UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE - UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Carla Lúcia Andretta Moreira Neves

AVALIAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE DANO ENDOTELIAL E CEREBRAL EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19

Porto Alegre
2023

Carla Lúcia Andretta Moreira Neves

Avaliação de Marcadores Inflamatórios e de Dano Endotelial e Cerebral em Pacientes Hospitalizados com COVID-19

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão
Coorientador: Dr. Gilson Pires Dorneles
Coorientadora: Dra. Claudia Elizabeth Thompson

Porto Alegre
2023

Catalogação na Publicação

Neves, Carla Lucia Andretta Moreira
Avaliação de Marcadores Inflamatórios de Dano Endotelial e Cerebral em Pacientes Hospitalizados com COVID-19 / Carla Lucia Andretta Moreira Neves. -- 2023.
47 f. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2023.

Orientador(a): Pedro Roosevelt Torres Romão ; coorientador(a): Gilson Pires Dorneles, Claudia Elizabeth Thompson.

1. COVID-19. 2. lesão cerebral. 3. lesão endotelial. 4. sinais e sintomas neurológicos. 5. mediadores da inflamação. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Carla Lúcia Andretta Moreira Neves

Avaliação de Marcadores Inflamatórios e de Dano Endotelial e Cerebral em Pacientes Hospitalizados com COVID-19

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Aprovado em: Porto Alegre, (data)

_____
Dra. Eliane Dallegrave

_____
Dra. Simone Gonçalves da Fonseca

_____
Dra. Carina Rodrigues Boeck

Porto Alegre
2023

Dedico esta dissertação ao meu filho Vitor, ao meu esposo Emerson e aos meus pais Adelci e Edelmar (*in memorian*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus professores, em especial ao orientador Professor Dr. Pedro Romão, por me acolher e me incentivar durante todo percurso dos estudos. Agradeço à Professora Dra. Claudia Bica pelos ensinamentos ao longo das disciplinas de Bioética, por me acolher na disciplina de Práticas Didáticas, pelos conselhos e por não permitir que eu desistisse. Aos meus coorientadores Professora Dra. Claudia Thompson e Professor Dr. Gilson Dornelles por todo auxílio durante o desenvolvimento do trabalho. À minha colega Paula Teixeira pelo exemplo de acadêmica e pela disponibilidade em ajudar. Agradeço também e aos demais colegas do Laboratório de Imunologia da UFCSPA.

Meus agradecimentos à Prefeitura de Esteio pelo apoio à pesquisa e à ciência. Agradeço também aos gestores do Hospital São Camilo de Esteio pela oportunidade de fazer pesquisa naquela instituição. Espero que a administração daquele município siga investindo e colaborando com a ciência, assim como fez durante toda a pandemia da COVID-19.

Aos meus familiares pela paciência, estímulo e companheirismo durante toda a trajetória no mestrado.

Aos amigos e colegas de trabalho em especial à equipe do Serviço de Controle de Infecção do Hospital São Camilo de Esteio por todo apoio, incentivo e coleguismo. Agradeço também a toda equipe assistencial, em especial aos colegas da Enfermagem, pelo auxílio na fase de coleta de materiais para minha pesquisa e pela grandeza no enfrentamento à COVID-19.

Ciência não é uma escolha. É uma necessidade. Quem não enxerga isso está fadado a um obscurantismo que condena o futuro do país.

Marcelo Gleiser

RESUMO

A COVID-19 embora seja mais conhecida por causar infecção respiratória, também pode resultar em várias manifestações extrapulmonares. Distúrbios neurológicos foram detectados em pacientes com COVID-19 e foram associados a maior risco de mortalidade intra-hospitalar e menor probabilidade de alta hospitalar. Este estudo tem como objetivo avaliar os níveis sistêmicos de mediadores inflamatórios, de dano endotelial e cerebral em pacientes hospitalizados com COVID-19 grave apresentando sintomas neurológicos (grupo Neuro COVID-19, n=15) e sem sintomas neurológicos (grupo COVID-19, n=15) em comparação com indivíduos apresentando sintomas de infecção respiratória e com RTq-PCR não detectável para SARS-CoV-2 (grupo Controle, n=5). O estudo incluiu 30 pacientes hospitalizados com COVID-19 grave, com ou sem sintomas neurológicos, e admissão hospitalar entre junho e dezembro de 2020. Além destes, foram incluídos 5 pacientes não hospitalizados sem diagnóstico para COVID-19. O projeto de realização do estudo foi aprovado no Comitê de Ética da UFCSPA (CAAE: 38886220.0.0000.0000.5345). Amostras de sangue periférico foram realizadas no momento de admissão hospitalar (T1) e 0 - 72 h antes do desfecho (alta e/ou óbito) do paciente com COVID-19 grave (T2). A média de idade dos pacientes do grupo Neuro COVID-19 foi significativamente maior em relação ao grupo controle. Os pacientes do grupo COVID-19 e Neuro COVID-19 apresentaram índices de massa corporal (IMC) superiores em comparação com o grupo controle. Em relação ao tempo de hospitalização, o grupo Neuro COVID-19 apresentou um tempo médio de internação (22,3 dias) bem superior ao grupo COVID-19 (9,3 dias). Com relação às doenças prévias, os pacientes com COVID-19 grave apresentaram hipertensão, doença cardiovascular e diabetes como as mais frequentes, contudo no grupo Neuro COVID-19 observou-se um aumento significativo da frequência de diabetes e doenças neurológicas. Com relação aos biomarcadores sistêmicos avaliados, níveis mais elevados de ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF foram encontrados em pacientes COVID-19 em comparação aos pacientes sem COVID-19. Os pacientes COVID-19 com sintomas neurológicos apresentaram níveis reduzidos de BDNF em comparação com o grupo controle, e elevados de SB100 em comparação com os grupos controle e COVID-19. O grupo Neuro COVID-19 também apresentou níveis aumentados de ICAM-1, CCL26 e VEGF em relação ao grupo de pacientes controle. Os níveis de ICAM-1 e CCL26 aumentaram no grupo COVID-19 entre os momentos T1 e T2. No tempo T2, os níveis de BDNF foram mais baixos nos pacientes com Neuro COVID-19 em comparação com T2 do grupo COVID-19. Além disso, em T2 os níveis de S100B, ICAM-1, CCL26 e VEGF aumentaram em relação a T1 em pacientes com Neuro COVID-19, com S100B e CCL26 significativamente maiores em relação ao grupo COVID-19. Este é o primeiro estudo a demonstrar que pacientes COVID-19 com sinais e sintomas neurológicos apresentaram, ao longo da internação, elevação de marcadores sistêmicos de inflamação, dano endotelial e cerebral evidenciando a participação da resposta inflamatória e lesão cerebral na fisiopatologia e gravidade da doença.

Palavras-chave: COVID-19; lesão endotelial; lesão cerebral; mediadores da inflamação; sinais e sintomas neurológicos; biomarcadores.

ABSTRACT

COVID-19, although best known for causing respiratory infection, can also result in various extrapulmonary manifestations. Neurological disorders have been detected in patients with COVID-19 and have been associated with a higher risk of in-hospital mortality and a lower likelihood of hospital discharge. This study aims to evaluate systemic levels of inflammatory mediators, endothelial and brain damage in hospitalized patients with severe COVID-19 with neurological symptoms (Neuro COVID-19 group, n=15) and without neurological symptoms (COVID-19 group, n=15) compared to individuals with symptoms of respiratory infection and with undetectable RTq-PCR for SARS-CoV-2 (Control group, n=5). The study included 30 hospitalized patients with severe COVID-19, with or without neurological symptoms, and hospital admission between June and December 2020. In addition, 5 non-hospitalized patients without a diagnosis for COVID-19 were included. The study project was approved by the UFCSPA Ethics Committee (CAAE: 38886220.0.0000.0000.5345). Peripheral blood samples were taken at the time of hospital admission (T1) and 0 - 72 h before the outcome (discharge and/or death) of the patient with severe COVID-19 (T2). The mean age of patients in the Neuro COVID-19 group was significantly higher compared to the control group. Patients in the COVID-19 and Neuro COVID-19 groups had higher body mass indexes (BMI) compared to the control group. Regarding the length of hospital stay, the Neuro COVID-19 group had an average length of stay (22.3 days) much longer than the COVID-19 group (9.3 days). Regarding previous diseases, patients with severe COVID-19 had hypertension, cardiovascular disease and diabetes as the most frequent ones, however, in the Neuro COVID-19 group, a significant increase in the frequency of diabetes and neurological diseases was observed. Regarding the systemic biomarkers evaluated, higher levels of ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) and VEGF were found in COVID-19 patients compared to patients without COVID-19. COVID-19 patients with neurological symptoms had reduced BDNF levels compared to the control group, and elevated SB100 levels compared to the control and COVID-19 groups. The Neuro COVID-19 group also showed increased levels of ICAM-1, CCL26 and VEGF compared to the control patient group. ICAM-1 and CCL26 levels increased in the COVID-19 group between T1 and T2. At time T2, BDNF levels were lower in patients with Neuro COVID-19 compared to T2 of the COVID-19 group. Furthermore, at T2 levels of S100B, ICAM-1, CCL26 and VEGF increased compared to T1 in patients with Neuro COVID-19, with S100B and CCL26 significantly higher compared to the COVID-19 group. This is the first study to demonstrate that COVID-19 patients with neurological signs and symptoms showed, during hospitalization, elevation of systemic markers of inflammation, endothelial and brain damage, evidencing the participation of the inflammatory response and brain injury in the pathophysiology and severity of the disease.

