

Relação entre estresse oxidativo e COVID-19: uma breve revisão sistemática

Relationship between oxidative stress and COVID-19: a brief systematic review

Paulo Fábio Lopes Azevedo¹, José Felipe Teixeira Borges², Micaella Yanne Fender Lobato³, Rita de Cássia Silva de Oliveira⁴

Azevedo PFL, Borges, JFT, Lobato MYF, Oliveira RCS. Relação entre estresse oxidativo e COVID-19: uma breve revisão sistemática / *Relationship between oxidative stress and COVID-19: a brief systematic review*. Rev Med (São Paulo). 2024 nov.-dez.;103(6):e-221992.

RESUMO: OBJETIVO: Analisar a possível relação entre o Estresse Oxidativo (EO) e a patogênese da COVID-19. MÉTODOS: Esta breve revisão sistemática de literatura foi conduzida a partir de recomendações da Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA). A busca resultou na seleção de 10 trabalhos que preencheram a temática da pesquisa, publicados entre janeiro 2020 e março de 2021. RESULTADOS: Os resultados revelaram que no curso da doença, ocorre depleção nos níveis de tiol e aumento de dissulfeto e de EO, com provável depleção de elementos antioxidantes. Constataram que o acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), somado ao dano à albumina, relacionaram-se a um pior prognóstico e que neutrófilos podem ser responsáveis pelo crescente nível de estresse oxidativo associado ao agravamento do quadro clínico. Além disso, células transfectadas com a proteína spike SARS-CoV-2 apresentaram cerca de o triplo da concentração de EROs em comparação às células controle não transfectadas. Quanto aos níveis séricos de O₂⁻, mostraram-se significativamente elevados em pacientes graves, constituindo um provável preditor da gravidade da doença. CONCLUSÕES: Assim, a partir desse trabalho, é possível inferir que tanto pacientes portadores de formas graves quanto moderadas de COVID-19 apresentam elevados valores de índice de EO. Entretanto, novos estudos precisam ser realizados para confirmação destes resultados preliminares.

PALAVRAS-CHAVE: Estresse Oxidativo; Espécies Reativas de Oxigênio; Espécies Reativas de Nitrogênio; COVID-19.

ABSTRACT: OBJECTIVE: Analyse the possible relationship between Oxidative Stress (OS) and the pathogenesis of COVID-19. METHODS: This brief systematic literature review was conducted based on the recommendations of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA). The search resulted in the selection of 10 papers that met the research theme and were published between January 2020 and March 2021. RESULTS: The results revealed that in the course of the disease, there is a decrease in thiol levels and an increase in disulfide and EO, with a probable depletion of antioxidant elements. They found that the accumulation of Reactive Oxygen Species (ROS), added to the damage to albumin, were related to a worse prognosis and that neutrophils may be responsible for the increased level of oxidative stress associated with the worsening of the clinical condition. In addition, cells transfected with the SARS-CoV-2 spike protein showed around three times the concentration of ROS compared to non-transfected control cells. As for serum O₂⁻ levels, they were significantly elevated in critically ill patients, constituting a probable predictor of disease severity. CONCLUSIONS: Thus, from the findings of this study, it is possible to infer that both patients with severe and moderate forms of COVID-19 have high EO index values. However, further studies need to be carried out to confirm these preliminary results.

KEY WORDS: Oxidative Stress; Reactive Oxygen Species; Reactive Nitrogen Species; COVID-19.

¹ Universidade do Estado do Pará – UEPA. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8980-4800> E-mail: paulofabio43@gmail.com

² Universidade do Estado do Pará – UEPA. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9030-6657> E-mail: josefelipe146@gmail.com

³ Universidade do Estado do Pará – UEPA. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9707-6535> E-mail: micaellafender@gmail.com

⁴ Universidade do Estado do Pará – UEPA. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3835-1183> E-mail: rita.oliveira@uepa.br.

Endereço para correspondência: Micaella Yanne Fender Lobato. Vila Maria A, 26. Umarizal. Belém-PA, Brasil. E-mail: micaellafender@gmail.com

INTRODUÇÃO

O equilíbrio entre agentes oxidantes e o sistema de defesa antioxidante é essencial para o adequado funcionamento de diversos mecanismos fisiológicos, como geração de ATP e apoio ao sistema imunológico. O Estresse Oxidativo (EO) ocorre na presença de um desequilíbrio no sistema de oxirredução, com aumento na geração de compostos oxidantes e diminuição da atuação dos sistemas de defesa antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que resultam em danos oxidativos às células¹.

Os agentes oxidantes, como os radicais livres, são moléculas reativas provenientes principalmente do metabolismo mitocondrial. As principais moléculas oxidantes são Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical ânio superóxido (O_2^-), e o radical hidroxila ($OH\cdot$). Há também o processo reação entre O_2^- com o radical livre óxido nítrico ($NO\cdot$), a qual pode gerar espécie reativa de nitrogênio, como o peroxinitrito ($ONOO^-$), que é potencialmente reativa¹.

Os compostos antioxidantes que atuam para equilibrar e evitar os potenciais danos dos EROs e radicais livres, são divididos entre endógenos, como a superóxido dismutase (SOD), a glutatona peroxidase (GPx), a glutatona redutase (GR), a catalase e albumina sérica humana (ASH) e exógenos, como vitamina E, vitamina C e carotenóides. Essas biomoléculas e seus subprodutos ligados à geração ou neutralização de radicais livres e EROs, podem ser utilizadas como marcadores do EO e na avaliação do status antioxidante^{1,2}.

A ASH representa um importante agente antioxidante endógeno, sendo proteína mais abundante no plasma. No sistema redox, tem a função de neutralizar toxinas e antioxidantes, com atuação de seu grupo tiol na retenção de diferentes tipos de EROs. As alterações estruturais e funcionais da ASH podem ser analisadas mediante a identificação de modificações na sua capacidade de ligar-se forte e exclusivamente a ácidos graxos no sangue, por meio de medições específicas³.

Durante infecções virais ocorre o aumento da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) destinadas à contenção da infecção, entretanto esse processo pode desencadear EO com diminuição na efetividade do sistema enzimático e depleção de sua primeira linha de defesa, a enzima Superóxido Dismutase (SOD)⁴.

A fenômenos relacionados ao EO ocorrem também na infecção pelo β -coronavírus SARS-CoV-2 onde se observa a expressão desregulada genes marcadores de EO, e esse desequilíbrio parece se relacionar a manifestação da forma grave da COVID-19, com a presença de Síndrome Respiratória Aguda grave (SARS)^{5,6}. Adicionalmente, essa hipótese torna-se mais relevante quando um dos grupos de risco para desenvolver a forma grave da SARS, constituído por idosos, apresenta incremento do processo de EO desencadeado pela senescência⁷.

