para o núcleo da célula, onde pode se ligar a promotores associados com a transcrição de genes envolvidos nas defesas antioxidantes (HAHN, OLIVEIRA, BOCK, 2017; MÁRTON *et al.*, 2018), como a glutatona, superóxido dismutase e catalase, protegendo as células contra o estresse oxidativo e os danos causados por espécies reativas de oxigênio (MÁRTON *et al.*, 2018).

2. JUSTIFICATIVA

Uma nova doença com características particulares ainda por serem evidenciadas, necessita um extenso trabalho dos cientistas na elucidação de sua fisiopatologia, sua bioquímica e do estresse oxidativo provenientes da agressão viral. A COVID-19, promovida pela infecção do SARS-coV-2, possui características únicas e pouco conhecidas dos pesquisadores, que ao longo dos últimos 3 anos, tem tentado classificar. Este trabalho se justifica pela necessidade de se compreender melhor a ação do SARS-coV-2 em pacientes do sexo feminino quanto as características clínicas e quanto ao estresse oxidativo produzido quando da infecção viral com manifestações graves, ou seja, pacientes internados em UTI. Ademais, este trabalho contribui para que se possa compreender a evolução da doença em mulheres, a depender da resolução da doença.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer as particularidades clínicas, laboratoriais e de estresse oxidativo em mulheres não vacinadas internadas na UTI do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina, com COVID-19 durante os anos de 2020 e 2021, e correlacionar com o desfecho clínico para alta ou óbito.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1. Análise dos parâmetros laboratoriais (hematimétricos, perfil de leucócitos e parâmetros bioquímicos) em prontuários das pacientes;
- 3.2.2. Análise de parâmetros oxidativos em eritrócitos e plasma;
- 3.2.3. Correlação das comorbidades com o desfecho clínico.

4. ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

O presente trabalho foi realizado na Universidade Estadual de Londrina nos laboratórios de Patologia Molecular, e de Fisiopatologia e Radicais livres, sendo as amostras obtidas no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina. Os dados obtidos permitiram a produção de um artigo científico que será submetido para publicação na revista internacional Free Format Submission, Free of Charge. (Fator de impacto: 3,9), e intitula-se: WOMEN WITH COVID-19 HOSPITALIZED IN THE ICU OF HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE LONDRINA: A COHORT OF WOMEN WITH DISCHARGE AND DEATH

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados neste estudo, podemos concluir que as pacientes do sexo feminino internadas na UTI por infecção por SARS-CoV-2 e que foram a óbito apresentaram alterações importantes em seus níveis hematológicos, bioquímicos e inflamatórios. Entre as alterações observadas, destacaram-se leucocitose e linfopenia, além de marcadores renais elevados como ureia e creatinina. Além disso, esses pacientes apresentaram níveis aumentados de marcadores antioxidantes, como SOD e MDA, reforçando a hipótese de que esses parâmetros estão diretamente relacionados ao desfecho clínico de pacientes com COVID-19. Esses resultados sugerem a importância de uma abordagem integrada que leve em consideração tanto as características clínicas dos pacientes quanto os marcadores bioquímicos, inflamatórios e de estresse oxidativo como indicadores de prognóstico para pacientes internados em UTI com COVID-19. No geral, entender o papel do estresse oxidativo na COVID-19 pode abrir caminho para o desenvolvimento de tratamentos direcionados para esta doença.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Assad RL. Mecanismos envolvidos na trombogênese em pacientes com COVID-19. Parte 1 – Trombogênese em SARS-CoV2: mecanismo da doença. *Rev Paul Reumatol.* 2020 jul-set;19(3):19-21. DOI: <https://doi.org/10.46833/reumatologiasp.2020.19.3.19-21>.

Alipoor, SD, Mirsaedi, M. SARS -CoV-2 entrada de células além do receptor ACE2. *Mol Biol Rep* **49** , 10715–10727 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07700-x>

AZKUR,2020 – Resposta imune ao SARS-CoV2 e mecanismos de alterações imunopatológicas no COVID-19.

BAQI HR, et al. Oxidative stress and its association with COVID-19: a narrative review. *Kurdistan Journal of Applied Research*, 2020; 5(3): 97-105.

Beltrán-García, J.; Osca-Verdegal, R.; Pallardó, FV; Ferreres, J.; Rodrigues, M.; Mulet, S.; Sanchis-Gomar, F.; Carbonell, N.; García-Giménez, JL Estresse Oxidativo e Inflamação na Sepsis Associada ao COVID-19: O Papel Potencial da Terapia Antioxidante na Prevenção da Progressão da Doença. *Antioxidantes* 2020 , 9 , 936.

BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, v. 5, n. 1, p. 9–19, 2012.

Brodin P; Science for Life Laboratory, Department. of Women's and Children's Health, Karolinska Institutet, Solna, Sweden. petter.brodin@ki.se.

Brodin, P. Determinantes imunológicos da apresentação e gravidade da doença COVID-19. *Nat Med* **27** , 28–33 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8>

Cavalcante-Silva LHA, Carvalho DCM, Lima ÉA, et al. Neutrophils and COVID-19: The road so far. *Int Immunopharmacol.* 2021;90:107233. doi:10.1016/j.intimp.2020.107233.

Cecchini R., Cecchini AL., SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. Elsevier 2020, v 143 outubro de 2020.

Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J., & Peiris, M. (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *The BMJ*, 371, 1–6. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3862>

Chernyak, BV, Popova, EN, Prikhodko, AS *et al.* COVID-19 e Estresse Oxidativo. *Bioquímica Moscou* 85 , 1543-1553 (2020). <https://doi.org/10.1134/S0006297920120068>.

Conti P, Younes A. Coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 affects women less than men: clinical response to viral infection. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2020 March-April;34(2):339-343. doi: 10.23812/Editorial-Conti-3. PMID: 32253888.

Colak S, Ten Dijke P. Targeting TGF- β Signaling in Cancer. *Trends Cancer*. 2017 Jan;3(1):56-71. doi: 10.1016/j.trecan.2016.11.008. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28718426.

Dennison, David, e outros. "Neutrófilos ativados circulantes no COVID-19: um preditor independente de ventilação mecânica e morte." *Jornal Internacional de Doenças Infecciosas* 106 (2021): 155-159.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Defesa E Estresse Oxidativo. *Medicina*, v. 43, n.1, p.61–68, 1997.

Frisoni P, Neri M, D'Errico S, Alfieri L, Bonuccelli D, Cingolani M, Di Paolo M, Gaudio RM, Lestani M, Marti M, Martelloni M, Moreschi C, Santurro A, Scopetti M, Turriziani O, Zanon M, Scendoni R, Frati P, Fineschi V. Cytokine storm and histopathological findings in 60 cases of COVID-19-related death: from viral load research to immunohistochemical quantification of major players IL-1 β , IL-6, IL15 and TNF- α . *Forensic Sci Med Pathol*. 2022 Mar;18(1):4-19. doi: 10.1007/s12024-021-00414-9. Epub 2021 Aug 31. Erratum in: *Forensic Sci Med Pathol*. 2021 Dec 15;: PMID: 34463916; PMCID: PMC8406387.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide Dismutases: Redox signaling, vascular function and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 15, n. 6, p. 1583-1606, 2011.

HUSSAIN NA, et al. Role of testosterone in COVID-19 patients -A double-edged sword?. *Medical Hypotheses*, 2020;144: 110287.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. 3^a ed. Oxford: Oxford University Press, 1999.

Hosseini, Arezoo, et al. "Respostas imunes inatas e adaptativas contra o coronavírus." *Biomedicina e farmacoterapia* 132 (2020): 110859. See More

Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022 Jan;23(1):3-20. doi: 10.1038/s41580-021-00418-x. Epub 2021 Oct 5. PMID: 34611326; PMCID: PMC8491763.

Laforge, M., Elbim, C., Frère, C. et al. Dano tecidual por estresse oxidativo induzido por neutrófilos em COVID-19. *Nat Rev Immunol* 20 , 515–516 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0407-1>

LAMI RAA, et al. Sex Hormones and Novel Corona Virus Infectious Disease (COVID-19). *Mayo Clin Proc*, 2020; 95(8): 1710-1714

Liu J, Liu Y, Xiang P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med.* 2020;18(1):206. Published 2020 May 20. doi:10.1186/s12967-020-02374-0.

Liu, Y., Yang, Y., Zhang, C. *et al.* Índices clínicos e bioquímicos de pacientes infectados com 2019-nCoV ligados a cargas virais e lesão pulmonar. *Sci. China Life Sci.* 63 , 364-374 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1643-8>

Li Q, Wang Y, Sun Q, Knopf J, Herrmann M, Lin L, Jiang J, Shao C, Li P, He X, Hua F, Niu Z, Ma C, Zhu Y, Ippolito G, Piacentini M, Estaquier J, Melino S, Weiss FD, Andreano E, Latz E, Schultze JL, Rappuoli R, Mantovani A, Mak TW, Melino G, Shi Y. Immune response in COVID-19: what is next? *Cell Death Differ.* 2022 Jun;29(6):1107-1122. doi: 10.1038/s41418-022-01015-x. Epub 2022 May 17. PMID: 35581387; PMCID: PMC9110941

L. Delgado-Roche, F. Mesta, Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection, *Arch. Med. Res.* 51 (2020) 384–387. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.04.019>.

MAGDER, S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical Care.* v.10, p.208, 2006.

MÁRTON, M., et al. O. NRF2-regulated cell cycle arrest early stage of oxidative stress response mechanism. *Plos One*, v.13, n.11, 2018.