Keywords: COVID-19; endothelial injury; brain injury; inflammation mediators; neurological signs and symptoms; biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Níveis de BDNF, S100B, ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3), VEGF nos pacientes dos grupos controle, COVID-19 e Neuro COVID-19.....28

Figura 2 – Níveis de BDNF, S100B, ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF nos pacientes COVID-19 e Neuro COVID-19 nos tempos T1 e T2..... 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características Clínicas e Sociodemográficas 27

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE-2 – Enzima conversora da Angiotensina

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

BHE – Barreira Hematoencefálica

COVID-19 – Doença causada pelo vírus SARS-CoV-2

DM – Diabetes Mellitus

IMC – Índice de Massa Corporal

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

NICE – *National Institute For Health And Care Excellence*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PACS – Síndrome pós-aguda da COVID-19

RNA – Ácido Ribonucleico

SDRA – Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

SNC – Sistema Nervoso Central

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VSR – Vírus Sincicial Respiratório

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 JUSTIFICATIVA 19
3 OBJETIVOS 20
3.1 OBJETIVO GERAL 20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 20
4 MATERIAIS E MÉTODOS 21
4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO 21
4.2 COLETA DE SANGUE 21
4.3 ANÁLISES POR ELISA 22
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 22
5 REVISÃO DE LITERATURA – CONTEXTUALIZAÇÃO 23
5.1 ACESSO DO SARS-CoV-2 AO SNC 23
5.2 INVASÃO CELULAR E TEMPESTADE DE CITOCINAS 24
5.3 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO E SEU PAPEL NA NEURO COVID-19 24
5.4 A PROTEÍNA S100B E SEU PAPEL NA NEURO COVID-19 25
5.5 A INVASÃO DAS CÉLULAS ENDOTELIAIS VASCULARES PELO SARS-CoV-2 26
5.6 EOTAXINAS NA NEURO COVID-19 27
6 RESULTADOS 28
7 DISCUSSÃO 31
8 CONCLUSÕES 35
REFERÊNCIAS 36
ANEXOS 43

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS), em 31 de dezembro de 2019, foi alertada sobre vários casos de pneumonia na cidade de Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China. Em 7 de janeiro de 2020, as autoridades chinesas confirmaram que havia sido identificado um novo tipo de coronavírus, ainda não conhecido como SARS-COV-2. Os beta-coronavírus são a segunda principal causa de resfriado comum. Ao todo, sete coronavírus humanos (HCoVs) já foram identificados: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV (causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave), MERS-CoV (responsável pela Síndrome Respiratória do Oriente Médio) e o, mais recente, novo coronavírus que, em 11 de fevereiro de 2020, recebeu o nome de SARS-CoV-2. As linhagens HCoVs são endêmicas em todo o mundo e representam de 10% a 30% das infecções do trato respiratório superior em adultos (PAULES; MARSTON; FAUCI, 2020). O SARS-CoV-2, responsável pela COVID-19, causou um colapso dos sistemas de saúde em virtude de uma série de fatores incluindo a falta de leitos em Unidades de Tratamento Intensivo, testes de diagnóstico rápidos e eficazes, até falta de profissionais em número suficiente para atender a demanda.

O Ministério da Saúde recebeu a primeira notificação de um caso confirmado de COVID-19 no Brasil no dia 26 de fevereiro de 2020. A doença atingiu todos os continentes do mundo, sendo considerada uma pandemia pela OMS em 11 de março de 2020. Os primeiros meses de pandemia foram marcados por inúmeros casos e mortes, principalmente, na Europa (especialmente Espanha e Itália) e nos EUA (JOHNS HOPKINS UNIVERSITY, 2020). O SARS-CoV-2 já infectou mais de 700 milhões de pessoas e causou mais de 6,8 milhões de mortes em todo o mundo. No Brasil, o número de infectados já atinge mais de 36 milhões e 697 mil mortes pelo vírus (OUR, [2023?])

Os sintomas da infecção por SARS-CoV-2 aparecem após um período de incubação de aproximadamente 5,2 dias (LI et al., 2020a). Na maioria dos casos os pacientes se apresentavam assintomáticos (cerca de 80%) e cerca de 20% dos casos necessitavam de atendimento hospitalar por apresentarem dificuldade respiratória, com dispnéia, hiperpnéia, saturação de O_2 de em torno de 93% e/ou infiltrado pulmonar. Desses casos, aproximadamente 5% necessitam de suporte para o

tratamento de insuficiência respiratória (suporte ventilatório), evoluindo para um estado crítico, com falência respiratória, choque séptico e/ou disfunção de múltiplos órgãos.

As manifestações mais comuns da COVID-19 são: febre, tosse e cansaço e sintomas menos frequentes como dor de garganta, diarreia, conjuntivite, dor de cabeça, perda de palato ou olfato, erupção na pele ou descoloração dos dedos. Nos casos mais graves, os pacientes apresentam dificuldade de respirar, seguindo-se pneumonia viral nos casos mais severos. Em observações iniciais na China (CHEN et al., 2020; HUANG et al., 2020; LI et al., 2020a), os pacientes com COVID-19 apresentaram como manifestações clínicas mais frequentes febre (88,7%, IC95%: 84,5-92,9%), tosse (57,6%, IC95%: 40,8-74,4%) e dispneia (45,6%, IC95%: 10,9-80,4%). A frequência da febre foi significativamente maior em adultos em comparação com crianças (92,8%, IC 95%: 89,4-96,2%; *versus* 43,9%, IC 95%: 28,2-59,6%) (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020).

Além dos sintomas sistêmicos e respiratórios, um estudo realizado em três hospitais de Wuhan (China) apontou que 36,4% (78/214) dos pacientes com COVID-19 desenvolvem sintomas neurológicos, incluindo dor de cabeça, perturbações da consciência e parestesia. Também foi constatado que pacientes gravemente afetados têm maior probabilidade de desenvolver sintomas neurológicos do que pacientes com doença leve ou moderada (MAO et al., 2020). A mortalidade geral tem sido de 2,3%, crescendo com a idade e chegou a 14,8% em indivíduos acima de 80 anos (WU; MCGOOGAN, 2020).

Com a disponibilidade de vacinação e tratamentos com antivirais nas fases iniciais da doença essas manifestações podem se apresentar de formas diferentes. Um estudo recente, que buscou avaliar a eficácia e segurança das vacinas contra COVID-19, concluiu que, em comparação com o placebo, a maioria das vacinas reduz o número de casos com COVID-19 sintomático e doença grave ou crítica (GRAÑA et al., 2022).

Os achados clínicos, laboratoriais, de imagem, bem como os fatores associados à evolução da doença são fundamentais para compreender o curso da doença e auxiliar na escolha da conduta clínica mais adequada ao caso. As principais anormalidades laboratoriais encontradas são, predominantemente, hipoalbuminemia (75,8%, IC95%: 30,5-100,0%), marcadores inflamatórios elevados, como proteína C reativa (58,3%, IC95%: 21,8-94,7%), LDH (57,0%, IC95%: 38,0-76,0) e VHS (41,8%,

IC95%: 0,0-92,8), entre outros. Além disso, a linfopenia (43,1%, IC95%: 18,9-67,3) está presente de forma consistente em mais de 40% dos pacientes (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020). Dados do surto de 2002–2003 indicam que a SARS pode estar associada à linfopenia, leucopenia e trombocitopenia, níveis elevados de lactato desidrogenase (LDH), alanina transaminase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (ZHOU et al., 2020; ZHAO et al., 2020; XU et al.; 2020). A frequência de linfopenia encontrada sugere que SARS-CoV-2 pode atuar nos linfócitos, especialmente os linfócitos T, e, assim como o SARS-CoV, pode induzir a apoptose de células CD4 e CD8 (CHEN et al., 2020). As partículas virais se espalham pela mucosa respiratória, usando inicialmente o receptor ACE2 nas células epiteliais brônquicas ciliadas e, em seguida, infectam outras células induzindo uma tempestade de citocinas no corpo e gerando uma série de respostas imunes, que causam alterações nos glóbulos brancos periféricos e células imunes, como linfócitos (ZHOU et al., 2020; ZHAO et al., 2020; XU et al., 2020; HUANG et al., 2020; WANG et al., 2020).

A COVID-19 embora seja mais conhecida por causar doença respiratória, também pode resultar em várias manifestações extrapulmonares. Essas condições incluem complicações trombóticas, disfunção e arritmia do miocárdio, síndromes coronarianas agudas, lesão renal aguda, sintomas gastrointestinais, lesão hepatocelular, hiperglicemia e cetose, doenças neurológicas, sintomas oculares e complicações dermatológicas. Considerando que a enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2), receptor de entrada do vírus SARS-CoV-2, é expresso em vários tecidos extrapulmonares, o dano viral direto ao tecido é um mecanismo plausível de lesão. Além disso, o dano endotelial, trombose e inflamação, a desregulação das respostas imunes e má adaptação das vias relacionadas à ACE2 podem contribuir para as manifestações extrapulmonares da COVID-19 (GUPTA et al., 2020; VÁZQUEZ et al., 2022).

Diversos estudos têm demonstrado que um número grande de pacientes, recuperados da COVID-19, relatam sintomas duradouros com comprometimento das atividades cotidianas após a fase aguda da doença (ALKODAYMI et al., 2022; NALBANDIAN et al., 2021; SANDLER et al., 2021). Esses pacientes sofrem, do que os cientistas têm chamado, de COVID-19 longa ou crônica ou ainda sequelas pós-aguda da COVID-19 ou síndrome pós-aguda da COVID-19 (PACS). A National Institute for Health and Care Excellence (NICE) e a OMS trazem duas subdivisões:

uma fase subaguda pós-COVID-19 de sintomas contínuos que dura de 4 a 12 semanas após o início da doença e uma fase crônica ou longa COVID-19, definido como sintomas e anormalidades que duram mais de 12 semanas após o início da doença e não são explicados por um diagnóstico alternativo (SORIANO et.al., 2022)

Estudos anteriores sobre infecções com outros vírus já indicavam que o SARS-CoV-2 poderia afetar o sistema nervoso central. A resposta inflamatória desencadeada na infecção aguda ou crônica pode desencadear ou acelerar mecanismos precoces e subclínicos que estão subjacentes aos estágios iniciais das doenças neurodegenerativas. Além disso, como os achados em doenças neurodegenerativas e outras infecções virais sugerem que mediadores inflamatórios sistêmicos podem acessar o SNC e desencadear danos por meio da função barreira hematoencefálica (BHE) prejudicada, a inflamação sistêmica desencadeada pela infecção por SARS-CoV-2 pode contribuir ainda mais para processos neuro inflamatórios e aumentar a suscetibilidade a síndromes neurológicas. As infecções do SNC podem, assim, promover o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas em indivíduos já em risco (DE FELICE et al., 2020).

Em um estudo prospectivo de distúrbios neurológicos entre pacientes hospitalizados com COVID-19, distúrbios neurológicos foram detectados em 13,5% dos pacientes com COVID-19 e foram associados a maior risco de mortalidade intra-hospitalar e menor probabilidade de alta hospitalar. Dentre os diagnósticos mais encontrados no estudo foram: encefalopatia tóxica/metabólica, convulsão, acidente vascular cerebral e lesão hipóxica/isquêmica. Os distúrbios neurológicos observados neste estudo podem ser sequelas de doenças sistêmicas graves (FRONTERA et al., 2021).

A COVID-19 grave pode causar numerosos mecanismos que afetam o sistema nervoso e a COVID-19 leve também pode resultar em uma resposta neuro inflamatória prejudicial, incluindo a reatividade das micróglias de substância branca extremamente sensíveis. Neste contexto existe a hipótese de que a resposta inflamatória mesmo na COVID leve pode induzir elevação de citocinas/quimiocinas neurotóxicas, um padrão de reatividade microglial da substância branca e consequente desregulação de oligodendrócitos formadores de mielina e células precursoras neurais do hipocampo (FERNÁNDEZ-CASTAÑEDA et al., 2022).