A disseminação do SARS-CoV-2 ocorre principalmente por meio de gotículas de fluidos respiratórios, desta forma o vírus adentra no sistema respiratório, liga-se à Enzima Conversora de Angiotensina (ECA2), desencadeando elevada resposta imunológica inflamatória com tempestade de citocinas,

com acentuada presença dos fagócitos que também contribui para o desequilíbrio no sistema redox, resultando na produção de EROs^{8,9}.

Nesse contexto, apesar da vacinação contra a COVID-19 ter sido bem-sucedida, esta enfermidade já ocasionou mais de 4 milhões de óbitos no mundo. Contudo, em casos em que a COVID-19 já havia se estabelecido, uma série de terapias empíricas foram adotadas, como a utilização de N-acetilcisteína (NAC), indicada para doenças pulmonares, com eficácia constatada contra o EO^{10,11}. Desse modo, o objetivo dessa revisão sistemática consiste em verificar qual a relação entre a doença causada pelo SARS-CoV-2, e o Estresse Oxidativo.

METODOLOGIA

Essa revisão sistemática foi conduzida de acordo com a recomendação Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA). Foram realizadas buscas, entre 20 de maio de 2021 até 01 de junho de 2021, na Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos, em sua base de dados PubMed, bem como na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). A busca foi orientada a partir de operadores booleanos junto às palavras-chave: “COVID-19 AND oxidative stress”; “COVID-19 AND reactive oxygen species” e “COVID-19 AND reactive nitrogen species”.

Os artigos coletados foram publicados entre janeiro 2020 e março de 2021, com triagem, na primeira fase, por título, resumo e metodologia, a fim de identificar se eram adequados ao tema proposto e apresentavam metodologia adequada, como os artigos de coorte e caso-controle. Em seguida, foram excluídas as repetições; assim, cada artigo elegível foi analisado integralmente por dois revisores independentemente.

Os critérios de inclusão foram Artigos: (1) com texto em inglês, português ou espanhol; (2) De livre acesso; (3) Publicados entre janeiro 2020 e março de 2021; (4) Que abordem a relação entre EO e COVID-19; (5) Que fossem estudos de coorte, caso-controle ou estudos experimentais.

Os critérios de exclusão adotados foram: (1) editoriais, relatos de caso, cartas, artigos de opinião, artigos de revisão, livros; (2) duplicidades. Por conseguinte, na terceira análise. Os trabalhos foram estratificados de acordo com os achados da relação entre COVID-19 e EO, e seus produtos.

Cada estudo incluído foi analisado de forma separada e os seus dados foram extraídos e agrupados, e após essa etapa foram verificadas as concordâncias e discordâncias entre os achados de todos os artigos. A questão norteadora dessa revisão foi: “Qual é a relação entre o estresse oxidativo e a gravidade do quadro clínico da COVID-19?”.

O presente trabalho consistiu em uma breve revisão sistemática de literatura, dispensando, desta forma, a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

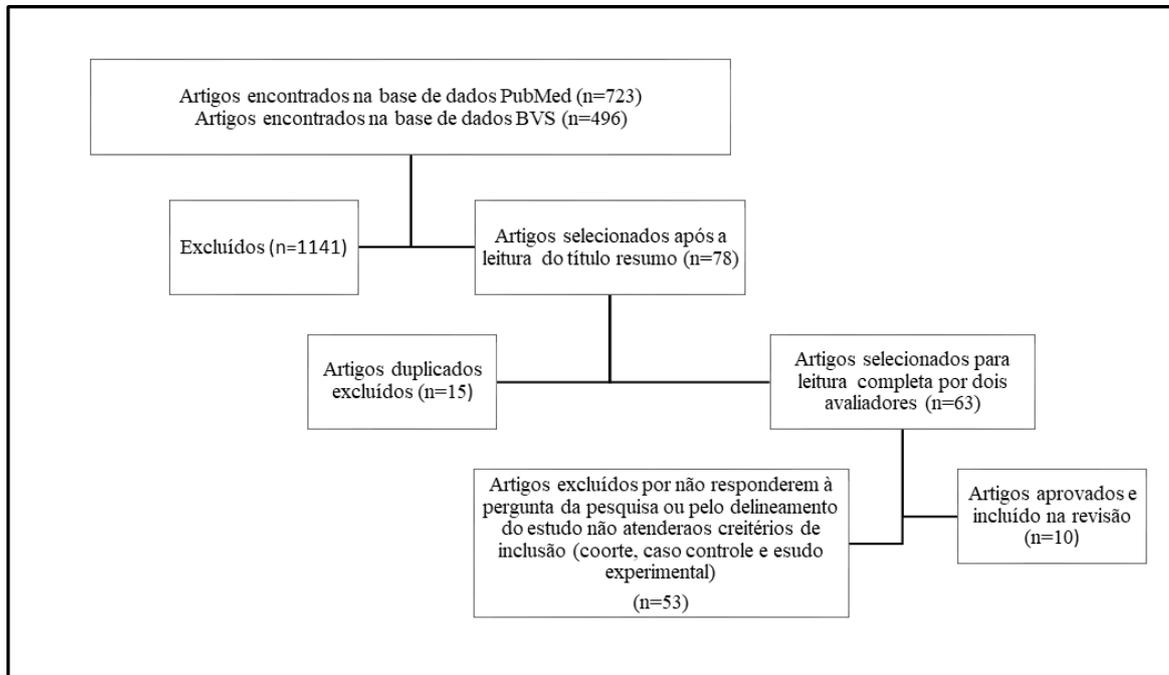
RESULTADOS

Nessa pesquisa, foram encontrados 723 artigos na PubMed e 496 na BVS, entre estes foram selecionados 78 trabalhos na

pesquisa primária, dos quais 15 eram repetições. Desta forma, para a segunda triagem foram selecionados 63 artigos, e após uma segunda análise, 10 trabalhos foram aprovados para compor

essa revisão sistemática, por estarem de acordo com a proposta da pesquisa (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma das fases da revisão sistemática



Fonte: Dados dos autores

Foram incluídos estudos elaborados nos seguintes países: Turquia (1), Estados Unidos da América (2), Nigéria (1), Macedônia do Norte (1), Irã (2), Egito (1), Brasil (1) e Sérvia (1). Entre os 10 artigos, foram incluídos 5 estudos de coortes; 3 casos-controle, e 2 estudos clínicos. Nesses estudos, foram avaliados os dados de 732 indivíduos, sendo que 556 estavam infectados pelo SARS-CoV-2, e 146 constituíram os grupos controle. Os

estudos utilizaram diferentes critérios para classificar os grupos de pacientes com coronavírus em leve, moderado e grave. Todavia, houve divergência quanto ao modo de agrupamento, alguns estudos analisaram os casos leves e moderados como um grupo único, enquanto outros estudos estratificaram os dados dos três grupos (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização detalhada dos estudos incluídos