MCCORD, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, v.108, n.8, p.652–659, 2000.

Mehri F, Rahbar AH, Ghane ET, Souri B, Esfahani M. Alterações nos marcadores oxidativos em pacientes com COVID-19. *Arquivos de Pesquisa Médica.* 2021 novembro;52(8):843-849. DOI: 10.1016/j.arcmed.2021.06.004. PMID: 34154831; PMCID: PMC8180845.

MISHRA, R.; PATEL, H.; YUAN, L.; GARRETT, J. T. Role of reactive oxygen species and targeted therapy in melanoma. *Cancer Research Frontiers*, v. 4, n. 1, p. 101-130, 2018.

MOLONEY, J. N.; COTTER, T. G. Ros signaling in the biology of cancer. *Seminars in cell & developmental biology*, v. 80, p. 50-64, 2018

Muhammad Y, Kani YA, Iliya S, et al. Deficiência de antioxidantes e aumento do estresse oxidativo em pacientes com COVID-19: um estudo comparativo transversal em Jigawa, noroeste da Nigéria. *SAGE Medicina Aberta* . 2021;9. doi: [10.1177/2050312121991246](https://doi.org/10.1177/2050312121991246)

Muhammad Jamal, Hina Iqbal Bangash, Maria Habiba, Yufei Lei, Tian Xie, Jiaying Sun, Zimeng Wei, Zixi Hong, Liang Shao e Qiuping Zhang (2021) Desregulação

imunológica e patologia do sistema em COVID-19, *Virulência*, 12:1, 918 -936, DOI: 10.1080/21505594.2021.1898790

Oestreicher J, Morgan B. Glutathione: subcellular distribution and membrane transport 1. *Biochem Cell Biol*. 2019 Jun;97(3):270-289. doi: 10.1139/bcb-2018-0189. Epub 2018 Nov 14. PMID: 30427707.

Oliveira YP, Pontes-de-Carvalho LC, Couto RD, Noronha-Dutra AA. Oxidative stress in sepsis. Possible production of free radicals through an erythrocyte-mediated positive feedback mechanism. *Braz J Infect Dis*. 2017 JanFeb;21(1):19-26. doi: 10.1016/j.bjid.2016.11.004. Epub 2016 Dec 1. PMID: 27916603; PMCID: PMC9425491.

Pascoal DB, Araujo IM, Lopes LP, Cruz CMD. Analysis of the Role of Female Hormones During Infection by COVID-19. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2021 Dec;43(12):940-948. English. doi: 10.1055/s-0041-1740208. Epub 2021 Dec 21. PMID: 34933388. QIANG MA. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Pharmacology and Toxicology*, v. 53, p. 401-426, 2013

REUTER, S.; GRUPTA, S. C.; CHATURVEDI, M. M.; AGGARWAL, B. B. – Oxidative stress, inflammation and câncer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, v. 49, n. 11, p.1603-1616, 2010.

Schott, K. L., Charão, M. F., Valentin, J., Cassol, J., Garcia, S. C., Pomblum, V. J., & Bohrer, D. (2007). Influência de desproteinizantes ácidos na quantificação da glutatona reduzida eritrocitária por CLAE-UV. *Quimica Nova*, 30(3), 592–596. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300017>

Silva TF, Tomiotto-Pellissier F, Sanfelice RA, Gonçalves MD, da Silva Bortoleti BT, Detoni MB, Rodrigues ACJ, Carloto ACM, Concato VM, Siqueira ES, Costa IN, Pavanelli WR, Conchon-Costa I and Miranda-Sapla MM (2020) A 21st Century Evil: Immunopathology and New Therapies of COVID-19. *Front. Immunol*. 11:562264. doi: 10.3389/fimmu.2020.562264.

SOUSA, V.; MOLINÉ, T.; SOMOZA, R.; PACIUCCI, R.; KONDOH, H.; LEONEON, M. – Oxidative stress and câncer: an overview. *Ageing Research Reviews*, v. 12, p. 376-390, 2013

Souza, LC de, Silva, TO da, Pinheiro, AR da S., & Santos, F. da S. dos. (2021). SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2: uma revisão narrativa dos principais Coronavírus do século / SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2: uma revisão narrativa dos principais Coronavírus do século. *Brazilian Journal of Health Review*, 4 (1), 1419–1439. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n1-120>

Stevens, J.S. Diabetic Ketoacidosis and mortality in COVID-19 infection. *Diabetes Metab*;47(6):1-7, 2021

Tan LY, Komarasamy TV e RMT Balasubramaniam V (2021) Imune Hiperinflamatório Resposta e COVID-19: Uma espada de dois gumes. *Frente. imunol.* 12:742941. doi: 10.3389/fimmu.2021.742941

Tang XD, Ji TT, Dong JR, Feng H, Chen FQ, Chen X, Zhao HY, Chen DK, Ma WT. Pathogenesis and Treatment of Cytokine Storm Induced by Infectious Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021 Nov 30;22(23):13009. doi: 10.3390/ijms222313009. PMID: 34884813; PMCID: PMC8658039

VASCONCELOS, S. M. L., et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para a sua determinação. *Química Nova.* v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

WU, J. H.; BATIST, G. Glutathione and glutathione analogues: therapeutic potentials. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)*, v. 1830, n. 5, p. 3350-3353, 2013.

ZITVOGEL, L.; et al. Inflammasomes in carcinogenesis and anticancer immune responses. *Nat Immunol.* 13:343–51, 2012.

Mulheres com COVID-19 internadas na UTI do Hospital Universitário de Londrina: um cohort de mulheres com desfecho de alta e óbito.

Women with COVID-19 admitted to the ICU of the University Hospital of Londrina: a cohort of outcome of discharge or death.

Autores: Jôse de Melo^{1,2}; Thiago Henrique Daniel do Nascimento ^{1,2}; Luca Kiichi Suzuki Trancolin^{1,2}; Liara Freitas Cavalcanti²; Isabela Chagas Silva^{1,2}; William Capellari Fumegali ^{1,2}; Cintia Magalhães Carvalho Grion³; Rubens Cecchini²; Alessandra Lourenço Cecchini^{1,2}

¹Universidade Estadual de Londrina, Laboratory of Molecular Pathology, Londrina, PR, Brazil.

²Universidade Estadual de Londrina, Laboratory of Physiopathology and Free Radicals, Londrina, PR, Brazil.

³Universidade Estadual de Londrina, Department of Clinics, Londrina, PR, Brazil.

Corresponding author: Alessandra Lourenço Cecchini

E-mail: alcecchini@uel.br

Fax: +55 (43) 3371 42 67

Phone: +55 (43) 3371 4529

Universidade Estadual de Londrina, Laboratory of Molecular Pathology, Londrina, PR, Brazil.
Universidade Estadual de Londrina, Laboratory of Physiopathology and Free Radicals, Londrina, PR, Brazil. 22 Rod Celso Garcia Cid, PR445, Km 380 Campus Universitário, Londrina, CEP 86057-23 970, Paraná, Brazil.

Abstract

In the last two years, a lot of information about the SARS-CoV-2 virus has been published in the literature. The pathophysiology and manifestations are well characterized to understand the disease, and better evaluate the response, when the severe manifestation occurs. The sex disparity on the disease outcome is already evident and a better understanding the progress of the disease in women with severe COVID-19 admitted at ICU could bring a better light to the pathogenesis of this disease. Patients in the group that progress to death levels of systemic oxidative markers, which is a marker of lipid peroxidation, in addition, which evolve to present patients with hematological and biochemical parameters closer to normal. This study is important to highlight the analysis of oxidants and antioxidants as indicators that can be used to highlight diseases.

Key-words: Oxidative stress, SARS-CoV-2, markers, blood biochemical parameters and antioxidants.

INTRODUÇÃO

O vírus SARS-CoV-2 é responsável pela pandemia de COVID-19, declarada pela OMS em março de 2020 (SILVA et al., 2020). A doença é altamente contagiosa, transmitida por gotículas de saliva, tosse, espirro e contato com superfícies contaminadas por indivíduos infectados (CAVALCANTE et al., 2021; CEVIK et al., 2020). O período médio de incubação viral é de 4 a 5 dias. (CEVIK et al., 2020; TAN YI, 2021). A COVID-19 apresenta uma ampla gama de sintomas, desde assintomáticos até casos graves (SOUZA et al., 2021). Cerca de 80% dos pacientes têm sintomas leves a moderados, como febre, dor de cabeça, tosse seca, fadiga, perda do olfato e paladar. No entanto, aproximadamente 20% podem desenvolver quadros graves, necessitando de internação em UTI devido à falta de ar e hipoxemia (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020; AZUKUR et al., 2020; JAMAL M, et al., 2021).

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples, na superfície do envelope viral está presente a proteína S fundamental para a entrada do vírus nas células hospedeiras (HOSSEINI et al.,2020; SILVA et al.,2020; CAVALCANTE et al.,2021). A proteína S se liga ao receptor ECA2 e é clivada pelas subunidades S1 e S2 por uma serina protease transmembrana 2 conhecida como (TMPRSS2), que é altamente expressa em células epiteliais do pulmão. Após a clivagem de um dos domínios, ocorre a fusão das membranas virais com as membranas da célula-alvo, permitindo a entrada do material genético do vírus na célula hospedeira por meio de endocitose ou fusão de membranas (SILVA et al.,2020). Após esse estágio inicial, o vírus inicia a síntese de novas partículas virais por meio da desencapsulação do seu material genético e da subsequente replicação dentro da célula hospedeira (JACKSON et al., 2021).