Um recente estudo concluiu que os principais determinantes de Neuro-COVID grave são: distúrbios de citocinas induzidos perifericamente, seguidos pela BHE

prejudicada por entrada de autoanticorpos poli reativos, reatividade da micróglia e dano neuronal resultando em potencial perda de volume de massa cinzenta, possivelmente explicando comprometimento neurológico relacionado à COVID-19 longa (ETTER et al., 2022).

A patobiologia da infecção do SNC pelo vírus causador da COVID-19 e as sequelas neurológicas associadas à doença permanecem pouco compreendidas. Um questionamento importante leva em conta se o dano cerebral em pacientes resulta ou não de um efeito primário direto do vírus no cérebro ou resulta indiretamente de danos sistêmicos secundários, incluindo hipoxemia, trombose ou respostas autoimunes (DEKOSKY et al., 2021).

Um estudo de coorte com 3.744, demonstrou manifestações neurológicas em aproximadamente 80% dos pacientes hospitalizados com COVID-19. Os sintomas auto-relatados mais comuns incluíram cefaléia (37%) e anosmia ou ageusia (26%), enquanto os sinais e/ou síndromes neurológicos mais comuns foram encefalopatia aguda (49%), coma (17%) e acidente vascular cerebral (6%). A presença de sinais e/ou síndromes neurológicos capturados clinicamente foi associada ao aumento do risco de morte intra-hospitalar. Os achados deste estudo sugerem que as manifestações neurológicas são prevalentes entre os pacientes hospitalizados com COVID-19 e estão associadas a maior mortalidade intra-hospitalar (CHOU et al., 2021).

Em um estudo baseado na comunidade de adultos de 18 a 69 anos infectados com SARS-CoV-2 antes da vacinação contra COVID-19, descobriu que as chances de apresentar sintomas prolongados de COVID-19 que persistiram por pelo menos 12 semanas diminuíram em média 13% após uma primeira dose da vacina contra COVID-19. Ainda, concluiu-se que o recebimento de uma segunda dose da vacina foi associado a uma redução adicional de 9% nas chances de COVID-19 longo, e as evidências estatísticas sugeriram uma melhora sustentada depois disso, pelo menos durante o acompanhamento médio de 67 dias (AYOUBKHANI et al., 2022).

Manifestações neurológicas, após infecção pela COVID-19, como o prolongamento dos distúrbios do olfato e paladar, dores de cabeça persistentes e sintomatologia mais complexa relacionada à disfunção autonômica e comprometimento neurocognitivo são desafiadoras e podem ter maior impacto na qualidade de vida dos pacientes. Estes pacientes experimentam dificuldades em realizar tarefas rotineiras, realizar tarefas relacionadas ao trabalho ou memorizar

informações (LLEDÓ et al., 2022).

Para Premraj et al. (2022) os sintomas neurológicos e neuropsiquiátricos são componentes comuns da síndrome pós-COVID-19, com alguns sintomas presentes em aproximadamente um terço dos pacientes do seu estudo avaliados três meses após o início da doença aguda de COVID-19. Fadiga e disfunção cognitiva (nevoeiro cerebral, problemas de memória, distúrbio de atenção) foram as principais características neurológicas. Os sintomas neuropsiquiátricos parecem aumentar em prevalência ao longo do tempo, em vez de desaparecer.

Uma revisão sistemática que buscou medir a frequência de manifestações neurológicas na COVID-19, no primeiro ano da pandemia, demonstrou que um terço dos pacientes com COVID-19 analisados experimentaram pelo menos 1 manifestação neurológica e que 1 em cada 50 pessoas desenvolveu um acidente vascular cerebral. O estudo ainda concluiu que, para adultos com COVID-19 com mais de 60 anos de idade, a presença de qualquer manifestação neurológica foi associada ao aumento da mortalidade e relação entre a gravidade da COVID-19. Pacientes criticamente enfermos são mais propensos a apresentar disfunção do sistema de múltiplos órgãos (MISRA et al., 2021).

Os pacientes críticos normalmente apresentam sinais de encefalopatia e delirium e a COVID-19 compartilha muitas destas características clínicas de outras condições respiratórias e virais agudas, como pneumonia H1N1 e síndrome do desconforto respiratório agudo (DAMIANO et al., 2022; GUEDES, 2022). Apesar disso, a encefalopatia associada ao COVID-19 é nova, bastante grave e também somada a anormalidades conscientes prolongadas após a retirada da sedação, o que nos leva a esforços para identificar melhor os possíveis mecanismos específicos da doença.

Os estudos sobre marcadores laboratoriais de encefalopatia por COVID-19 raramente mostram alterações significantes no líquido cefalorraquidiano (LCR) (plecitose) e tampouco o RNA do SARS-CoV-2 é detectado. As imagens de ressonância magnética geralmente mostram alterações inespecíficas na substância branca cerebral. (GUEDES, 2022; JARIUS et al., 2022; KREMER et al., 2020; TUMA et al., 2021).

2 JUSTIFICATIVA

As manifestações neurológicas são prevalentes em aproximadamente 80% dos pacientes hospitalizados com COVID-19 a presença de sinais e/ou síndromes neurológicos como encefalopatia tóxica/metabólica, convulsão, acidente vascular cerebral e lesão hipóxica/isquêmica estão associados ao aumento do risco de morte intra-hospitalar. Além disso, as manifestações neurológicas, após infecção pela COVID-19, como o prolongamento dos distúrbios do olfato e paladar, dores de cabeça persistentes e comprometimento neurocognitivo (nevoeiro cerebral, problemas de memória, distúrbio de atenção) e fadiga são desafiadoras e podem ter maior impacto na qualidade de vida dos pacientes. Estes pacientes experimentam dificuldades em realizar tarefas rotineiras, realizar tarefas relacionadas ao trabalho ou memorizar informações. Sintomas neuropsiquiátricos são componentes comuns da síndrome pós-COVID-19, com alguns sintomas presentes em aproximadamente um terço dos pacientes. Os sintomas neuropsiquiátricos parecem aumentar em prevalência ao longo do tempo, em vez de desaparecer.

Os estudos sobre marcadores laboratoriais de encefalopatia por COVID-19 raramente mostram alterações significantes no LCR e tampouco o RNA do SARS-CoV-2 é detectado, as imagens de ressonância magnética geralmente mostram alterações inespecíficas na substância branca cerebral. Ainda são escassos os estudos que avaliam, de forma seriada ao longo do curso da doença grave, os níveis sistêmicos de mediadores inflamatórios, de dano endotelial e cerebral em pacientes hospitalizados com COVID-19 grave.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os níveis sistêmicos de mediadores inflamatórios, de dano endotelial e cerebral em pacientes hospitalizados com COVID-19 grave.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os níveis plasmáticos de BDNF, S100B, sICAM-1, CCL26 e VEGF em pacientes com COVID-19 grave apresentando ou não sintomas neurológicos em comparação com indivíduos apresentando sintomas de infecção respiratória mas negativos para COVID-19;
- Avaliar nos pacientes internados com COVID-19 grave a produção dos marcadores acima em dois diferentes tempos após hospitalização.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Este é um estudo clínico de coorte que incluiu 30 pacientes hospitalizados com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 através de RT-PCR. Os pacientes internados foram recrutados após admissão na Unidade COVID-19 do Hospital São Camilo (Esteio/RS, Brasil) entre junho e dezembro de 2020. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFCSPA (CAAE: 38886220.0.0000.0000.5345). Utilizamos os critérios de diagnóstico para COVID-19 da Organização Mundial da Saúde e a Diretriz de Diagnóstico e Tratamento para Pneumonia do Novo Coronavírus, sendo considerados positivos para infecção por SARS-CoV-2 pacientes com um resultado positivo em pelo menos dois testes de ácido nucleico para SARS-CoV-2 (WHO, 2020). O prontuário eletrônico do paciente foi utilizado para coletar dados clínicos e sociodemográficos no momento da admissão na unidade. Além disso, incluímos como controle um grupo de 5 indivíduos com idade e sexo pareados que procuraram atendimento no hospital com sintomas respiratórios mas que testaram negativo para SARS-CoV-2 por RT-PCR. Todos os pacientes ou seus responsáveis legais receberam a explicação dos objetivos e procedimentos da pesquisa e consentimento informado para participar do estudo. Todos os autores assinaram um acordo para preservar o anonimato dos pacientes e da equipe em relação ao uso dos dados presentes. Os pacientes que relataram os seguintes sintomas neurológicos foram classificados no grupo Neuro COVID-19: cefaléia, tontura, anosmia, ageusia, fadiga, mono/para/quadriparesia, convulsões, acidente vascular cerebral, comprometimento cognitivo ou fraqueza muscular (HEMING et al., 2021).

4.2 COLETA DE SANGUE

Amostras de sangue de pacientes com sintomas de doença respiratória mas negativos para COVID-19 (n = 5) e pacientes com COVID-19 (n = 30; 15 UTI COVID-19 e 15 UTI Neuro COVID-19) foram coletadas, logo após a admissão hospitalar (T1), material da veia antecubital em tubos de 4 mL com EDTA como anticoagulante. Outras amostras de sangue foram coletadas de pacientes com COVID-19 e Neuro COVID-19 durante a internação e no momento da alta do hospital (T2: 0 a 72h antes

da alta hospitalar ou óbito). O sangue foi centrifugado (2.000*g*, 10 min) para obter amostras de plasma, que foram aliquotadas e imediatamente mantidas a -80 °C até a análise.

4.3 ANÁLISES POR ELISA

Os níveis plasmáticos de BDNF, S100B, ICAM-1, Eoxatina-3 e VEGF foram analisados por *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) de acordo com as instruções do fabricante para o procedimento usando um leitor de microplacas (EzBiochrom, EUA). O coeficiente de variabilidade foi <7,5%. O limite de detecção foi: BDNF (Invitrogen, EUA) 100 – 100.000 pg/mL; S100B (Invitrogen, EUA, 2 – 200 pg/mL); ICAM-1 (Peprotech, EUA, 15 – 1000 pg/mL); Eoxatin-3 (Peprotech, EUA, 10 – 1000 pg/mL) e VEGF (BosterBio, EUA, 2 – 200 pg/mL).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi testada por meio do teste de Kolgomorov-Smirnov. Os dados paramétricos foram apresentados como média ± desvio padrão (DP). As características dos participantes e as variáveis bioquímicas foram comparadas entre os grupos por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste post hoc de Bonferroni para comparações múltiplas. A comparação entre as variáveis sociodemográficas foi realizada por meio do teste qui-quadrado. A evolução dos biomarcadores foi analisada por um modelo linear generalizado misto seguido de correção do teste post hoc de Bonferroni para comparações múltiplas. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. O software SPSS 22.0 (IBM Inc, EUA) foi utilizado para análise estatística.