Autor/ano/local	Número de participantes/grupos	Resumo dos achados
<i>Kalem et al.</i> ¹² 2021 Turquia	Controle: 70 Classificação Clínica: COVID leve a moderada: 117 COVID grave: 27 Idade: 49,6 ± 18,3 Sexo masc.: 94 (65,2%) ≥1 comorbidades: 59 (41%) Hipertensão (HAS): 25 (17,3%) Diabetes (DM): 19 (13,1%) Doença arterial coronariana (DAC): 8 (5,5%) Outros 19 (13,1%) UTI: 30 (20,8%) Óbitos: 9 (6,2%)	O estudo avaliou o grau de estresse oxidativo, por meio da homeostase tiol-dissulfeto, em controles saudáveis e pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2 classificados de acordo com a OMS em COVID leve a moderado e COVID grave. As amostras foram coletadas à admissão, de modo que os pacientes COVID apresentaram valores de leucócitos, neutrófilos, proteína C reativa (PCR), ferritina e interleucina-6 (IL-6) significativamente maiores que os do grupo controle (p < 0,001) assim como valores menores de linfócitos (p < 0,001). valores de tiol nativo ou reduzido (TN) progressivamente menores foram constatados entre os grupos controle, COVID leve a moderada e COVID severa (419,8 ± 55,88 µmol/L; 260,71 ± 83,08 µmol/L; 156,62 ± 69,75 µmol/L), com diferença estatística entre todos os grupos (p < 0,001). O mesmo se aplicou aos valores de tiol total, tanto reduzido quando oxidado de (TT) (459,12 ± 60,05 µmol/L; 305,73 ± 86,40 µmol/L; 192,00 ± 75,20 µmol/L; p < 0,001). Adicionalmente, as métricas da quantidade de disulfetos (SS) cursaram com diferença significativa apenas entre os grupos controle e COVID leve a moderada (p=0,004) e entre os grupos COVID leve e moderada e COVID severa (p<0,001) (19,69 ± 4,91 µmol/L; 22,50 ± 6,19 µmol/L; 17,54 ± 5,83 µmol/L). Quanto à análise ROC (Receiver Operating Characteristic) das variáveis indicou que IL-6 e TN foram os melhores para diferenciar entre indivíduos saudáveis e pacientes com quadro leve a moderado, enquanto PCR e TN destacaram-se discernir entre quadros leves a moderados e severos. Constatou-se também um ponto de corte nos valores de TN de 328 µmol/L (sensibilidade de 97% e especificidade de 83%) para discriminar entre os indivíduos saudáveis e pacientes com COVID leve a moderada com AUC (area under the curve) de 0,95 (IC95% 0,93–0,99). Adicionalmente, identificou-se um ponto de corte nos valores de TN de 189 µmol/L (sensibilidade de 79% e especificidade de 72%) para discriminar entre COVID leve a moderada e COVID severa (AUC=0,83; IC95% 0,75–0,92). Ademais, constatou-se uma relação negativa significativa entre a duração dos sintomas e os níveis de TN.

continua

continuação

Autor/ano/local	Número de participantes/grupos	Resumo dos achados
<p><i>Dominic et al.</i>¹³</p> <p>2021</p> <p>EUA</p>	<p>Total: 101</p> <p>Controle: 33</p> <p>Idade: 43,09 (22–68)</p> <p>Sexo masc.: 18 (54%)</p> <p>COVID: 68</p> <p>Idade: 58,19 (27–85)</p> <p>Sexo masc.: 35(51,5%)</p> <p>Classificação Clínica:</p> <p>Moderada: 46 (67,6%)</p> <p>Grave: 22 (32,3%)</p> <p>Comorbidades:</p> <p>DM: 29 (42,6%)</p> <p>HAS: 51 (75%)</p> <p>DPOC*: 6 (8,8%)</p> <p>DCV*: 18 (26,4%)</p>	<p>O estudo analisou a relação da disponibilidade de NO e de sulfeto, em pacientes controles saudáveis e acometidos com COVID-19, internados no hospital. Após a coleta sanguínea, foram medidos os níveis de NO, nitrito livre e sulfeto. Os níveis de NO apresentaram, respectivamente, significativa redução nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV2, quando comparados ao controle (286,69 ± 140,39 nM; 418,84 ± 153,03 nM; p<0,0001). Os níveis séricos de nitrito livre também, apresentaram-se reduzidos, respectivamente, nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV2, quando comparados ao grupo controle (179,945 ± 164,0 nM; 292,63 ± 141,67 nM; p = 0,0017). A Fração S-nitrosotiol (SNO), também reduziu, respectivamente, nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV2, quando comparados ao controle (152,89 ± 85,39; 243,19 ± 91,60 nM; p<0,0001). Os níveis de sulfeto, incluindo sulfeto livre, foram significativamente reduzidos em pacientes com COVID-19 em comparação com controles saudáveis (0,18 ± 0,05 µM; 0,31 ± 0,14 µM, p<0,000). Na determinação dos No-derivados oxidantes, obteve-se nitrotirosina do plasma, pacientes com covid-19 e grupo controle, respectivamente, com aumento significativo nos pacientes com COVID-19 (107,049 ± 7.907 nM vs 44,7606 ± 12,85 nM; p<0,0001). Um paciente primeiramente do grupo controle, evoluiu com COVID-19: os níveis totais de NO e sulfeto foram significativamente reduzidos durante a infecção COVID-19 (280 nM e 0,8523 µM, respectivamente), neste indivíduo a partir da linha de base pré-infecção (400 nM e 1,11039 µM e o nível de PCR, estava elevado, 1,35 mg/dL, normal 0,3–1,0 mg.</p>
<p><i>Muhammad et al.</i>¹⁴</p> <p>2021</p> <p>Nigéria</p>	<p>Total: 71</p> <p>Controle: 21</p> <p>Idade: 35,8 ± 6,8</p> <p>Sexo masc.: 11 (52,4%)</p> <p>Sexo fem.: 10 (47,6%)</p> <p>COVID: 50</p> <p>Idade: 43,8 ± 13,8</p> <p>Sexo masc.: 35 (70%)</p> <p>Sexo fem.: 15 (30%)</p> <p>Classificação Clínica:</p> <p>Leve: 32 (64%)</p> <p>Moderada: 10 (20%)</p> <p>Grave: 8 (16%)</p> <p>Comorbidades:</p> <p>DM: 4 (8%)</p> <p>HAS: 6 (12%)</p> <p>Malária: 9 (18%)</p>	<p>A pesquisa quantificou a presença oligoelementos antioxidantes, 8-isoprostaglandina F2 alfa (8-iso-PGF2α) e malondialdeído (MDA) e atividade eritrocitária de glutatona (GSH), glutatona peroxidase (GPx), SOD e catalase. Observou-se que os níveis de vitaminas A, C e E, estavam reduzidas de forma significativa nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV2, quando comparados ao controle, respectivamente: vitamina A, µg/dL (26,5±2,3 e 28,0±1,1, p<0,001); vitamina C, mg/ dL (0,33±0,43 e 0,44±0,32, p<0,001); vitamina E, mg/ dL (0,63±0,05 e 0,87±0,06, p<0,001). as enzimas antioxidantes, em pacientes com COVID-19 e grupo controle, também diminuíram nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV2, respectivamente: GSH, mg/gHb (2,1±0,39 e 2,7±0,24, p<0,001); GPx, U/gHb (32,5 ± 2,3 e 38,5 ± 2,8, p<0,001); SOD U/mL (1,73 ± 0,39 e 2,84 ± .38). A exceção é a Catalase, a qual estava significativamente aumentada em pacientes com COVID-19, UM/L (112,5 ± 3,0 e 109,0 ± 4,3, p<0,001). Em relação aos elementos antioxidantes, estes também estavam reduzidos de forma significativa nos pacientes acometidos pelo SARS-CoV2, quando comparados ao controle, respectivamente: Manganês, mg/ dL (1,64 ± 0,36 e 2,10 ± 0,35, p<0,001); Selênio ng/dL (25,3 ± 2,4 e 29,1 ± 1,9, p=0,000); Cobre, µg/dL (128,3 ± 7,7 e 136,5 ± 5,3, p<0,0001). Enquanto os marcadores da produção de radicais livres, em pacientes com COVID-19 e grupo controle, respectivamente, estavam aumentados nos pacientes com COVID-19: MDA, (4,9 ± 0,5 mmol/L, 3,4 ± 0,21 mmol/L, p<0,001); 8-iso-PGF2α (83,2 ± 7,2 pg/ mL, 54,6 ± 5,9 pg/mL, p=0,049).</p>
<p><i>Cekerevac et al.</i>¹⁵</p> <p>2021</p> <p>Sérvia</p>	<p>Classificação Clínica:</p> <p>Total: 127</p> <p>Leve (H/M): 11/6</p> <p>Moderado (H/M): 27/13</p> <p>Grave (H/M): 49/21</p> <p style="text-align: right;">Leve - Mod.</p> <p>- Grave</p> <p>Idade</p> <p>59,2 49,6 61,9</p> <p>Comorb. (H/M)</p> <p>Tabagismo:</p> <p>HAS:</p> <p>DM:</p> <p>Obesidade:</p> <p>DPOC: Malignidade:</p> <p>13/4 - 34/6 - 63/7</p> <p>8/9 - 29/11 - 23/47</p> <p>11/6 - 34/6 - 51/19</p> <p>12/5 - 36/4 - 58/12</p> <p>16/1 - 38/2 - 67/3</p> <p>16/1 - 39/1 - 68/2</p>	<p>O estudo avaliou os pacientes que testaram positivo para o vírus SARS-CoV 2, classificados em COVID leve, moderado e grave conforme a OMS, com a finalidade de avaliar preditores de severidade e de desfecho final. Quanto às diferenças entre os grupos, observou-se maior presença de comorbidades no grupo com COVID severa. Quanto aos fatores pro-oxidantes avaliados, a quantidade de superóxido (O₂⁻) sérico observada nos grupos com COVID leve (3,5 nmol/ml) moderado (4,84 nmol/ml) e grave (11,3) cursou com com diferença estatística entre os três grupos (p<0,001). Adicionalmente, as concentrações de óxido nítrico (NO⁻) (3,03 ; 3,2 e 2,66 nmol/ml ; p<0,001) apresentaram diferença significativa apenas entre os grupos COVID leve e severo e COVID moderado e severo. Os níveis de H₂O e o grau de peroxidação lipídica no plasma, não apresentaram diferença relevante entre os grupos.</p> <p>Dentre os parâmetros antioxidantes avaliados, apenas a enzima catalase (CAT) exibiu diferencial significativo comparando todos os grupos entre si (leve= 0,79; moderado= 0,68; e grave= 1,15 U/ Hb*10³ ; p=0,001), sem significância encontrada nas medidas de superóxido dismutase (SOD) e Glutaciona redutase (GSH). Quanto à relação entre variáveis dependentes por meio do teste de correlação de Pearson, constatou-se associação negativa entre os níveis de NO⁻ e tempo de internação em UTI (R= -0,243 e p=0,01) e de permanência hospitalar (R= -0,185 e p=0,05). Finalmente, a avaliação de preditores de severidade do quadro por meio de regressão linear constatou que o O₂⁻ apresentou associação positiva com a variável independente de gravidade do quadro clínico (coeficiente padronizado beta de 0,565 ; p<0,001).</p>