A resposta imune é fundamental para controlar a infecção pelo vírus SARS-CoV-2, e sua falha pode levar a uma progressão mais grave da doença (AZUKUR AZKUR et al., 2020). Durante uma infecção por SARS-CoV-2, os macrófagos e neutrófilos podem desempenhar um papel patológico, produzindo numerosas ERO, tais como H₂O₂, O₂^{•-} e radical hidroxila (•OH) (BELTRÁN-GARCÍA et al., 2020; TAN YI, 2021). Esse desequilíbrio do sistema redox pode levar a um estresse oxidativo que afeta o sistema imunológico, alterando a

função das células imunes e a resposta inflamatória. Notadamente, o excesso de ERO pode resultar em danos celulares e inflamação, agravando a doença (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020).

No decorrer da resposta imune a uma infecção, as células ativadas podem produzir uma série de citocinas que desencadeiam uma cascata inflamatória. Essa cascata é regulada pela expressão dessas citocinas via NF- κ B, o que pode resultar em uma tempestade de citocinas. Essa tempestade pode levar à ativação de macrófagos e neutrófilos, que por sua vez podem induzir o estresse oxidativo por meio de uma explosão respiratória que pode danificar tecidos independentemente do vírus (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020).

O SARS-CoV-2 pode inibir as vias mediadas pelo Nrf2, levando a uma redução na produção de enzimas antioxidantes e aumentando ao dano oxidativo (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020). O Nrf2 é responsável por promover a produção de enzimas antioxidantes, o que é essencial para o equilíbrio redox das células (TSERMPINI et al., 2022).

Fatores de risco como diabetes mellitus, hipertensão e obesidade se associam com pior prognóstico e internação em UTI. Essas comorbidades também estão relacionadas com níveis basais aumentados de espécies reativas de oxigênio (ROS) (DELAGO RL, MESTA F., 2020). Estudos demonstram que pacientes que com Doença Renal Crônica (DCR) apresentam um comprometimento da resposta imune, estado pró-inflamatório do organismo e disfunção vascular (ANDO, et al., 2006) Além disso, esses pacientes se encontram mais susceptíveis a doença crítica, ocasionando em falência múltipla de órgãos, trombose e resposta inflamatória aumentada (FLYTHE JE, et al., 2021).

Nosso estudo visou analisar particularidades clínicas, laboratoriais e de estresse oxidativo em mulheres internadas na UTI, apresentando quadro de COVID-19 durante os anos de 2020 e 2021 e, correlacionar com o desfecho clínico para alta ou óbito.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho experimental

Para o estudo, foram selecionados 66 pacientes do sexo feminino internadas na UTI no Hospital Universitário de Londrina (HU) da Universidade Estadual de Londrina/PR, diagnosticadas com COVID-19 no período de 10 de julho de 2020 a 10 de janeiro de 2021. O trabalho foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina sob o número CAAE: 34446720.4.0000.5231 e todos os pacientes, ou os representantes diretos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. As participantes foram divididas em dois grupos com base na coleta do sangue ou sendo na ADMISSÃO ou próximo ao DESFECHO. Nestes dois momentos de coleta do sangue, foram formados dois subgrupos, o das pacientes que sobreviveram e receberam alta hospitalar, chamado de SOBREVIVENTES (S; n=23) e as que foram a óbito, chamadas de NÃO-SOBREVIVENTES (NS; n=43).

As amostras foram obtidas do sangue periférico por punção arterial na rotina de análise de gasometria arterial e por punção venosa na análise do hemograma e outros parâmetros hematimétricos das pacientes internadas na Unidade Terapia Intensiva (UTI) no Hospital Universitário de Londrina (HU/UEL). Após serem usadas para rotina laboratorial, estas foram armazenadas e transportadas ao laboratório de Fisiopatologia e Radicais Livres da Universidade de Londrina (UEL). Os eritrócitos foram utilizados para a quantificação de GSH, Catalase, SOD e lipoperóxidos de membrana. O plasma foi utilizado para quantificação do produto final da peroxidação de membranas celulares, o malonaldeído (MDA), por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). O plasma colhido em tubo contendo o anticoagulante EDTA foi utilizado para a quantificação de citocinas de padrão Th1 e Th2. Os dados clínicos e demográficos (idade, sexo, comorbidades e data do início dos sintomas) foram obtidos a partir dos prontuários eletrônicos para apresentação da característica populacional do estudo.

Coleta de amostras

As amostras de sangue coletadas em tubo sem anti-coagulante ou com os anti-coagulantes heparina ou EDTA foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos a 4°C para obtenção de soro, plasma e eritrócitos. Os eritrócitos provenientes dos tubos coletados com anti-coagulantes foram lavados três vezes com 1mL de solução de cloreto de sódio a 0,9% e centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida as amostras de plasma e soro foram armazenadas em freezer -20°C por até 6 meses para posterior análise e o eritrócitos foram armazenado por até 7 dias a 10°C em Alsever para a realização de testes de estresse oxidativo.

Determinação da proteína total

A proteína total foi medida para a correção dos resultados das técnicas utilizadas para quantificar Glutathione reduzida (GSH), Superóxido dismutase (SOD) e lipoperoxidação de membrana. Brevemente, as hemácias foram diluídas 1:800 em água destilada e misturadas com reagente cúprico (1:1), repousando em temperatura ambiente por 10 minutos. Logo após, foi adicionado o reagente Folin e incubado em banho maria durante 10 minutos à uma temperatura de 50°C. As concentrações das amostras foram determinadas (mg), utilizando albumina sérica bovina para a curva de concentração padrão e a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 660 nm (Shimadzu UV-1650 PC) (Lowry, 1951 modificado por Miller, 1959). Os resultados foram expressos /mg de proteína.

Determinação da atividade da Catalase

A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada de acordo com o método descrito por Aebi (1984), que se baseia na decomposição do peróxido de hidrogênio diretamente relacionado à sua absorção em 240 nm espectrofotômetro (UV-1650 PC® UV-vis, Shimadzu, Kyoto, Japão). As hemácias foram diluídas 1:80 em água destilada e diferentes volumes foram

incubados em um sistema incluindo 1 M de tampão TRIS e 200 mM de solução de H₂O₂. Os resultados foram expressos em valores de absorbância por minuto por mililitro de amostra (Vabs min⁻¹ ml⁻¹).

Determinação atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi medida pelo método descrito por Marklund & Marklund (1974) em eritrócitos, baseado na inibição da auto-oxidação do pirogalol. A reação foi medida em espectrofotômetro com leitura a 420nm (UV-1650 PC® UV-vis, Shimadzu, Kyoto, Japão) a 37° graus Celsius. Os resultados foram expressos em unidades de SOD por miligrama de proteína (USOD/mg proteína).

Determinação da GSH

A concentração de GSH nos eritrócitos foi determinada de acordo com Tietze (1968) em espectrofotômetro a 412 nm.

Determinação dos hidroperóxios de membrana

A determinação dos hidroperóxidos da membrana celular foi realizada por quimiluminescência de acordo com Gonzalez-Flecha et al (1991), com base na oxidação induzida por tert butil hydroperoxido de lipídios presentes na membrana eritrocitária. A reação é avaliada por 40 minutos, e para isso, os eritrocitos foram diluídos 1:1200 em tampão fostato monobásico 10 mM, pH 7,4 NaCl 0,9%. A reação foi iniciada com adição de hidroperóxido de tert-butil e a curva analisada no luminômetro (Berthols Technologies; Lumat 3; LB 9508). Os resultados foram expressos após análise de pico máximo de emissão URL/mgProteína, velocidade de ascensão da curva URL/Proteína.min e área total sob a curva AUC.

Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA)

A quantificação de malondialdeído (MDA), produto da lipoperoxidação de membrana, foi realizada de acordo com a técnica descrita por VICTORINO et al. (2013). Brevemente, para a quantificação foi utilizado um

cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC-Shimadzu 20AT), equipado com bomba LC20AT e detector de absorvância UV de matriz de diodo SPDM20A, utilizando coluna de fase reversa C18, sem uso de pré-coluna. As leituras foram feitas a 535 nm, durante 11 minutos de corrida, com vazão de 0,8 mL/minuto, e os resultados foram expressos em nM de MDA.

Análise estatística

Variáveis contínuas foram apresentadas em números absolutos e porcentagens, e relacionados usando o teste qui-quadrado de Pearson e quando aplicável o teste exato de Fisher performado no SPSS versão 24.0 (SPSS; Chicago, IL, USA). Para as análises dos parâmetros de estresse oxidativo os dados foram analisados usando o GraphPad Prism (version 6; San Diego, CA, USA). Para verificar a normalidade dos dados o teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado. Para a comparação estatística entre os grupos o t-test de student foi utilizado para dados paramétricos o teste de Mann-Whitney foi usado. Dados não paramétricos são expressos por medianas. Para todas as análises foi adotado um valor de $p < 0.05$ para ser considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Os dados apresentados nas tabelas abaixo demonstram a quantidade e porcentagem de pacientes internados na Terapia Intensiva (UTI), SOBREVIVENTES (S) e NÃO-SOBREVIVENTES (NS) que apresentam características clínicas e demográficas. Na tabela 1 observa-se um aumento significativo no grupo NS (23 [53.5%]) em comparação ao grupo S (5 [21.7%]) dos pacientes com diabetes, indicando um pior prognóstico da COVID-19 ($p=0.013^*$). Na figura 1 (A) analisamos os parâmetros de estresse oxidativos, onde mostra que a enzima antioxidante enzimática SOD foi significativamente maior no grupo DESFECHO, subgrupo NS. Figura 2 a lipoperoxidação através de quimiluminescência induzida por tert-butil, no grupo DESFECHO, apresenta diferença significativa, mostrando-se uma diminuição no subgrupo NS da área e

o pico. Já na figura 3 os níveis plasmáticos de MDA foi significativamente maior no grupo ADMISSÃO, subgrupo S e no grupo DESFECHO subgrupo NS.