5 REVISÃO DE LITERATURA – CONTEXTUALIZAÇÃO

5.1 ACESSO DO SARS-CoV-2 AO SNC

Algumas hipóteses demonstram possíveis mecanismos de entrada que podem estar associadas com o acesso do SARs-CoV-2 ao sistema nervoso central (SNC) (ACHAR; GHOSH, 2020). Uma possibilidade é através do endotélio nasal onde o SARS-CoV-2 pode aderir a proteínas motoras ao longo dos nervos sensoriais e olfativos até o cérebro (BRIGUGLIO et al., 2020). A perda olfativa é relatada como um dos principais sintomas que acometem as vias aéreas superiores. Uma outra rota, como segundo caminho para o SNC, é através da disseminação do SARS-CoV-2 no sistema circulatório sistêmico após infecção do trato respiratório (BAIG, 2020). Nessa via, o SARS-CoV-2 pode se espalhar para outros tecidos e órgãos-alvo com o fluxo sanguíneo cerebral, ainda que a BHE tenha mecanismos importantes para impedir o vírus de ultrapassá-la. O vírus pode se valer de um mecanismo ou de uma combinação de mecanismos para vencer a BHE. Ambos os mecanismos acabam por resultar na ativação do sistema imunológico. O receptor ACE2 e o processo de regulação são, portanto, uma rota de entrada crítica que pode estar associada à propagação da infecção e à patogênese da doença (ACHAR; GHOSH, 2020; GUADARRAMA-ORTIZ et al., 2020).

Estudos anteriores à pandemia da COVID-19 sobre infecções virais contribuem para o pensamento de que exista a possibilidade do SARS-CoV-2 afetar o SNC. A resposta inflamatória na infecção aguda ou crônica pode desencadear ou acelerar mecanismos precoces e subclínicos que estão subjacentes aos estágios iniciais das doenças neurodegenerativas. Além disso, como os achados em doenças neurodegenerativas e outras infecções virais sugerem que mediadores inflamatórios sistêmicos podem acessar o SNC e desencadear danos por meio da função BHE prejudicada, a inflamação sistêmica desencadeada pela infecção por SARS-CoV-2 pode contribuir ainda mais para processos neuro inflamatórios e aumentar a suscetibilidade às síndromes neurológicas. As infecções do SNC podem, assim, promover o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas em indivíduos já em risco (DE FELICE et al., 2020).

5.2 INVASÃO CELULAR E TEMPESTADE DE CITOCINAS

A COVID grave pode causar numerosos mecanismos que afetam o sistema nervoso e a COVID leve também pode resultar em uma resposta neuro inflamatória prejudicial, incluindo a reatividade das micróglias de substância branca extremamente sensíveis. Neste contexto existe a hipótese de que a resposta inflamatória mesmo ao COVID leve pode induzir elevação de citocinas/quimiocinas neurotóxicas, um padrão de reatividade microglial da substância branca e consequente desregulação de oligodendrócitos formadores de mielina e células precursoras neurais do hipocampo (FERNÁNDEZ-CASTAÑEDA et al., 2022).

A patobiologia da infecção do SNC pelo vírus causador da COVID-19 e as sequelas neurológicas associadas à doença permanecem pouco compreendidas. Um questionamento importante leva em conta se o dano cerebral em pacientes resulta ou não de um efeito primário direto do vírus no cérebro ou resulta indiretamente de insultos sistêmicos secundários, incluindo hipoxemia, trombose ou respostas autoimunes (DEKOSKY et al., 2021).

5.3 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO E SEU PAPEL NA NEURO COVID-19

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é um membro da família das neurotrofinas, que também inclui o fator de crescimento neural e as neurotrofinas 3 e 4. Alguns achados clínicos e pré-clínicos mostram que a exposição a longo prazo ao estresse ou inflamação leva a uma diminuição nos níveis de BDNF, reduzindo a capacidade dos neurônios de lidar com outros desafios (ou seja, plasticidade neuronal) e, finalmente, levando a uma diminuição da função e morte neuronal. Pacientes com distúrbios psiquiátricos e neurodegenerativos geralmente têm concentrações reduzidas de BDNF na circulação e cérebro que podem ser secundárias ao estado inflamatório crônico do cérebro em certos distúrbios (LIMA GIACOBBO et al., 2019). Há hipóteses de que o BDNF tenha um papel relevante na fisiopatologia da Neuro COVID-19 (TANCHEVA et al., 2020).

É considerável que a infecção por COVID-19 pode reduzir a atividade e/ou expressão da ACE-2, e provavelmente seu eixo Mas/BDNF a jusante, nas células cerebrais, e pode-se esperar que a infecção por COVID-19 possa causar distúrbios

cognitivos e também aumentar o comprometimento cognitivo em pessoa infectada com doença de Alzheimer (KERMANSHAHI; GHOLAMI; MOTAGHINEJAD, 2020).

Calabrese et al. (2014) sugere em seu estudo a possibilidade de que um dos mecanismos subjacentes ao impacto negativo das citocinas pró-inflamatórias na neuroplasticidade seja a redução da expressão e função do BDNF. Outros estudos encontraram níveis séricos significativamente mais baixos de BDNF em pacientes hospitalizados com COVID-19 do que em indivíduos saudáveis (ASGARZADEH et al., 2022; AZOULAY et al., 2020).

O exercício aumenta a expressão de BDNF e melhora o funcionamento cognitivo ao longo da vida e em várias populações clínicas, como distúrbios neurodegenerativos, distúrbios mentais e acidente vascular cerebral. Sendo assim, exercícios aeróbicos ou de resistência após a recuperação do COVID-19 podem ajudar a estimular a expressão do BDNF, o que pode atenuar os sintomas cognitivos associados à COVID-19 longa (TEO; GOODWILL, 2022).

5.4 A PROTEÍNA S100B E SEU PAPEL NA NEURO COVID-19

Em meados de 1960 a proteína S100B foi identificada e caracterizada por sua solubilidade em solução 100% saturada com sulfato de amônio (MOORE, 1965). Inicialmente, por estar presente em extratos cerebrais e não em tecidos não neurais, se pensava que ela era exclusiva do sistema nervoso. Atualmente, a família de proteínas S100 compreende mais de 20 proteínas de ligação ao cálcio exibindo semelhanças estruturais que operam como interruptores ativados por cálcio em diferentes tecidos e modulam a atividade de um grande número de alvos. No sistema nervoso, o S100B mostrou estar concentrado em astrócitos e outros tipos de células gliais. Esta proteína surge atualmente como um biomarcador estabelecido de sofrimento neural ativo, embora o amplo espectro de condições patológicas nas quais está envolvida reduza significativamente sua especificidade. Em certas condições, o S100B pode ser detectado em fluidos biológicos, como LCR, sangue, urina, etc. (MICHETTI et al., 2019). Ensaios *in vitro* forneceram evidências clínicas de que S100B, semelhante a outras proteínas da família S100, estimula respostas inflamatórias em linfócitos, células do músculo liso vascular, células endoteliais, macrófagos e cardiomiócitos (SORCI et al., 2010).

O estudo de Mete et.al (2021) demonstrou achados de concentração sérica de

S100B mais elevada nas coortes (doença grave e leve de pneumonia pela COVID-19) do que nos controles saudáveis. Além disso, foi observado uma correlação negativa significativa entre os níveis de S100B e a contagem e porcentagem de linfócitos. Também revelaram que a quantidade de concentração sérica de S100B foi negativamente correlacionada com o escore CURB-65, um indicador de gravidade clínica.

Sahin et al (2022) encontraram níveis séricos de S100B ligeiramente mais altos em pacientes com COVID-19 e sintomas neurológicos múltiplos, talvez indicando mais lesão, do que naqueles com um único sintoma, podendo sugerir um papel para S100B atuar em conjunto com lesão neuronal grave, em vez de formas mais leves.

Um estudo realizado com uma população do nordeste brasileiro, confirmou que pacientes com sintomas graves de COVID-19 apresentaram expressão sérica elevada dos biomarcadores de dano cerebral NSE e S100B. Os pacientes com sintomas leves de COVID-19 também apresentaram elevação nos níveis séricos de NSE em comparação com voluntários saudáveis. No entanto, os resultados não demonstraram uma associação positiva entre sintomas neurológicos específicos de COVID-19 e NSE (SILVA et al., 2023).

5.5 A INVASÃO DAS CÉLULAS ENDOTELIAIS VASCULARES PELO SARS-CoV-2

Experimentos in vitro e estudos de autópsia revelaram que o SARS-CoV-2 se liga ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) amplamente expresso e infesta diretamente as células endoteliais (VARGA et al., 2020). Diante disso levantou-se a hipótese de que o COVID-19 é uma doença vascular e que o vazamento sistêmico e o endotélio vascular desregulado podem desempenhar um papel central na patogênese da SDRA e falência de múltiplos órgãos (ROVAS et al., 2021). A endoteliopatia está presente no COVID-19 e provavelmente está associada a doença crítica e morte (GOSHUA et al., 2020; PINE et al., 2020).

A família do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e seus receptores são reguladores essenciais da angiogênese e da função de barreira. A família VEGF consiste em VEGF-A, PlGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E. Diversos estudos demonstraram níveis plasmáticos elevados de VEGF-A em soros de pacientes com COVID-19 e estavam relacionados com a gravidade da doença (PINE et al., 2020;

ROVAS et al., 2021; SMADJA et al., 2021).

Moléculas de adesão endotelial, como ICAM-1, com o desencadear do processo inflamatório, são produzidas em quantidades excessivas como um componente da resposta imune. Foram encontrados níveis séricos elevados de ICAM-1 em pacientes com COVID-19 em comparação com pacientes sem a doença (OLEY et al., 2021).

5.6 EOTAXINAS NA NEURO COVID-19

A família das eotaxinas compreende as quimiocinas CCL11 (eotaxin-1), CCL24 (eotaxin-2) e CCL26 (eotaxin-3). A CCL11 é sintetizada pela microglia e, em condições inflamatórias e de tempestade de citocinas, sua fonte originada no sangue pode ser transportada através da BHE e entrar no cérebro. Os níveis de eotaxina-11 podem ser monitorados como um preditor da síndrome neurológica de COVID-19 (NAZARINIA et al., 2022).

A desregulação do sistema imunológico inato pode induzir danos agudos no SNC. Também está claro que as células mielóides hematopoiéticas e os fatores que as regulam contribuem para a progressão de distúrbios neurodegenerativos crônicos. Além de seus efeitos sobre granulócitos e monócitos/macrófagos, vários estudos indicam que as quimiocinas sinalizam diretamente para as células residentes do SNC, células precursoras neurais primárias, inviabilizando assim o caminho de reparo endógena. As eotaxinas são desreguladas em uma série de doenças e transtornos neurodegenerativos. Estudos *in vitro* com células isoladas do SNC, demonstram que o CCR3, o receptor para eotaxinas, está presente em sua superfície, e o tratamento com CCL11 pode modular sua função. A expressão de CCL11 no sangue e/ou LCR correlacionou-se com doença avançada. As eotaxinas devem ser consideradas como candidatas a biomarcadores em doenças neurológicas progressivas, e talvez como terapia alvos terapêuticos em coortes de pacientes selecionados (HUBER et al., 2018).