continua

continuação

Autor/ano/local	Número de participantes/grupos	Resumo dos achados
<p><i>Meyer et al.</i>¹⁶</p> <p>2021</p> <p>EUA</p>		<p>O estudo experimental avaliou o impacto da infecção pelo vírus SARS-CoV-2 sobre culturas de células hepáticas epiteliais (Huh7.5) e pulmonares epiteliais transformadas do pulmão humano (A549) transfectadas (grupo infectado) ou não (grupo controle) com o vírus da COVID-19, de células hepáticas endoteliais sinusoidais (TMNK-1) e células endoteliais de veias umbilicais humanas (EAhy926) expostas às células infectadas. Os autores analisaram a sinalização celular, sinais de senescência celular, produção de EROs e de moléculas de adesão endotelial, assim como impacto de inibidores de vias de sinalização sobre as variáveis analisadas.</p> <p>Os resultados demonstraram um aumento de aproximadamente três vezes na quantidade de EROs intracelular das células pulmonares transfectadas (A549), quando comparadas às células não infectadas ($p < 0,005$), do mesmo modo, aferiu-se quantidades de EROs de 1,8 a 2 vezes maiores nas células as células endoteliais (TMNK-1 e EAhy926) expostas à cultura transfectada se comparadas àquelas expostas ao meio de cultura controle ($p < 0,05$). Ademais, quando as células endoteliais foram tratadas com inibidores da IL-6 (tocilizumabe) ou da tirosina quinase de Bruton (zanubrutinib), que atua no desenvolvimento e ativação de linfócitos B, os autores constataram quantidades de EROs intraendoteliais semelhantes aos das culturas do grupo controle.</p>
<p><i>Mortaz et al.</i>¹⁷</p> <p>2020</p> <p>Irã</p>	<p>Total: 18 Controle: 4 Hipóxia sem COVID-19: 2 Idade: 41-42 Sexo masc: 2 COVID: 14 Idade: 21-80 Sexo masc: 8 IOT: 7</p>	<p>O estudo analisou a função do NO na fisiopatologia da COVID-19, por meio da determinação de níveis intracelulares de NO em pacientes com COVID-19, e em pacientes saudáveis, com e sem hipóxia. Os pacientes com COVID-19 apresentaram DHL mais elevada, picos de PCR, e contagens reduzidas de linfócitos em relação ao grupo controle, não sendo possível concluir se houve significância estatística, visto que o p-valor não é citado. A determinação do NO intracelular foi realizada a partir de eritrócitos, e corados com 4-amino-5-metilamino-2', 7'-difluorofluoresceína (DAF-FM DA); os níveis de NO intracelular apresentaram-se elevados nos pacientes com COVID-19 relação ao grupo controle com e sem hipóxia.</p>
<p><i>Arcanjo et al.</i>¹⁸</p> <p>2020</p> <p>Brasil</p>	<p>Total: 20 COVID: 20 Idade: 18-83 Sexo masc:12 Sexo fem.:8 Classificação Clínica: Moderada: Grave:20 Comorbidades: DM: 10 HAS:12 DPOC:1 Obesidade:7</p>	<p>O estudo avaliou amostras séricas de 20 pacientes com COVID-19 na fase aguda da doença para verificar se a infecção pelo SARS-CoV-2 estimula a formação de ERO's e de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), mediante processo de netose.</p> <p>Os critérios para confirmação de infecção aguda incluíram o resultado positivo de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-PCR), a partir de amostras de esfregaço nasofaríngeo. A leitura de fluorescência para análise de EROs e da atividade dos neutrófilos foi realizada por meio de métodos específicos.</p> <p>Nesse estudo constatou-se que nas amostras com a presença de SARS-CoV-2 houve indução do processo de netose em comparação ao controle ($p \leq 0,0001$), assim como a produção e liberação de EROs pelos neutrófilos ($p \leq 0,05$).</p>
<p><i>Karkhanei et al.</i>¹⁹</p> <p>2021</p> <p>República da Macedônia do Norte</p>	<p>Total: Controle: 19 Idade ≤ 60: 10 (55,56%) Sexo masc: 11 (61,11%) COVID: 96 Classificação Clínica: n-UTI*: 35 Idade ≤ 60: 12 (34,29%) Sexo masc: 13 (37,14) Óbitos: 0 (0%) UTIsIE*: 24 Idade ≤ 60: 11 (45,83%) Sexo masc: 16 (66,67) Óbitos: 6 (25,00%) UTIcIE*: 19 Idade ≤ 60: 4 (21,05%) Sexo masc: 9 (47,37) Óbitos: 15 (78,95%)</p>	<p>O estudo analisou os níveis de glutathiona, Poder Antioxidante Total (PAT) e o status oxidante total (SOT) entre pacientes com COVID-19, internados, os quais foram estratificados conforme a gravidade do quadro clínico (pacientes não-Unidade de Terapia Intensiva (UTI), UTI sem intubação endotraqueal (UTIsIE) e com intubação endotraqueal (UTIcIE)), e pacientes saudáveis, sem doença.</p> <p>Os níveis do Status oxidante total (SOT) foram significativamente maiores nos grupos com COVID-19, (n-UTI: $15,40 \pm 2,94$; UTIsIE: $28,13 \pm 4,87$; UTIcIE: $82,89 \pm 8,49$; GC: $1,28 \pm 0,75$; p-valor $< 0,001$); o medida média de GSH estava reduzida de forma significante em relação ao grupo controle saudável (n-UTI: $227,03 \pm 36,91$; UTIsIE: $134,54 \pm 38,11$; UTIcIE: $102,11 \pm 36,86$; GC: $374,94 \pm 41,15$; p-valor: $< 0,001$). Na medida do PAT, a comparação entre GC e não-UTI não apresentou diferença estatística (GC: $66,72 \mu\text{mol/dL}$ e n-UTI: $50,26 \mu\text{mol/dL}$). Entretanto, houve diferença estatisticamente significativa entre o GC e demais grupos (UTIsIE: $519,26 \mu\text{mol/dL}$ e UTIcIE: $310,00 \mu\text{mol/dL}$) ($p < 0,001$). As medidas das relações SOT/GHS (n-UTI: $0,070 \pm 0,018$; UTIsIE: $0,224 \pm 0,069$; UTIcIE: $0,907 \pm 0,331$; GC: $0,003 \pm 0,002$; $p < 0,001$) e SOT/ PAT (n-UTI: $0,323 \pm 0,106$; UTIsIE: $0,061 \pm 0,025$; UTIcIE: $0,306 \pm 0,129$; GC: $0,019 \pm 0,011$; $p < 0,001$), foram maiores nos pacientes com COVID-19.</p>