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos participantes da pesquisa entre sobreviventes e não sobreviventes.

| Características | Resultado | | | | p-valor |
|---------------------------------|-------------|-------|-------------|------|---------|
| | S | | NS | | |
| | N | % | N | % | |
| Idade | 62.7 ± 11.8 | | 65.5 ± 13.1 | | 0.229 |
| Etnia | | | | | |
| Branco | 20 | 87.0 | 37 | 86.0 | 0.640 |
| Parda | 2 | 8.7 | 2 | 4.7 | |
| Negra | 1 | 4.3 | 4 | 9.3 | |
| IMC | 29.9 ± 4.5 | | 29.3 ± 6.1 | | 0.541 |
| Hipertensão | | | | | |
| Sim | 13 | 56.5 | 30 | 69.8 | 0.282 |
| Não | 10 | 43.5 | 13 | 30.2 | |
| Diabetes | | | | | |
| Sim | 5 | 21.7 | 23 | 53.5 | 0.013* |
| Não | 18 | 78.3 | 20 | 46.5 | |
| Doenças cardiovasculares | | | | | |
| Sim | 5 | 21.7 | 7 | 16.3 | 0.584 |
| Não | 18 | 78.3 | 36 | 83.7 | |
| Doença renal | | | | | |
| Sim | 2 | 8.7 | 9 | 20.9 | 0.204 |
| Não | 21 | 91.3 | 34 | 79.1 | |
| Doenças respiratória | | | | | |
| Sim | 4 | 17.4 | 8 | 18.6 | 0.903 |
| Não | 19 | 82.6 | 35 | 81.4 | |
| Hipotireoidismo | | | | | |
| Sim | 3 | 13.0 | 6 | 14.0 | 0.918 |
| Não | 20 | 87.0 | 37 | 86.0 | |
| Hipertireoidismo | | | | | |
| Sim | 0 | 0.0 | 1 | 2.3 | 0.461 |
| Não | 23 | 100.0 | 42 | 97.7 | |
| Fumante | | | | | |
| Sim | 2 | 8.7 | 2 | 4.7 | 0.629 |
| Não | 20 | 87.0 | 37 | 86.0 | |
| Ex-fumante | 1 | 4.3 | 4 | 9.3 | |

S: Sobreviventes; NS: Não sobreviventes; IMC: Índice de massa corpórea

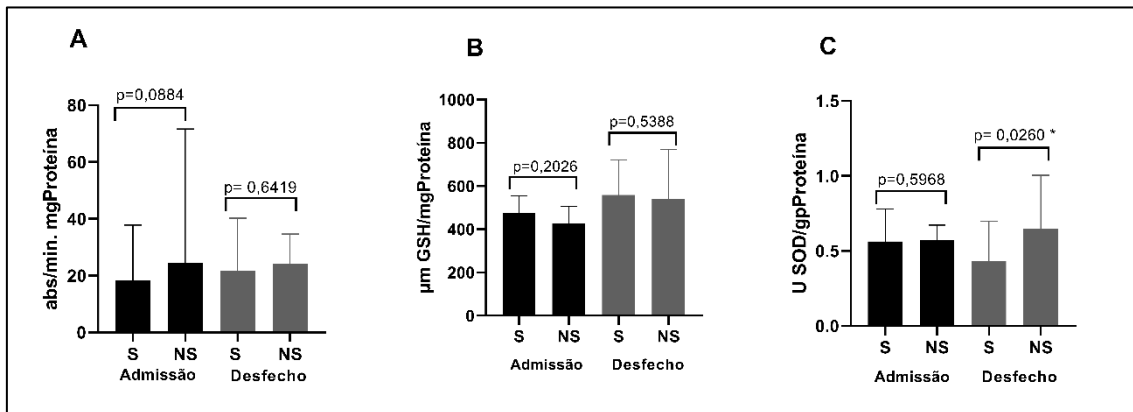


Figura 1. Parâmetros de estresse oxidativo entre sobreviventes (S) e não sobreviventes (NS) na admissão e desfecho da internação (A) Atividade da Catalase (B); Níveis da glutatona reduzida (GSH); (C) Unidade da superóxido dismutase (SOD). A, B e C estão expressos como mediana com intervalo interquartil. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

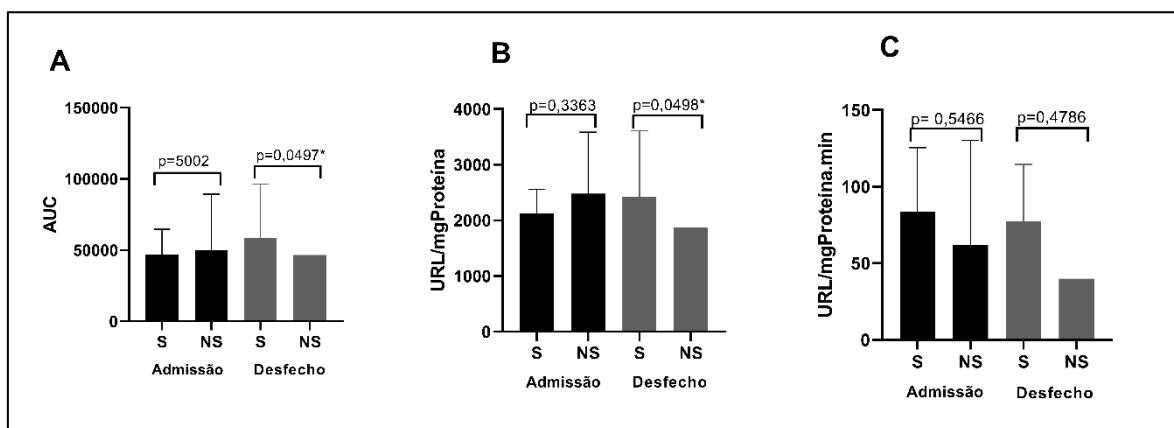


Figura 2. Parâmetros de estresse oxidativo entre sobreviventes (S) e não sobreviventes (NS) na admissão e desfecho da internação. LOOH: Lipoperoxidação; (A) AUC: Area sob a curva; (B) Pico máximo alcançado pela curva de lipoperoxidação em eritrócitos: URL/mgPT: Unidade relativa de Luz por miligrama de proteína total, (C) Velocidade de subida da curva de lipoperoxidação em eritrócitos: URL/mgPT: Unidade relativa de Luz por miligrama de proteína total.). A, B e C estão expressos como mediana com intervalo interquartil. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

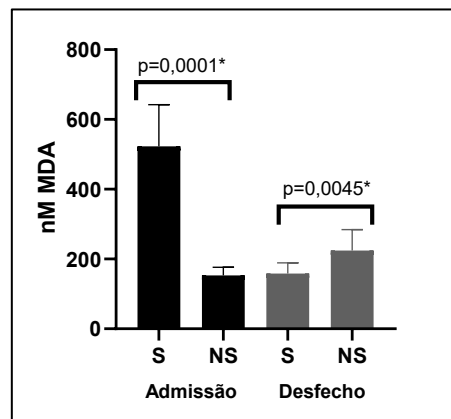


Figura 3. Parâmetros de estresse oxidativo entre sobreviventes (S) e não sobreviventes (NS) na admissão e desfecho da internação. Níveis de malonaldeído; nM MDA nanomolar de malonaldeído. A. foram expressos como mediana com intervalo interquartil. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

A tabela 2 mostra os dados laboratoriais hematimétricos das pacientes do estudo. No grupo ADMISSÃO houve uma diferença significativa entre os subgrupos S e NS para os parâmetros de número de hemácias, hemoglobina e hematócritos. Para o grupo DESFECHO, a mesma diferença significativa foi observada para os subgrupos. No grupo DESFECHO também foi observado uma diferença significativa entre os subgrupos para os valores de HCM e CHCM.

A contagem de leucócitos foi significativamente maior entre os subgrupos no DESFECHO. Foram encontrados bastonetes nos grupos ADMISSÃO e no grupo DESFECHO com diferença significativa entre os subgrupos S e NS. Os linfócitos e monócitos tiveram uma redução no grupo DESFECHO, observado na tabela 3.