6 RESULTADOS

Características demográficas e clínicas dos participantes do estudo estão apresentadas na Tabela 1. Não houve diferença significativa em relação a distribuição por sexo entre os grupos do estudo. A idade média dos pacientes do grupo COVID-19 com sintomas neurológicos foi significativamente maior em relação ao grupo com infecção respiratória (SARS-CoV-2 negativo). Os pacientes com COVID-19 grave apresentando ou não sintomas neurológicos apresentaram IMC, tempo de internação e mortalidade significativamente superior em relação ao grupo controle. Em relação ao tempo de hospitalização, o grupo Neuro COVID-19 apresentou um tempo médio de internação de 22,3 dias, bem superior ao do grupo COVID-19 sem sintomas neurológicos.

Com relação às doenças previamente diagnosticadas, os pacientes com COVID-19 grave apresentaram hipertensão, doença cardiovascular e diabetes como as mais frequentes, sendo que a ocorrência de diabetes e doença neurológica (AVC isquêmico, Alzheimer, Parkinson, demência senil) foram mais frequentes no grupo Neuro COVID-19, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1- Características Clínicas e Sociodemográficas

		COVID-19	
	Infecção Respiratória (SARS-CoV-2 negativo) (n=5)	COVID-19 (n=15)	Neuro COVID-19 (n=15)
Idade (anos)	57.55 (38.7 – 76.2)	63.4 (49.4 – 74.7)	66.50 (51.6 – 77.3)*
Sexo (feminino, %)	45	48	47
IMC (kg/m²)	23.4 (21.4 – 26.8)	31.5 (28.7 – 34.5)*	32.9 (29.8 – 35.5)*
Hospitalização (dias)		9.3 (4 – 17.2)	22.3 (11.1 – 29.5)†
Óbitos/Mortalidade (%)		55	60
Condições de Saúde Pré-Existentes (%)			
Hipertensão		27	30
Diabetes Mellitus		15	33†
Doenças Neurológicas		15	25†
Doenças Cardiovasculares		8	13
Doenças Reumáticas		2	2
Cancer		3	-
Doença Renal Crônica		-	3

Dados apresentados em média ± interval de confiança 95%.
*Apresenta diferença estatística ($p<0.05$) comparada com grupo de pacientes com infecção respiratória (SARS-CoV-2 negativo).
†Apresenta diferença estatística ($p< 0.05$) comparado com o grupo COVID-19.

Pacientes com COVID-19 grave apresentaram níveis mais elevados de ICAM-1, CCL26 (eutaxin-3) e VEGF em comparação com os pacientes sem COVID-19 (Figura 1). Já os pacientes com Neuro COVID-19 apresentaram níveis sistêmicos mais baixos de BDNF em comparação com o grupo controle, e elevados de S100B em comparação com os grupos controle e COVID-19. O grupo Neuro COVID-19 também apresentou níveis aumentados de ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF em relação ao grupo de pacientes controle.

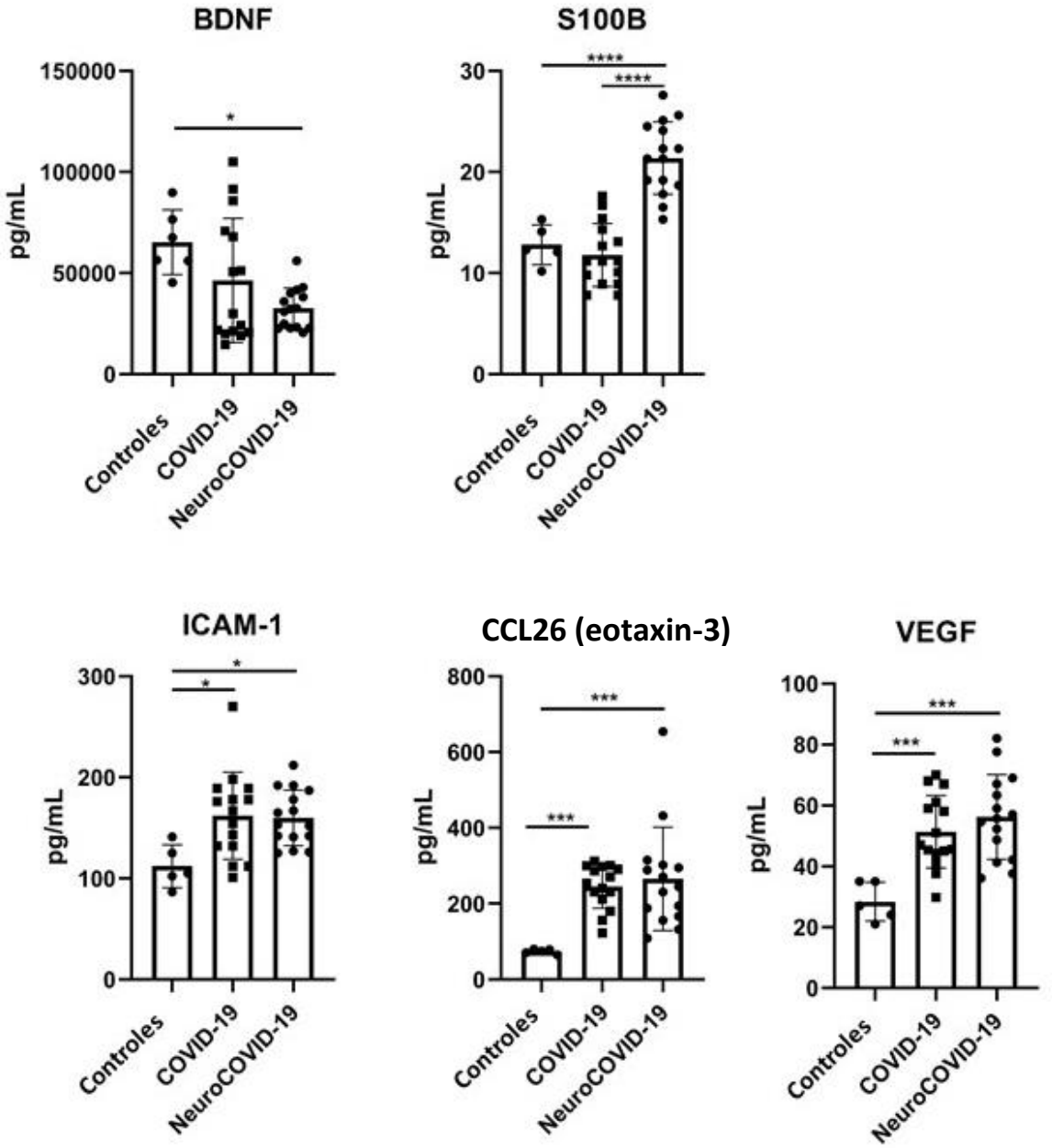

Figura 1 – Níveis de BDNF, S100B, ICAM-1, CCL26 (eoxatin-3), VEGF nos pacientes dos grupos controle (infecção respiratória – SARS-CoV-2 negativo), COVID-19 e Neuro COVID-19.
Dados apresentados em média (desvio padrão).
*, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<;0,001; ****, p<0,0001.

Os níveis de ICAM-1 e CCL26 aumentaram no grupo COVID-19 entre os momentos T1 e T2 (Figura 2C e Figura 2D). No tempo T2, os níveis de BDNF foram mais baixos nos pacientes com Neuro COVID-19 em comparação com T2 do grupo COVID-19 (Figura 2A). Além disso, em T2 os níveis de S100B, ICAM-1, CCL26 e VEGF aumentaram em relação a T1 em pacientes com Neuro COVID-19, com S100B e CCL26 significativamente maiores em relação ao grupo COVID-19, diferença não evidenciada na análise anterior considerando apenas os dados de admissão (T1, Figura 1).

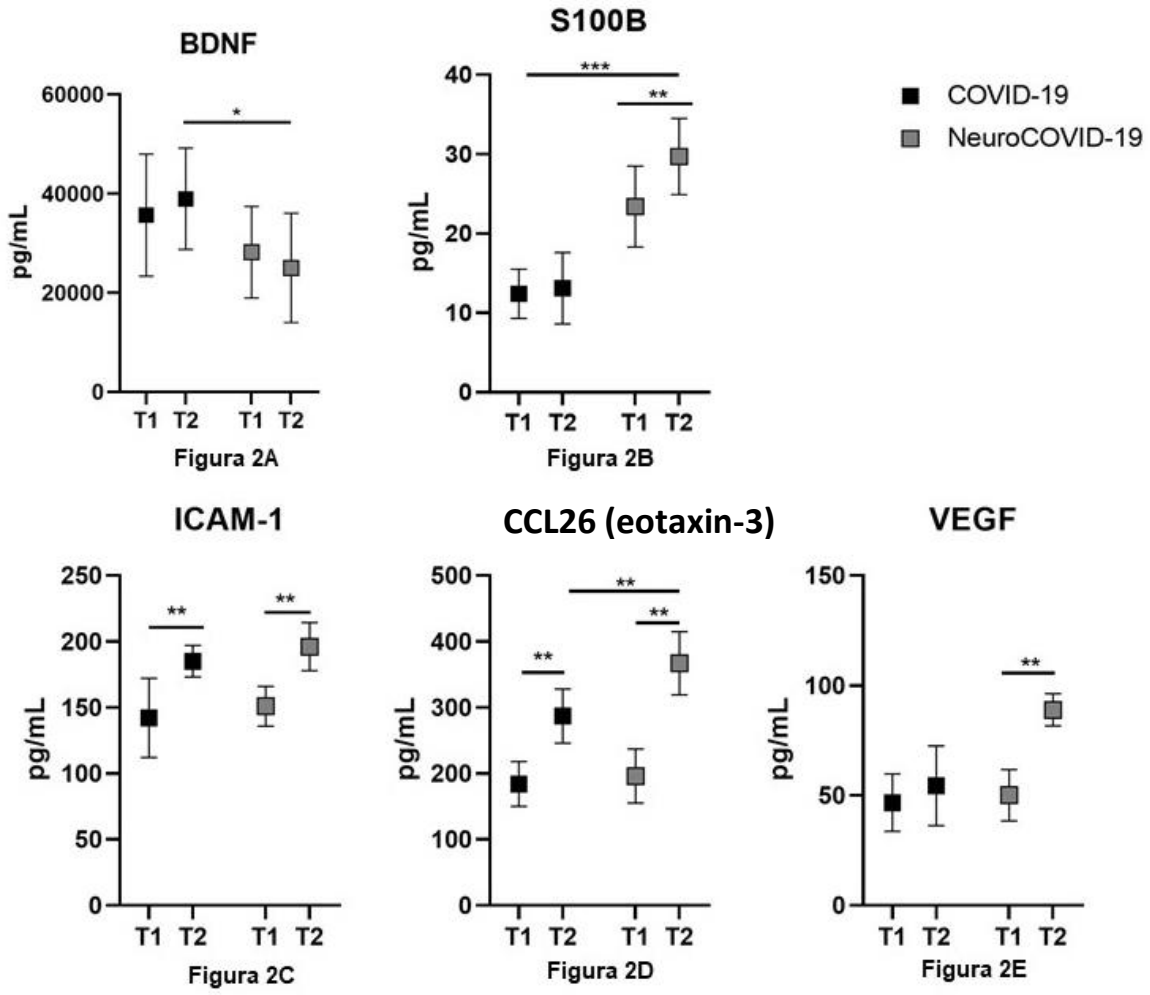

Figura 2 – Níveis de BDNF, S100B, ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF nos pacientes COVID-19 e Neuro COVID-19 nos tempos T1 e T2.
Dados apresentados em média (desvio padrão).
*, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001.