continua

continuação

Autor/ano/local	Número de participantes/grupos	Resumo dos achados
Badawy et al. ²⁰ 2021 Egito	Total: 35 Controle: 10 COVID: 25 Classificação Clínica: Grave óbitos (GO): 14 Idade: 68,9 Sexo masc: 53,14% Comorbidades: DM: 50% HAS:42,8% Grave sobreviventes (GS): Idade:62,6 Sexo masc: 54,54% Comorbidades: DM: 58,18% HAS: 27,27%	O estudo analisou amostras sanguíneas de pacientes internados, com COVID-19 na forma grave, com a finalidade de avaliar o grau de lesão e o estado de configuração da albumina sérica por meio da ressonância paramagnética eletrônica (RPE), marcadores do estresse oxidativo e compará-los aos do grupo controle sem doença. A medida da albumina sérica (g/ml) não foi estatisticamente significativa entre os grupos com doença grave que sobreviveram e e aqueles que evoluíram a óbito, respectivamente (31,8; 26,9; p-valor: 0,067); A PCR (mg/L) apresentou-se elevada no grupo com doença grave que teve desfecho fatal, em comparação ao que sobreviveu (90,6; 39,9; p-valor =0,05). Quanto à contagem de neutrófilos, esta mostrou-se significativamente maior nos grupos com doença grave que teve desfecho fatal e no que sobreviveu, em comparação ao grupo saudável controle (76,4 ± 6,8, n = 11); (64,0 ± 20,0, n=10); (40,78 ± 14,0, n=9); (p<0,001). A determinação dos níveis de H ₂ O ₂ apresentou-se significativamente maior grupo com doença grave que evoluiu com desfecho fatal e no que sobreviveu, em comparação ao grupo saudável controle (Controle: n=7: 2,57±0,57, GS: n=6: 5,37±1,0; GO: n=7: 8,8 ± 1,7; p-valor da ANOVA = 1,15 × 10 ⁻⁷). Quanto à albumina (mg/mL), os paciente que faleceram apresentaram hipoalbuminemia leve em relação aos outros grupos (Controle: n=8: 40,45±10,93, GS: n=8: 30,66±10,99; GO: n=10: 24,71±5,88; p-valor= 0,006) Os autores constataram também que os marcadores de estresse oxidativo mostraram-se relacionados aos danos estruturais encontrados na albumina pela espectroscopia da RPE, e que as mudanças biofísicas das alterações estruturais da albumina, razão entre as ligações proteicas (S/W)apresentaram associação significativa com a letalidade dos pacientes (p = 0,008), quanto menor a S/W maior a letalidade. A partir dos resultados estabeleceram uma razão entre a S/W da albumina e o H ₂ O ₂ que originou um escore de risco, o qual permitiu a previsão de 100% dos óbitos, em comparação à utilização isolada da S/W.
Zendelovska et al. ²¹ 2021 Macedônia do Norte	Total: 70 Controle: 20 COVID: 50 Idade: 56 (18-79) Classificação Clínica: Moderada: 20 Grave:30	O estudo avaliou marcadores de estresse oxidativo no sangue de pacientes internados com COVID-19, estratificados em doença moderada (sinais de pneumonia, SpO ₂ > 90% em ar ambiente) e grave (SpO ₂ < 90%, taquipneia : 30 IRPM ou presença de comprometimento respiratório grave), e comparou com o grupo controle saudável; também comparou intragrupos e intergrupos, os níveis desses marcadores medidos à admissão e à alta dos pacientes. No grupo moderado, à admissão: (PAT: 2887±102,1; p=0,0004; PP: 431,2±25,25 p=0,0001); (IEO: 94.2±13.9 p=0,0001). À alta do grupo com doença moderada: (PAT: 2673±160,6; p=0,1325); (PP: 334,3±13,87; p=0,0002); (IEO: 52,25±5,60; p=0,0001). O grupo grave, à admissão: (PAT : 2801±85,86 p=0,0008); (PP : 413±17,28 p=0,0001); (IEO: 84,03±8.86 p=0,0001), à alta (PAT: 2652±148,8; p=0,0043); (PP: 325,3±22,46; p=0,0019); (IEO: 43,40±10,87 p=0,005). No grupo grave, os pacientes que evoluíram a óbito após a 2º coleta de sangue: (PAT: 2186±233,2; p=0,2497); (PP: 462,4±28,04; p=0,0001); (IEO: 107,8±18,20; p=0,0001). Estes grupos foram comparados com indivíduos saudáveis (PAT: 2406±71,5; PP: 271±5,590; IEO: 21±2,527). Demais parâmetros preditores do curso da enfermidade foram avaliados nos grupos moderados e grave com COVID-19, e comparados com o grupo controle saudável. À admissão constatou-se que a proteína C reativa (PCR), razão neutrófilo-linfócito (RNL), e desidrogenase láctica (DHL) apresentaram-se em níveis mais elevados nos grupos com doença, do que no grupo controle. Grupo moderado (PCR: 44,1 ± 6,46; RNL: 6,47 ± 1,64; DHL: 280,3 ± 25,27; p<0,05); grupo grave (PCR: 113 ± 17,85; RNL: 20,23 ± 2,06; DHL: 800 ± 60,27; p < 0,0001); grupo grave que evoluiu a óbito (PCR: 127 ± 33,49; RNL: 44,72 ± 10,49; DHL: 827,2 ± 130,6; p<0,05); valores de referência (PCR: 0–10; RNL: 120–246; DHL: < 3,0).