Tabela 2. Parâmetros hematimétricos entre sobreviventes e não sobreviventes na admissão e desfecho.

| | ADMISSÃO | | | DESFECHO | | |
|---------------------------------------|----------|-------|----------------------|----------|-------|---------------------|
| | S | NS | p-valor | S | NS | p-valor |
| Hemácias (3,9 a 5,0 milhões/ μ L) | 4,23 | 3,89 | p= 0,0075** | 3,61 | 3,10 | p = 0,0105 * |
| Hemoglobina (12.0 a 15.5 g/dL) | 12,19 | 10,60 | p = 0,0048 ** | 10,10 | 8,70 | p = 0,0030** |
| Hematócrito (35.0 a 45.0 %) | 37,34 | 32,31 | p = 0,0010 ** | 32,32 | 27,63 | p = 0,0071** |
| VCM (80 a 100 fL) | 89,39 | 89,29 | p= 0,9562 | 89,93 | 89,55 | p = 0,7964 |
| HCM (26 a 34 pg) | 29,80 | 29,28 | p= 0,3953 | 29,73 | 28,88 | p = 0,0489* |
| CHCM (31 a 36 g/dL) | 33,31 | 32,94 | p= 0,0888 | 33,10 | 32,42 | p= 0,0075** |
| RDW (10 a 16%) | 14,79 | 14,90 | p= 0,8509 | 15,33 | 15,77 | p= 0,4571 |

S: Sobreviventes; NS: Não sobreviventes; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: *Red cell Distribution Width*; μ L: microlitro; g/dL: gramas por decilitro; fL: Fentolitro; pg: picogramas. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

Tabela 3. Comparação do leucograma e plaquetograma entre sobreviventes e não sobreviventes na admissão e desfecho.

| | ADMISSÃO | | | DESFECHO | | |
|----------------------------------|----------|--------|--------------------|----------|--------|-----------------------|
| | S | NS | p-valor | S | NS | p-valor |
| Leucócitos (4,0 a 10,0/ μ L) | 11,17 | 13,96 | p= 0,0563 | 8,56 | 16,88 | p = 0,0001**** |
| Neutrófilos (40 a 70 g/DI) | 84,50 | 80,00 | p = 0,1520 | 70,95 | 73,14 | p = 0,5130 |
| Metamielócito (0) | 1,00 | 1,00 | p = 0,8614 | 1,00 | 1,00 | p = 0,7499 |
| Bastonete (0 a 5) | 2,00 | 5,00 | p = 0,0480* | 0,00 | 7,00 | p = 0,0001**** |
| Linfócitos (20 a 40) | 7,00 | 6,00 | p= 0,1272 | 13,00 | 7,00 | p= 0,0002*** |
| Monócitos (2 a 10) | 3,50 | 3,00 | p= 0,7508 | 6,20 | 4,00 | p= 0,0006*** |
| Plaquetas (150 a 400 mil/uL) | 290,40 | 269,40 | p = 0,4413 | 330,20 | 279,00 | p = 0,1405 |

S: Sobreviventes; NS: Não sobreviventes; μ L: microlitro; g/dL: gramas por decilitro; mil/uL: mililitro por microlitro. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

A tabela 4 mostra os resultados dos valores bioquímicos sanguíneos das pacientes no grupo ADMISSÃO e DESFECHO. No grupo ADMISSÃO a glicemia mostrou-se elevada em ambos os grupos comparando-se aos valores de referência, e significativamente mais elevados no subgrupo NS. No grupo DESFECHO, as diferenças entre os subgrupos mostraram-se significativa, onde tem-se um aumento da glicemia no subgrupo NS.

Tabela 4. Comparação dos parâmetros bioquímicos entre sobreviventes e não sobreviventes na admissão e desfecho.

| | ADMISSÃO | | | DESFECHO | | |
|------------------------------------|----------|--------|-------------------|----------|--------|----------------------|
| | S | NS | p-valor | S | NS | p-valor |
| Glicose (60 - 95 mg/dL) | 148,00 | 184,00 | p= 0,0154* | 110,20 | 172,10 | p= 0,0002*** |
| Uréia (15 - 38/ mg/dL) | 65,95 | 93,41 | p= 0,0268* | 67,04 | 145,40 | p= 0,0001**** |
| Creatinina (0,80 – 1,30mg dL) | 0,92 | 1,44 | p= 0,0377* | 0,90 | 2,70 | p= 0,0001**** |
| Bilirrubina Total (0 a 1,00 mg/dL) | 0,50 | 0,30 | p= 0,0246* | 0,28 | 0,40 | p= 0,0701* |
| Sódio (136 - 145 mEq/L) | 136,0 | 138,00 | p= 0,2831 | 137,00 | 135,00 | p= 0,5695 |
| Potássio (3,50 – 5,10 mEq/L) | 3,68 | 4,07 | p= 0,0215* | 3,78 | 4,69 | p= 0,0012** |
| Magnésio (1,80 – 2,40 mg/dL) | 1,95 | 2,24 | p= 0,1176 | 2,40 | 2,20 | p= 0,4464 |
| Fosforo (2,5 a 4,9 mg/dL) | 3,00 | 4,00 | p= 0,1254 | 3,74 | 5,28 | p= 0,0763 |
| Cálcio (1.17 – 1.32 mmol/L) | 1,09 | 1,08 | p= 0,6504 | 1,13 | 1,07 | p= 0,0687 |
| Proteína C reativa (Até 3,00 mg/l) | 118,5 | 149,90 | p= 0,1528 | 28,80 | 103,90 | p= 0,0001**** |
| Lactato (0,50 – 2,20 mmol/L) | 2,12 | 2,07 | p= 0,8148 | 2,15 | 2,10 | p= 0,9368 |
| TAP (10 – 14 seg.) | 13,71 | 12,96 | p= 0,1943 | 13,40 | 12,55 | p= 0,4739 |
| TTPA (25 a 35 seg.) | 26,50 | 30,40 | p= 0,1004 | 30,80 | 36,81 | p= 0,0460* |

S: Sobreviventes; NS: Não sobreviventes; TAP: Tempo de Protrombina; TTPA: Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativada; mg/dL: microgramas por decilitro; mEq/L: miliequivalentes por litro; mg/L: microgramas por litro; mmol/L: milimol por litro; seg: segundos. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

Na análise dos marcadores de integridade da função renal, observou-se um aumento da ureia e da creatinina no grupo ADMISSÃO, subgrupo NS. No grupo DESFECHO estes parâmetros mostraram ser ainda maiores entre os subgrupos. Quanto as medidas do sódio, potássio, cálcio e fosforo, estes se mantiveram dentro dos valores de referência para ambos os grupos ADMISSÃO e DESFECHO. Os níveis da PCR no grupo ADMISSÃO estava elevada em ambos os grupos comparando-se aos valores de referência, e significativamente mais elevados no subgrupo NS. No grupo DESFECHO, as diferenças entre os subgrupos mostraram-se significativa, onde tem-se um aumento da PCR no subgrupo NS.

Tabela 5. Dados da gasometria arterial entre sobreviventes e não sobreviventes na admissão e desfecho.

| | ADMISSÃO | | | DESFECHO | | |
|-------------------------|----------|-------|----------------------|----------|-------|----------------------|
| | S | NS | p-valor | S | NS | p-valor |
| pH (7.350 – 7.450) | 7,45 | 7,33 | p= 0,0002**** | 7,43 | 7,23 | p= 0,0001**** |
| pCO2 (35 – 45 mmHg) | 38,00 | 44,00 | p= 0,0517 | 39,90 | 49,78 | p= 0,0091** |
| pO2 (80 - 110 mmHg) | 74,24 | 75,30 | p= 0,9087 | 79,75 | 74,00 | p= 0,0001**** |
| HC03 (23 – 26 mEq/L) | 26,40 | 24,18 | p= 0,1353 | 26,30 | 18,70 | p= 0,0036** |
| CO2-total (22 -28 mM/L) | 27,87 | 25,65 | p= 0,1535 | 27,70 | 20,35 | p= 0,0046 |
| SAT de O2 % (95 a 100%) | 95,00 | 94,00 | p= 0,2178 | 93,00 | 89,00 | p= 0,0025** |
| pH (7.350 – 7.450) | 7,45 | 7,33 | p= 0,0002**** | 7,43 | 7,23 | p= 0,0001**** |

S: Sobreviventes; NS: Não sobreviventes; mmHg: milímetros de mercúrio; mEq/L: miliequivalentes por litro; mM/L: milimolar por litro; pH: potencial hidrogeniônico; SAT: saturação. Estatisticamente considerado significativo p-valor <0.05*.

Na tabela 5 mostra dados da gasometria onde o grupo ADMISSÃO, houve uma diferença significativa, observamos subgrupo NS apresenta-se em acidose. No grupo DESFECHO, o subgrupo NS apresenta acidose metabólica e acidose respiratória e uma diminuição da saturação de O2.

Discussão

O diabetes mellitus (DM), é uma das doença que tem se mostrado levar a um desfecho desfavorável em pacientes internados em UTI com COVID-19. (PONTES *et al.*, 2021). O metabolismo descompensado da glicose e o aumento das citocinas pró-inflamatórias em pacientes com DM e a COVID-19 aceleram a produção de ERO (CHEN F, *et al* 2021). Essas ERO aumenta o estresse oxidativo em longos períodos de quadros de hiperglicemia levando danos a proteínas, lipídios e DNA (REUTER *et al.*, 2010; MISHRA *et al.*, 2018; MUHAMMAD Y, *et al.*, 2021). Estudos realizados por WU e MCCGOOGAN (2020) indicam que pacientes com DM apresentam maior risco de mortalidade na COVID-19 se comprado com a pacientes que não possuem DM.

Com relação aos parâmetros de estresse oxidativo, na infecção por SARS-CoV-2 a atividade da SOD. Foi observado um aumento de SOD somente no grupo NS, o que sugere que o vírus pode estar suprimindo os sistemas antioxidantes em células. Essa influência pode contribuir para o estresse oxidativo nas células e conseguiu um papel importante no desenvolvimento da doença (MEHRI F. *et al.*, 2021). Embora tenham sido observados altos níveis de SOD, isso pode ser um mecanismo corretivo para neutralizar o estresse oxidativo (MEHRI F. *et al.*, 2021).