7 DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou o impacto da infecção aguda do SARS-CoV-2 sobre biomarcadores de injúria endotelial e do sistema nervoso em pacientes hospitalizados. Como principais resultados, identificamos níveis reduzidos de BDNF em conjunto a elevação de níveis da proteína S100B e de marcadores endoteliais em pacientes com COVID-19 com sintomas neurológicos (grupo Neuro COVID-19). Além disso, pacientes Neuro COVID-19 apresentaram aumento de S100B, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF ao longo da hospitalização em comparação aos pacientes COVID-19 sem sintomas neurológicos. Em conjunto, estes achados indicam um potencial maior de disfunções sistêmicas e teciduais em pacientes com COVID-19 de quadro grave que reportam sintomas neurológicos.

A idade avançada, como demonstram os estudos sobre a demografia da COVID-19, é importante fator relacionado a gravidade da doença e pode ser importante preditor de mortalidade sendo um fator chave nos escores de risco de gravidade clínica propostos na literatura (CECCONI et al., 2020; GALLO MARIN et al., 2021; GRASSELLI et al., 2020; IMAM et al., 2020; LI et al., 2020b). Nossos resultados são semelhantes quando observado a média de idade dos pacientes com COVID-19 grave.

Dentre as doenças previamente diagnosticadas, os pacientes com COVID-19 grave no nosso estudo apresentavam principalmente hipertensão arterial sistêmica (HAS) e Diabetes Mellitus (DM). Nossos achados corroboram com estudos anteriores, que encontraram uma maior frequência de pacientes hospitalizados de idade avançada com condições preexistentes, sendo a HAS a mais comum (GARG et al., 2020; LI et al., 2020b; RICHARDSON et al., 2020; SULEYMAN et al., 2020). Um estudo de coorte, realizado na França, descreveu os principais fatores de risco para internação em UTI e morte e complicações extrapulmonares causadas por COVID-19 dentre eles idade avançada, doença neurológica crônica e diabetes (MARTINOT et al., 2021).

Nosso estudo traz resultados semelhantes ao estudo de Mao et al. (2020) que ao comparar pacientes com infecção não grave com pacientes com infecção grave, estes últimos eram mais velhos e tinham mais hipertensão (HAS) além disso, estes pacientes com infecção grave eram mais propensos a desenvolver manifestações neurológicas.

Uma revisão de literatura recente sobre manifestações neurológicas na COVID-19 tanto na fase aguda da doença quanto na fase tardia demonstrou que a presença de manifestações neurológicas durante ou após a fase aguda da COVID-19 foi associada a uma doença mais grave e pior desfecho, com maiores proporções de óbitos intra-hospitalares e maior tempo de internação, assim como identificamos no nosso estudo (BEGHI et al., 2022). Outros estudos também demonstram que as manifestações neurológicas ocorrem na maioria dos pacientes hospitalizados com COVID-19. A encefalopatia, por exemplo, foi associada ao aumento da morbidade e mortalidade, independentemente da gravidade da doença respiratória (BENUSSI et al., 2020; LIOTTA et al., 2020). No entanto, devido ao limitado tamanho amostral em nosso estudo, não foi possível verificar uma possível associação entre Neuro COVID-19, biomarcadores e mortalidade.

Ainda no nosso estudo, os pacientes com COVID-19 grave apresentaram níveis mais elevados de ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF em comparação com os pacientes sem COVID-19. Já os pacientes com Neuro COVID-19 apresentaram níveis sistêmicos mais baixos de BDNF em comparação com o grupo controle, e elevados de S100B em comparação com os grupos controle e COVID-19. O grupo Neuro COVID-19 também apresentou níveis aumentados de ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF em relação ao grupo de pacientes do grupo controle.

Quanto aos índices elevados de ICAM-1 outros estudos também demonstraram que o aumento da expressão de moléculas de adesão de células endoteliais está relacionado a gravidade da COVID-19 e que pode ainda contribuir para a disfunção da coagulação (TONG et al., 2020). Estudos comparando indivíduos com e sem diagnóstico da COVID-19 demonstrou níveis mais elevados, nos pacientes com COVID-19 em comparação aos controles saudáveis, de diversos mediadores inflamatórios plasmáticos incluindo ICAM-1 e CCL26 (OLEY et al., 2021; TUFA et al., 2022).

Na literatura encontramos um estudo que associa o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) sérico em pacientes com COVID-19 com as manifestações da COVID-19. Nele os resultados revelaram um nível consideravelmente baixo de BDNF nas amostras de soro dos pacientes com COVID-19 em comparação com indivíduos saudáveis. Ainda, os dados do estudo não indicaram diferença significativa nos níveis de BDNF nos casos com ou sem manifestações neurológicas e os níveis de BDNF entre indivíduos saudáveis e

pacientes sem manifestações neurológicas não foram diferentes (ASGARZADEH et al., 2022). Nosso estudo corrobora com esses resultados quando comparamos os níveis de BDNF entre pacientes COVID-19 e os controles com infecção respiratória negativos para COVID-19, no entanto, demonstramos que os níveis de BDNF foram mais baixos nos pacientes COVID-19 com sintomas neurológicos em comparação aos pacientes sem sintomas neurológicos e também mais baixos quando comparados pacientes com sintomas neurológicos e os controles. Um menor nível de BDNF nos pacientes acometidos pela COVID-19 pode impactar negativamente na capacidade dos neurônios de lidar com outros desafios (ou seja, plasticidade neuronal) e também pode levar a uma diminuição da função e morte neuronal.

Níveis elevados de VEGF em amostras biológicas (LCR, aspirado de nasofaringe e plasma) de pacientes com outras doenças virais como influenza e vírus sincicial respiratório (VSR) foram relatados em alguns estudos, podendo o VEGF ser considerado um marcador de gravidade destas doenças (BAUTISTA et al., 2013; BERMEJO-MARTIN et al., 2007; MORICHI et al., 2017; PINO et al., 2009; WONG et al., 2018). Além disso, o VEGF é um dos principais mediadores do remodelamento vascular e de controle da função circulatória através do estímulo para formação de novas células endoteliais. Desta forma, alterações nos níveis de VEGF podem indicar um alto grau de injúria vascular seguida por uma tentativa de proteção e reparo pelo hospedeiro. É importante ressaltar que os resultados desses estudos indicam que a liberação de VEGF em resposta à infecção viral não ocorreria como um evento isolado, mas sim relacionado a uma rede molecular caracterizada por aumentos concomitantes de citocinas sistêmicas pró-inflamatórias ou quimiocinas (TALOTTA, 2022). Nossos achados mostram níveis de VEGF aumentados nos pacientes Neuro COVID-19 em comparação aos pacientes COVID-19 e ao grupo controle. Também os níveis foram elevados quando comparamos pacientes COVID-19 e o grupo controle.

O VEGF pode desempenhar um papel substancial na patogênese do COVID-19 por vários motivos: edema pulmonar, declínio da saturação de oxigênio e remodelamento vascular. Além disso, o VEGF pode facilitar a transmissão do vírus do pulmão para a circulação sanguínea através do comprometimento do glicocálice, como uma matriz pericelular no tecido pulmonar. Notavelmente, o VEGF também tem o potencial de instigar neuroinflamação no cérebro de não sobreviventes de COVID-19 após a indução de respostas inflamatórias, bem como o efeito disruptivo na

barreira hematoencefálica (SAHEBNASAGH et al., 2021). Os níveis de VEGF elevados no nosso estudo também denotam a gravidade dos pacientes e a presença de sintomas neurológicos no grupo onde os níveis eram ainda mais elevados. Outras pesquisam também demonstraram níveis plasmáticos elevados de VEGF-A em soros de pacientes com COVID-19 e estavam relacionados com a gravidade da doença (PINE et al., 2020; ROVAS et al., 2021; SMADJA et al., 2021).

Ao avaliarmos os níveis de S100B encontramos níveis elevados nos pacientes graves, com sintomas neurológicos ou não, em relação ao grupo controle também níveis elevados nos pacientes com Neuro COVID-19 comparados aqueles sem sintomas neurológicos no momento da admissão hospital. Outro estudo que investigou os níveis de S100B circulante no soro de pacientes afetados pelo vírus SARS-CoV-2 em vários estágios da doença também encontraram concentrações séricas elevadas de S100B e correlacionadas com a gravidade da doença da COVID-19 (ACETI et al., 2020). Um estudo transversal recente também demonstrou que níveis séricos de S100B foram ligeiramente maiores em pacientes com COVID-19 e com mais de um sintoma neurológico durante o curso da doença (SAHIN et al., 2022). Em uma pesquisa realizada com uma população do nordeste brasileiro, confirmou que pacientes com sintomas graves de COVID-19 apresentaram expressão sérica elevada dos biomarcadores de dano cerebral S100B (SILVA et al., 2023).

Nosso estudo ainda comparou os índices dos biomarcadores em dois momentos distintos durante a doença nos grupos com COVID-19 grave T1 e T2. Os níveis de ICAM-1 e CCL26 aumentaram no grupo COVID-19 entre os momentos T1 e T2. No tempo T2, os níveis de BDNF foram mais baixos nos pacientes com Neuro COVID-19 em comparação com T2 do grupo COVID-19 (Fig. 2A). Além disso, em T2 os níveis de S100B, ICAM-1, CCL26(eotaxin-3) e VEGF aumentaram em relação a T1 em pacientes com Neuro COVID-19, com S100B e CCL26 significativamente maiores em relação ao grupo COVID-19. Esta cinética demonstra pela 1ª vez a interrelação destas alterações em mediadores inflamatórios e de dano endotelial e cerebral com a gravidade e avanço da doença.