Fonte: Dados dos autores

Legenda:* DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica; DCV: Doença cardiovascular; EROs: Espécies reativas de oxigênio IEO: Índice de estresse oxidativo; PAT: Poder antioxidante total; PP: Peróxidos plasmáticos; UTI: Unidade de Terapia Intensiva; n-UTI: Não-Unidade de Terapia Intensiva; UTIsIE: UTI sem intubação endotraqueal; UTIsIE: UTI com Intubação endotraqueal;

Níveis de elementos ligados ao estresse oxidativo

Kalem et al.¹² constataram que quantidades séricas de Tiol Nativo (TN), Tiol Total (TT) e dissulfetos (SS), formas oxidadas do tiol, relacionaram-se significativamente à infecção e à gravidade do quadro clínico de COVID-19. Estes autores aferiram níveis de TT e TN estatisticamente diminuídos em pacientes com COVID-19 leve a moderada e grave em comparação com o grupo controle (p-valor<0,001). Quanto aos níveis de SS, apresentaram-se elevados no grupo COVID-19 leve a moderada (22,50 ± 6,19 µmol/L) em comparação ao grupo controle (19,69 ± 4,91 µmol/L ; p=0,004) e ao grupo portador de COVID-19 grave (17,54 ± 5,83 µmol/L ; p<0,001)¹².

Dominic et al.¹³ demonstraram que a nitrotirosina, um

marcador de lesão celular e inflamação, apresentou-se em níveis elevados no plasma de pacientes acometidos por COVID-19 (107,049 nM), em comparação ao grupo controle (44,7606 nM), (p-valor < 0,0001), o que indica um aumento no grau de EO associado ao incremento no processo de nitratação da tirosina por espécies reativas de nitrogênio (ERNs) nesses pacientes¹³.

Muhammad et al.¹⁴ constataram que o marcador oxidativo 8-isoprostaglandina F2 alfa (8-iso-PGF2α) apresentou níveis elevados em pacientes com COVID-19 (83,2 pg/mL), e menores no grupo controle (54,6 pg/mL), (p-valor = 0,049). Assim também, outro marcador oxidativo, o Malondialdeído (MDA), mostrou-se aumentado (4,9 mmol/L) nos pacientes com COVID-19, quando comparados ao grupo controle (3,4 mmol/L)¹⁴.

Níveis de espécies reativas de oxigênio e outros marcadores do estresse oxidativo

Cekerevac et al.¹⁵ em um estudo realizado em pacientes com as formas leve (n=17), moderada (n=40) ou grave (n=70) de COVID-19, foram avaliados fatores antioxidantes enzimáticos (catalase - CAT, superóxido dismutase - SOD, glutatona reduzida - GHS) e índice de peroxidação lipídica e medição da concentração de EROs (O_2^- , H_2O_2 e NO^\cdot). Os resultados revelaram que os níveis séricos de O_2^- (leve: 3,5; moderada: 4,84; grave: 11,3 [nM/mL]); mostraram-se mais elevados em pacientes graves ($p \leq 0,001$), constituindo um provável preditor da gravidade de COVID-19. Quanto aos níveis de NO^\cdot (leve: 3,03; moderada: 3,2; grave: 2,66 [nM/mL]) apresentaram-se mais elevados em pacientes com quadro clínico moderado ($p \leq 0,001$) e associaram-se de forma inversamente proporcional ao tempo de internação e permanência em UTI ($p = 0,01$)¹⁵.

Em pesquisa experimental, foram analisadas células pulmonares epiteliais transformadas do pulmão humano (A549), células hepáticas epiteliais (Huh7.5), células hepáticas endoteliais sinusoidais (TMNK-1) e células endoteliais de veias umbilicais humanas (EAhy926). Os resultados demonstraram elevação na quantidade de EROs intracelular, com as células A549 transfectadas com a proteína spike SARS-CoV-2 apresentando por volta de três vezes o valor medido nas células controle não transfectadas ($p < 0,005$) e também, resultando em um incremento de aproximadamente o dobro de EROs nas células endoteliais transfectadas (TMNK-1 e EAhy926) em comparação ao meio de cultura controle ($p < 0,05$)¹⁶.

O estudo de caso controle, realizado por Mortaz et al.¹⁷, com 14 pacientes diagnosticados com COVID-19 e acometimento pulmonar, 2 com hipóxia sem COVID-19 e 2 indivíduos saudáveis, constatou uma elevação na quantidade de óxido nítrico nas hemácias de pacientes com COVID-19 ($p \leq 0,05$) em comparação ao grupo controle com e sem hipóxia sem COVID-19¹⁷.