Em relação a lesão por estresse oxidativo foi observado a lipoperoxidação precoce das membranas e também a formação de malondiadeído (MDA), sendo um produto secundário da peroxidação lipídica o que caracteriza a degradação oxidativo da membrana celular, enfatizando uma piora no prognostico no curso da doença. Com base nos resultados obtidos, foi observado que pacientes S do DESFECHO apresentaram uma maior evidência de lipoperoxidação, indicando um estágio inicial do processo de oxidação. Por outro lado, pacientes NS do DESFECHO apresentaram uma diminuição na lipoperoxidação, mas com um aumento significativo no produto final MDA, sugerindo um estágio mais avançado da doença. Estudo de MEHRI F. *et al.*, (2021) trazem níveis elevados

de SOD e de MDA em pacientes com COVID-19, enfatizando ainda mais os níveis de estresse oxidativo com a gravidade da doença e pior prognóstico.

Estudos demonstram que pacientes com quadros graves de COVID-19 apresentam alterações significativas em exames hematimétricos e bioquímicos (OTTOBELLI C, *et al.*, 2022). O presente estudo mostrou que parâmetros hematológicos como os eritrócitos, hemoglobina e o hematócrito, estavam reduzidos no grupo DESFECHO NS, podendo estar associado a gravidade da doença (SILVA R, *et al.*, 2022; READE MC, *et al.*, 2010; DOSHI SM, *et al.*, 2011). Os pacientes NS exibiram níveis significativamente menores de hemoglobina em comparação com as pacientes S, apresentando um quadro anêmico tanto na ADMISSÃO quanto no DESFECHO. Este achado está de acordo com BERHAMASCHI G, *et al.*, (2021) onde relatam que mulheres com COVID-19 apresentaram menor concentração de hemoglobina quando comparado com os níveis de hemoglobina apresentado pelos homens, estabelecendo uma maior prevalência de anemia moderada ou grave.

Além disso, a anemia em pacientes com COVID-19 está relacionada à presença de espécies reativas de oxigênio (ERO), liberadas por células imunes principalmente neutrófilos, como ânion superóxido durante a infecção pelo SARS-CoV-2 (LAFORGE *et al.*, 2020; OLIVEIRA YP, *et al.*, 2017). Essas ERO em excesso pode causar danos à membrana dos eritrócitos, o que pode contribuir para o aumento da hemoglobina livre (LAFORGE *et al.*, 2020). A hemoglobina livre ao ser metabolizada pela heme oxigenase (OH-1) produzir ferro livre. O acúmulo de ferro livre pode ser tóxico para as células e tecidos, além de contribuir para o processo de hipóxia, devido à diminuição do transporte adequado de oxigênio pelos eritrócitos (GRYGORCZYK R, *et al.*, 2017). Além disso, observou-se que pacientes com anemia apresentaram uma maior incidência de comorbidades, como Diabetes, hipertensão arterial e doença renal crônica, que são fatores de risco associada à gravidade da doença (BELLMANN-WEILER *et al.*, 2020).

Os valores totais de leucócitos assim como a contagem de neutrófilos e bastonetes foram maiores no subgrupo NS, mostrando uma piora no quadro geral do grupo DESFECHO, corroborando com uma resposta inflamatória sistêmica característica da COVID-19. Vale ressaltar que a presença de leucocitose pode estar relacionada ao aumento dos neutrófilos e, também a

presença de células imaturas como (bastonetes) descrito como “desvio à esquerda” caracterizando a presença de células imaturas na corrente sanguínea está relacionada com o aumento da produção de neutrófilos na medula óssea em pacientes com COVID-19 (BORGES L *et al.*, 2021).

Os neutrófilos tem sido uma característica marcante na COVID-19, são células do sistema imune mais abundante no sangue periférico humano, pois representa 50-70% de todos os leucócitos circulante, sendo um protagonista no estágio inicial e infeccioso na COVID-19, sendo recrutado para o tecido pulmonar dos pacientes infectados (FOY B. H *et al.*, 2020). Estudos tem demonstrado que a neutrofilia está associada a expressão de tempestade de citocinas e do estado hiperinflamatório, que desempenham um papel importante na fisiopatologia da COVID-19 (FREURY, M.K., 2020). Segundo CECCHINI & CECCHINI AL., (2020) a tempestade de citocinas induz o estresse oxidativo e estresse oxidativo leva a tempestade de citocinas, gerando um ciclo vicioso de dano aos tecidos independente da permanência do vírus. De acordo com FREURY, M. K., (2022); QIN *et al.*, 2020 pacientes com COVID-19 apresentam aumento significativos na contagem de neutrófilos e diminuição na contagem de linfócitos em casos mais severos.

Os linfócitos fazem parte do sistema imune adaptativo responde aos patógenos de uma maneira antígeno-específica para desenvolver imunidade protetora. O sistema imunológico adaptativo é constituído por três tipos principais de linfócitos: células B (células produtoras de anticorpos), células T CD4⁺ (células T auxiliares) e células T CD8⁺ (células T citotóxicas) (RUIZ A, *et al.*, 2020).

Por outro lado, nossos resultados corroboram com os estudos de HENRY *et al.*, (2020) enfatizam que a linfopenia tem sido demonstrada em mais de 80% em pacientes graves com COVID-19, a contagem de linfócitos tem sido um marcador de interesse sendo associado a COVID-19 grave. Estudos de HUANG e PRANATA (2020) mostram que os linfócitos T periféricos, as subpopulações de células T CD4 e CD8, células B e NK são rapidamente reduzidos na infecção aguda por SARS-CoV-2, culminando ao sequestro e infiltração de linfócitos em órgãos-alvo específicos como os pulmões, trato gastrointestinal ou tecidos linfoides. Embora o mecanismo de redução dos linfócitos na COVID-19

permaneça desconhecido, isso pode ser explicado pelos linfócitos expressar o receptor ACE2 sendo alvo direto da infecção por SARS-CoV-2 levando-as a lise dessas células. Além disso, a redução a contagem de linfócitos acaba que suprindo a resposta do organismo contra a infecção, associada a tempestade de citocinas inflamatórias, podem ser um agravante no quadro clínico, levando a falência de múltiplos órgãos e a mortalidade. (HUANG *et al.*,2020; WANG *et al.*,2020).

Ao analisar os parâmetros bioquímicos, é evidente os níveis aumentados de glicemia, ureia e creatinina em pacientes NS, estando associado com a gravidade da doença. Recentemente, CHEN F, *et al* (2021), demonstrou que a COVID-19 pode causar o aumento da glicemia, mostrando alto níveis de expressão ACE2 nas células das ilhotas pancreáticas, prejudicando a secreção de insulina das células Beta, levando a hiperglicemia que consequentemente ocasiona várias complicações como síndrome hiperglicêmica hiperosmolar ou cetoacidose diabética e aumentar o risco de infecções associada a desfechos negativos nesses pacientes (GARCIA - ULLOA AC, *et al.*, 2021).

Na análise dos marcadores da função renal, observou-se uma elevação dos níveis séricos de ureia e creatinina em pacientes NS, essa elevação pode ser evidenciada durante quadros de rabdomiólise, tendo uma diminuição da taxa de filtração glomerular e menor excreção renal desses metabólitos (SOTTOCORNOLA F. *et al.*, 2021). A COVID-19 manifesta-se principalmente como uma doença respiratória aguda com pneumonia intersticial ou alveolar, porém pode afetar outros órgãos como os rins, coração e fígado (RAINA *et al.*, 2021). A literatura sugere possíveis lesões renais de maneira mais agressiva nos quadros de evolução para óbito, por meio de ligação aos receptores da ECA2, altamente expresso em células tubulares proximais e podócitos (glomérulo), culminando disfunção renal. (SILVA R, *et al.*, 2022).

A ureia é sintetizada no fígado por catabolismo proteico e a ureia sanguínea é filtrada pelo glomérulo e sofre reabsorção tubular. Sabendo que a ureia é produto final do metabolismo de proteínas ela pode ser usada como um marcador de função renal importante (HUANG D *et al.*, 2021). O SARS-CoV-2 pode ativar o sistema renina-angiotensina-aldosterona causando uma vasoconstrição renal, diminuição da filtração glomerular e diminuir a excreção de

ureia, aumentar a absorção de água e sódio e reabsorção de ureia (WEINER ID *et al.*, 2015). Nossos dados vão de acordo com estudo CHENG Y. *et al.*, (2020) uma vez que esses marcadores podem indicar uma disfunção renal.

O processo inflamatório é bem claro que pacientes com a infecção do SARS-CoV2, apresentem marcadores inflamatórios, como proteína C reativa (PCR) (ZHU *et al.*, 2020). Além disso, a PCR é uma proteína de fase aguda sensível e não específica, sintetizada no fígado nos (hepatócitos) e, portanto, está associada ao aumento da inflamação, dano tecidual e infecções mais graves. Em geral os níveis séricos de PCR isoladamente ou em combinação com outros marcadores estão diretamente associados gravidade da COVID-19 (LIU F.*et al.*, 2020). Dos pacientes desse estudo, o que é evidente o aumento dos níveis de PCR em pacientes S e NS na ADMISSÃO e no DESFECHO, podem refletir não apenas a presença da infecção, mas com a gravidade da doença, mostrado na (tabela 3), onde maiores níveis estão relacionados os pacientes NS. Esses dados corroboram com os dados de LIU F. *et al.*, (2020) os níveis séricos de PCR estavam significativamente maiores que 41,8 mg/L, eram propensos a desenvolver a forma mais grave da doença. Em outros estudos realizados por Smilowitz *et al.*, (2020) foram analisados 2.782 pacientes com diagnóstico de COVID-19, destes pacientes 93,5% tiveram uma dosagem de PCR maior que 108 mg/L e HUANG *et al.*, (2020) demonstrou os níveis séricos de PCR maior que 10 mg/L, associados a gravidade da doença, necessitando de cuidados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) em 13 estudos analisados. BERENGUER *et al.*, (2020) em seu estudo encontraram um aumento de PCR ainda maior em pacientes com COVID-19 (91,9%). A resposta inflamatória desempenha um papel crítico na infecção pelo SARS-CoV2, criando uma disfunção imune e liberação de citocinas inflamatórias, aumentando a gravidade da doença COVID-19.