O presente estudo tem algumas limitações. Em primeiro lugar, incluiu um número limitado de participantes. Em segundo lugar os sintomas neurológicos foram autorrelatados pelos pacientes ou avaliados e registrados pelos profissionais de saúde sem que houvesse confirmação por testes padronizados.

8 CONCLUSÕES

Pacientes com COVID-19 grave apresentaram aumento dos níveis sistêmicos de ICAM-1, CCL26 (eotaxin-3) e VEGF na admissão hospitalar, enquanto pacientes com sintomas neurológicos também tiveram na admissão aumento de S100B e diminuição de BDNF, evidenciando além de um processo inflamatório sistêmico, marcador periférico de dano cerebral. Este é o 1º estudo a demonstrar que pacientes com sinais e sintomas de Neuro COVID-19 apresentaram ao longo da internação elevação de marcadores sistêmicos de inflamação e dano endotelial (ICAM-1, CCL26, VEGF) e cerebral (S100B) evidenciando a participação da resposta inflamatória e lesão cerebral na fisiopatologia e gravidade da doença.

REFERÊNCIAS

ACETI, A. et al. Serum S100B protein as a marker of severity in Covid-19 patients. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 18665, 29 out. 2020.

ACHAR, A.; GHOSH, C. COVID-19-Associated Neurological Disorders: The Potential Route of CNS Invasion and Blood-Brain Barrier Relevance. **Cells**, v. 9, n. 11, 2020.

ALKODAYMI, M. S. et al. Prevalence of post-acute COVID-19 syndrome symptoms at different follow-up periods: a systematic review and meta-analysis. **Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 28, n. 5, p. 657–666, maio 2022.

ASGARZADEH, A. et al. Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in COVID-19 Patients and its Association with the COVID-19 Manifestations. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 72, n. 9, p. 1820–1830, 1 set. 2022.

AYOUBKHANI, D. et al. Trajectory of long covid symptoms after covid-19 vaccination: community based cohort study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 377, p. e069676, 18 maio 2022.

AZOULAY, D. et al. Recovery from SARS-CoV-2 infection is associated with serum BDNF restoration. **Journal of Infection**, v. 81, n. 3, p. e79–e81, 1 set. 2020.

BAIG, A. M. Neurological manifestations in COVID-19 caused by SARS-CoV-2. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 26, n. 5, p. 499–501, maio 2020.

BAUTISTA, E. et al. Angiogenic and inflammatory markers in acute respiratory distress syndrome and renal injury associated to A/H1N1 virus infection. **Experimental and molecular pathology**, v. 94, n. 3, p. 486–492, jun. 2013.

BENUSSI, A. et al. Clinical characteristics and outcomes of inpatients with neurologic disease and COVID-19 in Brescia, Lombardy, Italy. **Neurology**, v. 95, n. 7, p. e910–e920, 18 ago. 2020.

BERMEJO-MARTIN, J. F. et al. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children. European cytokine network, v. 18, n. 3, p. 162–167, set. 2007.

BEGHI, E. et al. Acute and post-acute neurological manifestations of COVID-19: present findings, critical appraisal, and future directions. Journal of neurology, v. 269, n. 5, p. 2265–2274, maio 2022.

BRIGUGLIO, M. et al. Disentangling the Hypothesis of Host Dysosmia and SARS-CoV-2: The Bait Symptom That Hides Neglected Neurophysiological Routes. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 2020.

CALABRESE, F. et al. Brain-derived neurotrophic factor: a bridge between inflammation and neuroplasticity. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 8, p. 430, 2014.

CECCONI, M. et al. Early Predictors of Clinical Deterioration in a Cohort of 239 Patients Hospitalized for Covid-19 Infection in Lombardy, Italy. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 5, 20 maio 2020.

CHEN, Nanshan et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 507-513, 2020.

CHOU, S. H.-Y. et al. Global Incidence of Neurological Manifestations Among Patients Hospitalized With COVID-19—A Report for the GCS-NeuroCOVID Consortium and the ENERGY Consortium. **JAMA Network Open**, v. 4, n. 5, p. e2112131–e2112131, 11 maio 2021.

DAMIANO, R. F. et al. Cognitive decline following acute viral infections: literature review and projections for post-COVID-19. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, v. 272, n. 1, p. 139–154, fev. 2022.

DE FELICE, F. G. et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the Central Nervous System. **Trends in neurosciences**, v. 43, n. 6, p. 355–357, jun. 2020.

DEKOSKY, S. T. et al. Blood Biomarkers for Detection of Brain Injury in COVID-19 Patients. **Journal of neurotrauma**, v. 38, n. 1, p. 1–43, 1 jan. 2021.

ETTER, M. M. et al. Severe Neuro-COVID is associated with peripheral immune signatures, autoimmunity and neurodegeneration: a prospective cross-sectional study. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 6777, 9 nov. 2022.

FERNÁNDEZ-CASTAÑEDA, A. et al. Mild respiratory COVID can cause multi-lineage neural cell and myelin dysregulation. **Cell**, v. 185, n. 14, p. 2452- 2468.e16, 7 jul. 2022.

FRONTERA, J. A. et al. A Prospective Study of Neurologic Disorders in Hospitalized Patients With COVID-19 in New York City. **Neurology**, v. 96, n. 4, p. e575–e586, 26 jan. 2021.

GALLO MARIN, B. et al. Predictors of COVID-19 severity: A literature review. **Reviews in medical virology**, v. 31, n. 1, p. 1–10, jan. 2021.

GARG, S. et al. Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 - COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 69, n. 15, p. 458–464, 17 abr. 2020.

GOSHUA, G. et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. **The Lancet. Haematology**, v. 7, n. 8, p. e575–e582, ago. 2020.

GRAÑA, C. et al. Efficacy and safety of COVID-19 vaccines. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 12, n. 12, p. CD015477, 7 dez. 2022.

GRASSELLI, G. et al. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. **JAMA**, v. 323, n. 16, p. 1574–1581, 28 abr. 2020.

GUADARRAMA-ORTIZ, P. et al. Neurological Aspects of SARS-CoV-2 Infection: Mechanisms and Manifestations. **Frontiers in neurology**, v. 11, p. 1039, 2020.

GUEDES, B. F. NeuroCOVID-19: a critical review. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 80, n. 5 Suppl 1, p. 281–289, maio 2022.

GUPTA, A. et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. **Nature Medicine**, v. 26, n. 7, p. 1017–1032, 1 jul 2020.

HEMING, M. et al. Neurological Manifestations of COVID-19 Feature T Cell Exhaustion and Dedifferentiated Monocytes in Cerebrospinal Fluid. **Immunity**, v. 54, n. 1, p. 164- 175.e6, 12 jan. 2021.

HUANG, Chaolin et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

HUBER, A. K. et al. An emerging role for eotaxins in neurodegenerative disease. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 189, p. 29–33, abr. 2018.

IMAM, Z. et al. Older age and comorbidity are independent mortality predictors in a large cohort of 1305 COVID-19 patients in Michigan, United States. **Journal of internal medicine**, v. 288, n. 4, p. 469–476, out. 2020.

JARIUS, S. et al. Cerebrospinal fluid findings in COVID-19: a multicenter study of 150 lumbar punctures in 127 patients. **Journal of neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 19, 20 jan. 2022.

JOHNS HOPKINS UNIVERSITY. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center, 2020. Disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Acesso em: 23 mai. 2020.

KREMER, S. et al. Neurologic and neuroimaging findings in patients with COVID-19: A retrospective multicenter study. **Neurology**, v. 95, n. 13, p. e1868–e1882, 29 set. 2020.

KERMANSHAHI, S.; GHOLAMI, M.; MOTAGHINEJAD, M. Can Infection of COVID-19 Virus Exacerbate Alzheimer's Symptoms? Hypothetic Possible Role of Angiotensin-Converting Enzyme-2/Mas/ Brain-Derived Neurotrophic Factor Axis and Tau Hyper-phosphorylation. **Advanced biomedical research**, v. 9, p. 36, 2020.

LIMA GIACOBBO, B. et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 5, p. 3295–3312, 1 maio 2019.
LIOTTA, E. M. et al. Frequent neurologic manifestations and encephalopathy-associated morbidity in Covid-19 patients. **Annals of clinical and translational neurology**, v. 7, n. 11, p. 2221–2230, nov. 2020.

LI, Qun et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia. **New England Journal of Medicine**, 2020a.

LI, X. et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 146, n. 1, p. 110–118, jul. 2020b.

LLEDÓ, G. M. et al. Post-acute COVID-19 syndrome: a new tsunami requiring a universal case definition. **Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 28, n. 3, p. 315–318, mar. 2022.

MAO, L. et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. **JAMA Neurology**, v. 77, n. 6, p. 683–690, 1 jun. 2020.

MARTINOT, M. et al. Predictors of mortality, ICU hospitalization, and extrapulmonary complications in COVID-19 patients. **Infectious diseases now**, v. 51, n. 6, p. 518–525, set. 2021.

METE, E. et al. Association Between S100b Levels and COVID-19 Pneumonia: A Case Control Study. **In vivo (Athens, Greece)**, v. 35, n. 5, p. 2923–2928, out. 2021.

MICHETTI, F. et al. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. **Journal of Neurochemistry**, v. 148, n. 2, p. 168–187, 1 jan. 2019.

MISRA, S. et al. Frequency of Neurologic Manifestations in COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. **Neurology**, v. 97, n. 23, p. e2269–e2281, 7 dez. 2021.

MOORE, B. W. A soluble protein characteristic of the nervous system. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 19, n. 6, p. 739–744, 9 jun. 1965.

MORICHI, S. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-derived growth factor (PDGF) levels in the cerebrospinal fluid of children with influenza-associated encephalopathy. **Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy**, v. 23, n. 2, p. 80–84, fev. 2017.

NALBANDIAN, A. et al. Post-acute COVID-19 syndrome. **Nature medicine**, v. 27, n. 4, p. 601–615, abr. 2021.

NAZARINIA, D. et al. Eotaxin-1 (CCL11) in neuroinflammatory disorders and possible role in COVID-19 neurologic complications. **Acta Neurologica Belgica**, v. 122, n. 4, p. 865–869, 1 ago. 2022.

OLEY, M. H. et al. ICAM-1 levels in patients with covid-19 with diabetic foot ulcers: A prospective study in southeast asia. **Annals of medicine and surgery (2012)**, v. 63, p. 102171, mar. 2021.

OUR World In Data. [2023?]. Disponível em: <https://ourworldindata.org/explorers/coronavirus-data-explorer?zoomToSelection=true&uniformYAxis=0&country=USA~GBR~CAN~DEU~ITA~IND&pickerSort=asc&pickerMetric=location&Metric=Cases+and+deaths&Interval=Cumulative&Relative+to+Population=true&Color+by+test+positivity=false>. Acesso em: jun. 2023.