Arcanjo et al.¹⁸ realizaram estudo comparativo de doadores sem COVID-19 com de 20 pacientes com COVID-19 na fase grave da doença, no qual a identificação de EROs foi detectada por sonda de diacetato de diclorodi-hidrofluoresceína (Invitrogen). Os resultados demonstraram que o SARS-CoV-2 induziu os neutrófilos à produção de EROs, produção esta relacionada ao processo de netose dos neutrófilos¹⁸.

Níveis de fatores antioxidantes

Muhammad et al.¹⁴ estudaram os níveis séricos de vitaminas e outros fatores antioxidantes entre pacientes com COVID-19 e grupo controle. Constataram que vitamina A (26.5 μ g/dL e 28.0 μ g/dL, $p < 0,001$), vitamina E (0.63 mg/dL e 0.87 mg/dL, $p < 0,001$), vitamina C (0.33 mg/dL e 0.44 mg/dL, $p < 0,001$) GSH (2.1 mg/gHb e 2.7 mg/gHb, $p < 0,001$), Glutaciona Peroxidase (GPx) (32.5 U/gHb e 38.5 U/gHb, $p < 0,001$) e SOD (1.73 U/mL e 2.84 U/mL) Manganês (1.64 mg/dL e 2.10 mg/dL, $p < 0,001$), Selênio (25.3 ng/dL e 29.1 ng/dL, $p = 0,000$) e Cobre (128.3 μ g/dL e 136.5 μ g/dL, $p < 0,0001$) apresentaram níveis séricos significativamente diminuídos em

pacientes com COVID-19 em comparação ao grupo controle. Entretanto, quanto aos níveis de cromo, não houve diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos (2.2mg/ L e 2.2 mg/ L, $p = 0,605$).

Karkhanei et al.¹⁹ realizaram um estudo comparativo que avaliou 96 pacientes internados e diagnosticados com COVID-19, estratificados em: pacientes não-Unidade de Terapia Intensiva (UTI), UTI sem intubação endotraqueal (UTIsIE) e com intubação endotraqueal (UTIsIE). Estes pacientes foram comparados a um grupo controle (GC) para a análise dos níveis de GHS, do Poder Antioxidante Total (PAT) e do status oxidante total (SOT), marcadores estes calculados utilizando os kits ELISA disponíveis comercialmente conforme as instruções da empresa. Níveis significativamente decrescentes de GHS (GC:374,94; Não-UTI:227,03; UTIsIE:134,54 e UTIsIE:102,11 [mmol/ml]) ($p < 0,001$) e crescentes do status de oxidação total (GC: 1,28; Não-UTI: 15,4; UTIsIE: 28,13 e UTIsIE: 82,89 [mmol/mL]) ($p < 0,001$) foram observados de acordo com a gravidade do quadro clínico. Quanto ao PAT, a comparação entre GC e não-UTI não apresentou diferença estatística significativa (GC: 66,72 μ mol/dL, não-UTI: 50,26 μ mol/dL, e p -valor = 0,09). Entretanto, houve diferença estatística significativa a comparação entre o GC e demais grupos (UTIsIE: 519,26 μ mol/dL e UTIsIE: 310,00 μ mol/dL) ($p < 0,001$)¹⁹.

Estresse oxidativo como preditor do risco de morte/desfecho clínico

Karkhanei et al.¹⁹ também mediram as razões SOT/PAT (GC:0,019; Não-UTI:0,323; UTIsIE:0,061; UTIsIE:0,306; e $p < 0,001$) e razão entre SOT e GHS, (GC:0,003; Não-UTI:0,07; UTIsIE:0,224; UTIsIE:0,907; e $p < 0,001$), a partir das quais infere-se que pode haver uma relação positiva entre a gravidade da doença e o aumento das razões, pois nos grupos Não-UTI e no UTIsIE, houve aumento de fatores oxidantes e diminuição dos antioxidantes. Todavia essa relação positiva não se apresentou com um crescimento linear entre todos os grupos, uma vez que o grupo UTIsIE apresentou um valor baixo, e com maior proximidade do GC, do que dos altos valores dos grupos não-UTI e UTIsIE. Ademais, a relação entre ambas as variáveis e o desfecho clínico também demonstram resultados relevantes, entre os pacientes falecidos e que tiveram alta, com as razões SOT/PAT de 0,318 e 0,063 e SOT/GHS de 0,59 e 0,031, respectivamente ($p < 0,001$)¹⁹.

Alterações na estrutura e funcionalidade da albumina foram avaliadas na forma de razão entre a disponibilidade das possibilidades de ligações fortes e fraca (S/W, do inglês Strong/Weak) respectivamente. Constatou-se que a diminuição da razão S/W apresentou-se significativamente relacionada à letalidade (COVID-19: 18,2%; GC: 81,8%; $p = 0,008$). Também verificou-se que a razão entre S/W e a quantificação do H_2O_2 ([S/W]/ $[H_2O_2]$), permitiram prever 100% dos óbitos nos pacientes com COVID-19. Assim também, pacientes acometidos por COVID-19 e altos níveis de H_2O_2 apresentaram alterações na estrutura e funcionalidade da albumina em torno de 83.3% quando comparados aos controle (16.7%, $p = 0,049$)²⁰. Desta forma, há evidências que o acúmulo de EROs, somado ao

dano estrutural à albumina, parecem estar associados a um pior prognóstico e maior letalidade²⁰.

O estudo de coorte realizado por Zendelovska et al.²¹ analisou dados de pacientes com COVID-19, classificados em formas moderada (sinais de pneumonia, SpO₂ > 90% em ar ambiente) e grave (SpO₂ < 90%, taquipneia: 30 IRPM ou presença de comprometimento respiratório grave) e comparou-os aos de um grupo controle saudável. Entre os participantes foram, respectivamente, medidos à admissão com COVID-19 moderada e grave, entre outros, os valores de Peróxidos Plasmáticos (PP) (PP= 431,2 p=0,000 e PP= 413 p=0,0001). Adicionalmente, avaliou-se o Índice de Estresse Oxidativo (IEO), calculado automaticamente pelo espectrofotômetro com os valores de referência e os valores obtidos de PP e PAT, (IEO= 94,2 p=0,0001) e (IEO=84.03 p=0,0001). Assim, os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Constatou-se, também que quer os casos moderados quer os graves apresentaram níveis significativamente elevados de PP e IEO se comparados aos valores do grupo controle saudável (PP= 271, IEO= 21, p=0,0001)²¹. Apesar do grupo COVID moderado apresentar marcadores de EO mais elevados que o grupo COVID grave, tanto na admissão quanto na alta, dentre os casos graves que evoluíram para o óbito, os marcadores de EO mostraram-se significativamente mais elevados que no grupo moderado (PP: 462, p=0,0001, t-teste; IEO: 107,8; p=0,0001, t-teste).