A gasometria arterial (GA) é um exame considerado “padrão-ouro” constantemente utilizado em pacientes internados em UTI, para avaliação do distúrbio do equilíbrio ácido-base, ventilação alveolar e da oxigenação pulmonar do sangue arterial (ARAUJO M *et al.*, 2015), avaliando os parâmetros do potencial de Hidrogênio (pH), a pressão parcial de gás carbônico (Pco2), pressão oxigênio (PaO2), íon bicarbonato (HCO3) e saturação de oxigênio (SILVA S. *et*

al., 2022). No nosso estudo, foi verificada alterações dos parâmetros analisados, apresentando acidose respiratória e acidose mista (acidose respiratória + metabólica) o que vai de acordo com estudo de ALFANO *et al.*, 2021 que apresentou 79,7% dos pacientes com alterações do equilíbrio ácido-base. Essas alterações observadas no nosso trabalho podem ser decorrentes de uma maior retenção de CO₂, acúmulo de creatinina no sangue e devido a lesão renal aguda ou crônica alterando a função do tampão bicarbonato.

Em suma, o estudo do estresse oxidativo, exames hematológicos e bioquímicos tem se mostrado crucial na patogênese da COVID-19, com uma forte associação a um pior prognóstico e maior risco de danos celulares e teciduais em mulheres infectadas pelo vírus (YAHAYA MUHAMMAD, *et al.*, 2021; TAN YI, 2021). A presença de enzimas antioxidantes como a SOD e a catalase é fundamental para prevenir o estresse oxidativo e manter a homeostase do organismo. No entanto, uma infecção pelo SARS-CoV-2 pode suprimir as vias mediadas pelo Nrf2, levando a uma redução na produção de enzimas antioxidantes e aumentando ao dano oxidativo e pró-resolução da inflamação (CECCHINI & CECCHINI AL., 2020). O NRF2 é responsável por promover a produção de enzimas antioxidantes, o que é essencial para o equilíbrio redox das células (TSERMPINI *et al.*, 2022). A investigação de estratégias terapêuticas como antioxidantes para atenuar o estresse oxidativo e a inflamação é essencial para melhorar a saúde dos pacientes com COVID-19.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados neste estudo, podemos concluir que as pacientes do sexo feminino internadas na UTI por infecção por SARS-

CoV-2 e que foram a óbito apresentaram alterações importantes em seus níveis hematológicos, bioquímicos e inflamatórios. Entre as alterações observadas, destacaram-se leucocitose e linfopenia, além de marcadores renais elevados como ureia e creatinina. Além disso, esses pacientes apresentaram níveis aumentados de marcadores antioxidantes, como SOD e MDA, reforçando a hipótese de que esses parâmetros estão diretamente relacionados ao desfecho clínico de pacientes com COVID-19. Esses resultados sugerem a importância de uma abordagem integrada que leve em consideração tanto as características clínicas dos pacientes quanto os marcadores bioquímicos, inflamatórios e estresse oxidativo como indicadores de prognóstico para pacientes internados em UTI com COVID-19. No geral, entender o papel do estresse oxidativo na COVID-19 pode abrir caminho para o desenvolvimento de tratamentos direcionados para esta doença.

REFERÊNCIAS

AZKUR,2020 – Resposta imune ao SARS-CoV2 e mecanismos de alterações imunopatológicas no COVID-19.

Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-6. doi: 10.1016/s0076- 29 6879(84)05016-3. PMID: 6727660.

Ando, M; Shibuya, A; Tsuchiya, K; Akiba, T; Nitta, K (2006). Reduced expression of Toll-like receptor 4 contributes to impaired cytokine response of monocytes in uremic patients., *70(2)*, 358–362. doi:10.1038/sj.ki.5001548

Alfano, G., Fontana, F., Mori, G. *et ai.* Distúrbios ácido-base em pacientes com COVID-19. *Int Urol Nephrol* *54*, 405–410 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11255-021-02855-1>

Assad RL. Mecanismos envolvidos na trombogênese em pacientes com COVID-19. Parte 1 – Trombogênese em SARS-CoV2: mecanismo da doença. *Rev Paul Reumatol.* 2020 jul-set;19(3):19-21. DOI: <https://doi.org/10.46833/reumatologiasp.2020.19.3.19-21>.

Alipoor, SD, Mirsaeidi, M. SARS -CoV-2 entrada de células além do receptor ACE2. *Mol Biol Rep* **49** , 10715–10727 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07700-x>

Beltrán-García, J.; Osca-Verdegal, R.; Pallardó, FV; Ferreres, J.; Rodrigues, M.; Mulet, S.; Sanchis-Gomar, F.; Carbonell, N.; García-Giménez, JL Estresse Oxidativo e Inflamação na Sepses Associada ao COVID-19: O Papel Potencial da Terapia Antioxidante na Prevenção da Progressão da Doença. *Antioxidantes* 2020 , 9 , 936.

Bergamaschi, G., Borrelli de Andreis, F., Aronico, N. *et ai.* Anemia em pacientes com Covid-19: patogênese e significado clínico. *Clin Exp Med* *21* , 239-246 (2021). <https://doi.org/10.1007/s10238-020-00679-4>

Bellmann-Weiler, R.; Lanser, L.; Barket, R.; Ranger, L.; Schapfl, A.; Schaber, M.; Fritsche, G.; Wöll, E.; Weiss, G. Prevalência e valor preditivo de anemia e homeostase desregulada do ferro em pacientes com infecção por COVID-19. *J. Clin. Med.* 2020 , 9 , 2429. <https://doi.org/10.3390/jcm9082429>

Bode B, Garrett V, Messler J, et ai. Características glicêmicas e resultados clínicos de pacientes com COVID-19 hospitalizados nos Estados Unidos. *Jornal de Ciência e Tecnologia do Diabetes.* 2020;14(4):813-821. doi: [10.1177/1932296820924469](https://doi.org/10.1177/1932296820924469)

Borges, I. Et al. Covid-19 and neutrophils: the relationship between hyperinflammation and neutrophil extracellular traps. *Mediator inflammation*; 1-7,2020.

Brandão SCS; et.al. COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. Disponível em <https://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1677-

Brodin, P. Determinantes imunológicos da apresentação e gravidade da doença COVID-19. *Nat Med* **27** , 28–33 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8>

Cavalcanti LF, Chagas Silva I, do Nascimento THD, de Melo J, Grion CMC, Cecchini AL, Cecchini R. Decreased plasma H₂O₂ levels are associated with the pathogenesis leading to COVID-19 worsening and mortality. *Free Radic Res.* 2022 Nov-Dec;56(11-12):740-748. doi: 10.1080/10715762.2023.2174021. Epub 2023 Feb 1. PMID: 36708322.

Cecchini R., Cecchini AL., SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. Elsevier 2020, v 143 outubro de 2020.

Chen, F., Hao, L., Zhu, S. *et al.* Potenciais efeitos adversos da terapia com dexametasona em pacientes com COVID-19: revisão e recomendações. *Infect Dis Ther* **10** , 1907-1931 (2021). <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00500-z>

Cheng Y, Luo R, Wang K, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int.* 2020;97(5):829-838. doi:10.1016/j.kint.2020.03.005

Doshi SM, Rueda AM, Corrales-Medina VF, Musher DM. Anemia and community-acquired pneumococcal pneumonia. *Infection.* 2011 Aug;39(4):379-83. doi: 10.1007/s15010-011-0122-8. Epub 2011 May 10. PMID: 21556973.

Foy BH, Carlson JCT, Reinertsen E, et al. Association of Red Blood Cell Distribution Width With Mortality Risk in Hospitalized Adults With SARS-CoV-2 Infection. *JAMA Netw Open.* 2020;3(9):e2022058. Published 2020 Sep 1. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.22058

Fukai, t.; ushio-fukai, m. Superoxide dismutases: redox signaling, vascular function and diseases. *Antioxidants & redox signaling*, v. 15, n. 6, p. 1583-1606, 2011.

Freury, m.k a covid-19 e laboratório de hematologia: uma revisão de literature recente rbac, 52(2): 131-137,2020

Flythe JE, Assimon MM, Tugman MJ, Chang EH, Gupta S, Shah J, Sosa MA, Renaghan AD, Melamed ML, Wilson FP, Neyra JA, Rashidi A, Boyle SM, Anand S, Christov M, Thomas LF, Edmonston D, Leaf DE; STOP-COVID Investigators. Characteristics and Outcomes of Individuals With Pre-existing Kidney Disease and COVID-19 Admitted to Intensive Care Units in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2021 Feb;77(2):190-203.e1. doi: 10.1053/j.ajkd.2020.09.003. Epub 2020 Sep 19. PMID: 32961244; PMCID: PMC7501875.

Garcia Ulloa AC, et al. Recommendations for Glycemic Treatment for Patients Receiving Dexamethasone for

Gonzalez Flecha B, Llesuy S, Boveris A. Hydroperoxide-initiated 18 chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and 19 muscle. *Free Radic Biol Med.* 1991;10(2):93-100. Doi: 10.1016/0891-5849(91)90002-20 k. PMID: 1849867.