PAULES, Catharine I.; MARSTON, Hilary D.; FAUCI, Anthony S. Coronavirus infections—more than just the common cold. **Jama**, v. 323, n. 8, p. 707-708, 2020.

PINE, A. B. et al. Circulating markers of angiogenesis and endotheliopathy in COVID-19. **Pulmonary circulation**, v. 10, n. 4, p. 2045894020966547, dez. 2020.

PINO, M. et al. Nasopharyngeal aspirate cytokine levels 1 yr after severe respiratory syncytial virus infection. **Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology**, v. 20, n. 8, p. 791–795, dez. 2009.

PREMRAJ, L. et al. Mid and long-term neurological and neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: A meta-analysis. **Journal of the neurological sciences**, v. 434, p. 120162, 15 mar. 2022.

RICHARDSON, S. et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. **JAMA**, v. 323, n. 20, p. 2052–2059, 26 maio 2020.

RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J. et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **Travel Medicine and Infectious Disease**, p. 101623, 2020.

ROVAS, A. et al. Microvascular dysfunction in COVID-19: the MYSTIC study. **Angiogenesis**, v. 24, n. 1, p. 145–157, 1 fev. 2021.

SAHEBNASAGH, A. et al. Anti-VEGF agents: As appealing targets in the setting of COVID-19 treatment in critically ill patients. **International immunopharmacology**, v. 101, n. Pt B, p. 108257, dez. 2021.

SAHIN, B. E. et al. Plasma biomarkers of brain injury in COVID-19 patients with neurological symptoms. **Journal of the neurological sciences**, v. 439, p. 120324, 15 ago. 2022.

SANDLER, C. X. et al. Long COVID and Post-infective Fatigue Syndrome: A Review. **Open forum infectious diseases**, v. 8, n. 10, p. ofab440, out. 2021.

SILVA, R. C. et al. Brain damage serum biomarkers induced by COVID-19 in patients from northeast Brazil. **Journal of neurovirology**, p. 1–7, 31 jan. 2023.
SMADJA, D. M. et al. COVID-19 is a systemic vascular hemopathy: insight for mechanistic and clinical aspects. **Angiogenesis**, v. 24, n. 4, p. 755–788, nov. 2021.

SORCI, G. et al. S100B Protein, A Damage-Associated Molecular Pattern Protein in the Brain and Heart, and Beyond. **Cardiovascular psychiatry and neurology**, v. 2010, p. 656481, 2010.

SORIANO, J. B. et al. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 22, n. 4, p. e102–e107, abr. 2022.

SULEYMAN, G. et al. Clinical Characteristics and Morbidity Associated With Coronavirus Disease 2019 in a Series of Patients in Metropolitan Detroit. **JAMA network open**, v. 3, n. 6, p. e2012270, 1 jun. 2020.

TANCHEVA, L. et al. Emerging Neurological and Psychobiological Aspects of COVID-19 Infection. **Brain Sciences**, v. 10, n. 11, 2020.

TEO, W.-P.; GOODWILL, A. M. Can exercise attenuate the negative effects of long COVID syndrome on brain health? **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022.

TALOTTA, R. Impaired VEGF-A-Mediated Neurovascular Crosstalk Induced by SARS-CoV-2 Spike Protein: A Potential Hypothesis Explaining Long COVID-19 Symptoms and COVID-19 Vaccine Side Effects? **Microorganisms**, v. 10, n. 12, 12 dez. 2022.

TONG, M. et al. Elevated Expression of Serum Endothelial Cell Adhesion Molecules in COVID-19 Patients. **The Journal of infectious diseases**, v. 222, n. 6, p. 894–898, 17 ago. 2020.

TUFA, A. et al. Inflammatory mediators profile in patients hospitalized with COVID-19: A comparative study. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 964179, 2022.

TUMA, R. L. et al. Clinical, cerebrospinal fluid, and neuroimaging findings in COVID-19 encephalopathy: a case series. Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology, v. 42, n. 2, p. 479–489, fev. 2021.

VARGA, Z. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. **Lancet (London, England)**, v. 395, n. 10234, p. 1417–1418, 2 maio 2020.

VÁZQUEZ, J. B. et al. [Systemic and extrapulmonary manifestations of COVID-19]. **Medicine**, v. 13, n. 55, p. 3235–3245, maio 2022.

WANG, Dawei et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. **Jama**, v. 323, n. 11, p. 1061-1069, 2020.

WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Mar. 2020. Disponível em:< https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>. Acesso em: 02 jun. 2023.

WONG, S.-S. et al. Severe Influenza Is Characterized by Prolonged Immune Activation: Results From the SHIVERS Cohort Study. **The Journal of infectious diseases**, v. 217, n. 2, p. 245–256, 4 jan. 2018.

WU, Zunyou; MCGOOGAN, Jennifer M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **Jama**, 2020.

XU, Z. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, p. 420–422, 2020.

ZHAO, Wei et al. Relation between chest CT findings and clinical conditions of coronavirus disease (COVID-19) pneumonia: a multicenter study. **American Journal of Roentgenology**, p. 1-6, 2020.

ZHOU, Peng et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020.

ANEXOS

ANEXO 1 - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise epidemiológica e clínica de portadores de sintomas respiratórios e COVID-19 no Município de Esteio/RS
Pesquisador: CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 38886220.0.0000.5345
Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
Patrocinador Principal: MUNICIPIO DE ESTEIO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.357.120

Apresentação do Projeto:
Trata-se de um estudo observacional longitudinal prospectivo de acompanhamento da evolução clínica, do momento do diagnóstico, da hospitalização até a alta hospitalar ou óbito, nos casos graves e do período de recuperação de todos os pacientes diagnosticados com COVID-19 no município de Esteio, com sequenciamento viral das amostras positivas.

Objetivo da Pesquisa:
Objetivo Primário: Analisar dados epidemiológicos e acompanhar a evolução clínica de portadores de sintomas respiratórios que buscaram assistência na rede de saúde do Município de Esteio, Rio Grande do Sul, durante a pandemia de Coronavírus (COVID-19).
Objetivo Secundário: I. Descrever os sintomáticos respiratórios no período da pandemia de COVID-19 em Esteio. II. Analisar a população de sintomáticos e suas características sociodemográficas, formas de exposição/infecção e contatos. III. Descrever a sintomatologia apresentada pela população em estudo com testes positivos para o coronavírus. IV. Acompanhar a evolução clínica dos pacientes graves, a partir de marcadores laboratoriais, tempo de permanência no hospital, tipo de hospitalização (UTI ou enfermaria), tempo de hospitalização, ventilação mecânica ou não, procedimentos realizados, dados clínicos laboratoriais e medicações utilizadas. V. Monitorar a evolução clínica dos casos

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

leves ou moderados mantidos na comunidade após o diagnóstico de COVID-19. VI. Acompanhar, nos casos incidentes, a presença do material genético (RNA) do vírus a partir de RT-qPCR realizadas periódicamente a partir do primeiro exame positivo e teste rápido (TR) para detecção de anticorpos, também periodicamente a partir do 10o dia de positividade na RT-qPCR, bem como
realizar o acompanhamento de biomarcadores laboratoriais, até o final do estudo. VII. Sequenciar o genoma viral de todas as amostras de pacientes positivos para COVID-19. VIII. Criar um banco de dados que contenha todas as informações clínicas, sociodemográficas e de resultados laboratoriais dos sintomáticos respiratórios no período da pandemia de COVID-19 em Esteio. IX. Avaliar níveis sistêmicos de citocinas (GM-CSF, IFN-a, IL-1, IL-6, TNF-a) no plasma de pacientes com COVID-19. X. Avaliar a expressão de NF-kB em monócitos e a frequência periférica de monócitos CD14+CD16- (clássicos), CD14+CD16+ (intermediários), CD14-CD16+(não-clássicos), CD14+CD16-/+HLA-DR+ /CD69+ (estado de ativação celular) de pacientes com COVID-19 e indivíduos
controles não infectados. XI. Avaliar apoptose, potencial de membrana mitocondrial e geração de espécies reativas de oxigênio em monócitos de pacientes com COVID e controles saudáveis. XII. Avaliar a frequência periférica de linfócitos T CD4+CD25+CD39+, CD4+CD25-CD39+, CD4+CD25+CD39+CD73+, CD4+CD25highCD127low, CD8+CD27+CD28+, CD8+CD27+CD28-, CD8+CD27-CD28-, CD4-/+CD8-/+PD-1+, CD4-/+CD8-/KLRG-1+
de pacientes com COVID-19 e indivíduos controles não infectados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Pode ser considerado um estudo de riscos mínimos, por poder trazer constrangimentos a partir da aplicação de questionário. A punção digital e
venosa e a obtenção de amostras por swab orofaríngeo podem ser incluídas na classificação de riscos mínimos. Em caso de alguma complicação relacionada à coleta das amostras, o indivíduo será atendido pela própria rede de assistência à saúde do município que apoia a realização do projeto. Nenhum procedimento que tenha outras consequências será realizado.

Benefícios: Os beneficios para os participantes estão relacionados, especialmente, ao acompanhamento da evolução da doença de uma patologia ainda pouco estudada e conhecida, na qual a maioria das pessoas apresenta apenas sintomas leves, mas que pode resultar em quadro severo que responde melhor as medidas terapeuticas quando estas sao empregadas precocemente.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todas as pendências e inadequações foram atendidas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências e inadequações foram atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1638466.pdf	14/10/2020 18:20:10		Aceito
Outros	TermoCompromissoRelatorioFinal.pdf	14/10/2020 18:19:33	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_CEP_UFCSPA.pdf	14/10/2020 18:15:46	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_OUT2020.docx	14/10/2020 18:04:49	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_OUT2020_Responsaveis.docx	14/10/2020 18:04:21	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_OUT2020_Responsaveis.pdf	14/10/2020 18:04:12	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_Anuencia_LabImunologiaUFCSPA.pdf	14/10/2020 17:54:15	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_Anuencia_Lab_AnalisesClinicasUFCSPA.pdf	14/10/2020 17:54:07	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_COVID19_ESTEIO_14out.pdf	14/10/2020 17:52:56	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

Continuação do Parecer: 4.357.120

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_COVID19_ESTEIO_14out.docx	14/10/2020 17:52:40	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRosto_CONEP_CThompson.pdf	03/10/2020 21:16:23	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	TermoCompromisso_NovaPesquisa.pdf	29/09/2020 13:19:57	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Declaração do Patrocinador	DeclaracaoPatrocinador.pdf	29/09/2020 13:02:35	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoAnuencia_HospitalSaoCamilo.pdf	28/09/2020 14:56:54	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Pesquisadores.pdf	28/09/2020 14:50:16	CLAUDIA ELIZABETH THOMPSON	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

PORTO ALEGRE, 23 de Outubro de 2020

Assinado por:
Fernanda Bordignon Nunes
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br