Grygorczyk R and Orlov SN (2017) Effects of Hypoxia on Erythrocyte Membrane Properties—Implications for Intravascular Hemolysis and Purinergic Control of Blood Flow. *Front. Physiol.* 8:1110. doi: 10.3389/fphys.2017.01110

Hussain na, et al. Role of testosterone in COVID-19 patients -A double-edged sword?. *Medical Hypotheses*, 2020;144: 110287.

Henry, b.m. Lymphopenia and neutrophilia at admission predicts severity and mortality in patients with COVID-19: a meta-analysis. *Acta Biomed*;91(3), 2020.

Huang C, Wang Y, Li X, et al. Características clínicas de pacientes infectados com o novo coronavírus de 2019 em Wuhan, China. *Lanceta.* 2020; 395 :497-506.

Huang D, Yang H, Yu H, Wang T, Chen Z, Liang Z, Yao R. Blood Urea Nitrogen to Serum Albumin Ratio (BAR) Predicts Critical Illness in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Int J Gen Med.* 2021 Aug 21;14:4711- 4721. doi: 10.2147/IJGM.S326204. PMID: 34456583; PMCID: PMC8387643

Huang, F., Guo, J., Zou, Z., Liu, J., Cao, B., Zhang, S., Li, H., Wang, W., Sheng, M., Liu, S., et al. (2014). Os níveis plasmáticos de angiotensina II estão ligados à gravidade da doença e predizem desfechos fatais em pacientes infectados pelo H7N9. *Nat Commun* 5, 3595.

Hosseini, Arezoo, et al. "Respostas imunes inatas e adaptativas contra o coronavírus." *Biomedicina e farmacoterapia* 132 (2020): 110859. See More

Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2022 Jan;23(1):3-20. doi: 10.1038/s41580-021-00418-x. Epub 2021 Oct 5. PMID: 34611326; PMCID: PMC8491763.

Laforge, M., Elbim, C., Frère, C. et al. Dano tecidual por estresse oxidativo induzido por neutrófilos em COVID-19. *Nat Rev Immunol* 20 , 515–516 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0407-1>

Liu J, Liu Y, Xiang P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med.* 2020;18(1):206. Published 2020 May 20. doi:10.1186/s12967-020-02374-0.

Liu, Y., Yang, Y., Zhang, C. *et al.* Índices clínicos e bioquímicos de pacientes infectados com 2019-nCoV ligados a cargas virais e lesão pulmonar. *Sci. China Life Sci.* 63 , 364-374 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1643-8>

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the 42 Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951 Nov;193(1):265-75. PMID: 14907713.

Magder, s. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical Care.* v.10, p.208, 2006.

Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the 32 autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J 33 Biochem.* 1974 Sep 16;47(3):469-74. doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x. 34 PMID: 4215654.

Mehri F, Rahbar AH, Ghane ET, Souri B, Esfahani M. Alterações nos marcadores oxidativos em pacientes com COVID-19. *Arquivos de Pesquisa Médica.* 2021 novembro;52(8):843-849. DOI: 10.1016/j.arcmed.2021.06.004. PMID: 34154831; PMCID: PMC8180845.

Mishra, r.; patel, h.; yuan, l.; garrett, j. T. Role of reactive oxygen species and targeted therapy in melanoma. *Cancer Research Frontiers*, v. 4, n. 1, p. 101-130, 2018.

Muhammad Y, Kani YA, Iliya S, et al. Deficiência de antioxidantes e aumento do estresse oxidativo em pacientes com COVID-19: um estudo comparativo transversal em Jigawa, noroeste da Nigéria. *SAGE Medicina Aberta* . 2021;9. doi: [10.1177/2050312121991246](https://doi.org/10.1177/2050312121991246)

Muhammad Jamal, Hina Iqbal Bangash, Maria Habiba, Yufei Lei, Tian Xie, Jiaying Sun, Zimeng Wei, Zixi Hong, Liang Shao e Qiuping Zhang (2021) Desregulação imunológica e patologia do sistema em COVID-19, *Virulência*, 12:1, 918 -936, DOI: 10.1080/21505594.2021.1898790

Oliveira YP, Pontes-de-Carvalho LC, Couto RD, Noronha-Dutra AA. Oxidative stress in sepsis. Possible production of free radicals through an erythrocyte-mediated positive feedback mechanism. *Braz J Infect Dis.* 2017 JanFeb;21(1):19-26. doi: 10.1016/j.bjid.2016.11.004. Epub 2016 Dec 1. PMID: 27916603; PMCID: PMC9425491.

Ottobelli Chielle, E., & Verônica Selzler Bino, K. V. (2022). AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA DE PACIENTES INTERNADOS COM SARS-COV-2 NO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA: EVALUATION OF THE HEMOGRAM OF PATIENTS HOSPITALIZED WITH SARS-COV-2. *Anuário Pesquisa E Extensão Unoesc São Miguel Do Oeste*, 7, e30555. Recuperado de <https://periodicos.unoesc.edu.br/apeusmo/article/view/30555>

Quirch M, Lee J, Rehman S. Hazards of the Cytokine Storm and Cytokine-Targeted Therapy in Patients With COVID-19: Review. *J Med Internet Res.* 2020 Aug 13;22(8):e20193. doi: 10.2196/20193. PMID: 32707537; PMCID: PMC7428145.

R. Zhou , KK- W. Para , Y.-C. Wong , L. Liu , B. Zhou , X. Li , H. Huang , Y. Mo , T.-Y. Lucas , TT-K. Lau , *et al.* A infecção aguda por SARS-CoV-2 prejudica as respostas das células dendríticas e das células

Reuter, s.; grupta, s. C.; chaturvedi, m. M.; aggarwal, b. B. – Oxidative stress, inflammation and câncer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, v. 49, n. 11, p.1603-1616, 2010.

Reade MC, Weissfeld L, Angus DC, Kellum JA, Milbrandt EB. The prevalence of anemia and its association with 90-day mortality in hospitalized community-acquired pneumonia.

Ruiz-Argüelles GJ. Infusion of Convalescent Plasma is associated with Clinical Improvement in Critically Ill Patients With Covid-19: A Comment. *Rev Invest Clin.* 2020 May 7;72(5). doi: 10.24875/RIC.20000320. Epub ahead of print. PMID: 33120400. *BMC Pulm Med.* 2010 Mar 16;10:15. doi: 10.1186/1471-2466-10-15. PMID: 20233445; PMCID: PMC2848211.

Ren, H., Yang, Y., Wang, F. *et al.* Associação do índice TyG do marcador de resistência à insulina com a gravidade e mortalidade do COVID-19. *Cardiovasc Diabetol* **19**, 58 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12933-020-01035-2>

Silva TF, Tomiotto-Pellissier F, Sanfelice RA, Goncalves MD, da Silva Bortoleti BT, Detoni MB, Rodrigues ACJ, Carloto ACM, Concato VM, Siqueira ES, Costa IN, Pavanelli WR, Conchon-Costa I and Miranda-Sapla MM (2020) A 21st Century Evil: Immunopathology and New Therapies of COVID-19. *Front. Immunol.* 11:562264. doi: 10.3389/fimmu.2020.562264.

Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of 37 total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem.* 1969 Mar;27(3):502-22. doi: 10.1016/0003-2697(69)90064-5. PMID: 39 4388022.

Tan LY, Komarasamy TV e RMT Balasubramaniam V (2021) Imune Hiperinflamatório Resposta e COVID-19: Uma espada de dois gumes. *Frente. imunol.* 12:742941. doi: 10.3389/fimmu.2021.742941

Vasconcelos, s. M. L., et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para a sua determinação. *Química Nova.* v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

Victorino VJ, Panis C, Campos FC, Cayres RC, Colado-Simão AN, Oliveira SR, 23 Herrera AC, Cecchini AL, Cecchini R. Decreased oxidant profile and increased 24 antioxidant capacity in naturally postmenopausal women. *Age (Dordr).* 2013 25 Aug;35(4):1411-21. doi: 10.1007/s11357-012-9431-9. Epub 2012 May 28. PMID: 26 22645022; PMCID: PMC3705106.

Wang Z, Yang B, Li Q, Wen L, Zhang R. Características clínicas de 69 casos com doença de coronavírus 2019 em Wuhan, China. *Doenças infecciosas clínicas.* 16 de março de 2020 Ji D, Zhang D, Xu J, Chen Z, Yang T, Zhao P, Chen G, Cheng G, Wang Y, Bi J, Tan L. Previsão de

risco de progressão em pacientes com pneumonia por COVID-19: o CALL Pontuação. *Doenças Infecciosas Clínicas* 2020, 9 de abril

Weiner ID, Mitch WE, Sands JM. Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Aug 7;10(8):1444-58. doi: 10.2215/CJN.10311013. Epub 2014 Jul 30. PMID: 25078422; PMCID: PMC4527031.

Wu, Z. e McGoogan, JM (2020) Características e lições importantes do surto da doença de coronavírus 2019 (COVID-19) na China: resumo de um relatório de 72.314 casos do Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças. *JAMA*, 323, 1239-1242.

WU, J. H.; BATIST, G. Glutathione and glutathione analogues: therapeutic potentials. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)*, v. 1830, n. 5, p. 3350-3353, 2013.

Zhou Y, Frey TK, Yang JJ. Viral calciomics: interplays between Ca²⁺ and virus. *Cell Calcium*. 2009 Jul;46(1):1-17. doi: 10.1016/j.ceca.2009.05.005. Epub 2009 Jun 16. PMID: 19535138; PMCID: PMC3449087

Zhu, L et al. Association of Blood Glucose Control and Outcomes in Patients with COVID-19 and pré-existing Type 2 Diabetes. *Clinical and Translational Report*; 31(6):1068-1077e3, 2020.