Outros achados relevantes ligados à história natural da doença

Zendelovska et al.²¹ também avaliaram, entre portadores de COVID-19 e indivíduos saudáveis, marcadores séricos de estresse oxidativo considerados preditores do curso da enfermidade, como a proteína C reativa (PCR); razão neutrófilo-linfócito (RNL) e desidrogenase láctica (DHL). À admissão dos pacientes com doença moderada, caracterizada por sinais clínicos de pneumonia, porém não grave e SpO₂ > 90% no ar ambiente, constataram níveis séricos de PCR= 44,1 (mg/L), RNL= 6,47 e DHL= 280,3 (IU/mL). Entre os pacientes com doença grave, com SpO₂ <90% no ar ambiente, frequência respiratória >30 respirações/minuto ou presença de grave desconforto respiratório, constataram níveis de PCR= 113 (mg/L), RNL= 20,23 e DHL= 800 (p<0.05, entre grupo moderado e grave). Quanto às dosagens realizadas entre os pacientes que evoluíram a óbito, os autores observaram um aumento desses parâmetros em comparação ao grupo de indivíduos saudáveis (PCR= 127 (mg/L); RNL= 44,72; DHL= 827,2 (IU/mL); p<0.05)²¹.

DISCUSSÃO

Efeitos deletérios do acúmulo das EROs sobre o organismo e sua relação com a COVID-19

O EO resultante da geração excessiva de EROs, está presente na COVID-19 e associa-se a processos desenvolvidos durante a infecção, possivelmente influenciando a patogênese da

doença e, provocando efeitos deletérios para as células e tecidos infectados. Desta forma, torna-se possível a consideração que o aumento do EO eleva o grau de gravidade da COVID-19^{1,22}.

Além disso, a exacerbação de EROs pode acarretar o comprometimento de componentes celulares, bem como a desregulação da funcionalidade das hemácias, estimulando a oxidação de ácidos graxos na membrana destas células e consequentes modificações na difusão de O₂ e CO₂ e deformabilidade nos capilares. Dessa forma, o excesso de EROs aumenta o risco de trombocitose e compromete a liberação de ATP e NO⁻, que interfere em reações metabólicas, além de desestabilizar a homeostase do ferro²³.

NO⁻ e sua função na fisiopatologia na COVID-19

O NO⁻ é um radical livre, altamente instável e reativo, dotado de potencial capacidade de desencadear lesão estrutural em proteínas, DNA e membrana plasmática, ações estas que resultam em EO²³. Entretanto o NO⁻ também apresenta funções fisiológicas relevantes no sistema imunológico. Diversos estudos demonstraram atividade dessa molécula contra vírus (e.g., HIV, herpes simplex-1, influenza). A interação com esses ocorre através da nitrosilação de cisteinil proteases virais, atividade essa que também parece ocorrer contra o SARS-CoV-2^{24,25}.

Apesar de o NO⁻ estar relacionado a complicações vasculares em infecções virais, como na dengue, a função fisiológica como vasodilatador apresenta-se mais relevante. Desse modo, o NO⁻ exógeno foi proposto como terapia para pacientes de COVID-19 que apresentam hipertensão pulmonar e elevado shunt intrapulmonar, prejudiciais ao processo de hematose. Essa proposta terapêutica demonstrou-se eficaz em reduzir a pressão arterial pulmonar sistólica e aumentar a saturação periférica de oxigênio em um estudo realizado com pacientes graves de COVID-19 tratados com NO⁻ inalatório²⁶.

Relação entre os neutrófilos, linfócitos e EROs

Na vigência de uma infecção, os neutrófilos constituem a primeira linha de defesa do organismo. Na infecção pelo SARS-CoV-2, ocorre leucocitose neutrofílica com infiltração máxima nos capilares pulmonares^{1,21}. A ativação desses neutrófilos contra o vírus inclui o aumento da produção de EROs, como o radical superóxido O₂⁻, o qual apesar de não ser tão reativo, pode originar espécies altamente reativas, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que ao se ligar ao ferro apresenta toxicidade incrementada, e o radical hidroxila (OH[•]), o qual é mais instável^{1,27}. Além disso, constatou-se a ocorrência de linfopenia durante o curso da doença, que somada à neutrofilia, constituem alterações hematológicas relevantes na estimativa da mortalidade hospitalar^{23,28}

A relação entre uma alta razão neutrófilo-linfócito (RNL) e um maior risco no início da infecção foi identificada em pacientes com COVID-19. A presença de linfopenia associa-se a uma resposta imunológica inadequada, enquanto que a neutrofilia pode ser reflexo de uma resposta inflamatória exacerbada. Dessa forma, a identificação antecipada dessas características torna-se relevante para que haja uma intervenção precoce e prevenção de

um quadro clínico de maior gravidade^{22,23,29}.

Estudos que monitoraram a RNL evidenciaram que quanto mais acentuadas a neutrofilia e a linfopenia, encontradas em pacientes com quadros de maior gravidade, maior a probabilidade do paciente evoluir para um desfecho desfavorável. Sendo assim, a RNL pode ser utilizada como uma preditora do desfecho fatal entre pacientes com COVID-19^{12,27,28}. Constataram, também, que idosos, e indivíduos portadores de comorbidades como obesidade, diabetes, câncer e aterosclerose, que apresentam níveis séricos elevados de citocinas pró-inflamatórias. Estes são mais propensos a apresentar um aumento na RNL, portanto, um pior prognóstico, pela probabilidade de aumento da gravidade da doença. Dessa forma, poderá haver evolução para o desfecho óbito, visto que, quanto maior a RNL, mais elevados serão os índices de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-10), que desencadeiam resposta inflamatória, com aumento de neutrófilos e estes, como resposta à virulência do SARS-CoV-2, aumentam a produção de radicais livres^{1,21,23}.

Glutationa reduzida e glutationa peroxidase: suas funções como fatores antioxidantes e relação com o COVID-19

A GSH e a Gpx são os constituintes do sistema antioxidante enzimático que possuem maior parcela do grupo tiol no meio intracelular. Quando a Gpx encontra um elemento oxidante, sua função é reduzi-lo, assim a GSH é oxidada a glutationa dissulfeto (GSSG), esta reação pode ser revertida por outros componentes do sistema redox, como glutationa redutase (Grd)^{1,30,31,32}.

Portanto infere-se que se houver um aumento na quantidade de substâncias oxidantes, o índice de GSH diminuirá e de dissulfeto (SS) aumentará, tornando célula mais suscetível ao dano oxidativo. Durante a infecção pelo SARS-CoV-2 constataram que a GSH e a Gpx apresentaram-se em menor quantidade em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 quando comparadas aos níveis dosados em indivíduos saudáveis (não UTI: 227,03; UTI_{SE}: 134,54; UTI_{CE}: 102,11; GC: 374,94; $p < 0,001$), demonstrando a ocorrência do possível dano oxidativo durante a doença^{12, 14,19,32,33}.

Desta forma, níveis reduzidos de tiol e elevados de SS podem estar relacionados à gravidade da infecção. Portanto, estes resultados corroboram a suposição de que o EO mostra-se relevante na fisiopatologia da COVID-19^{12,14,19}.

Superóxido dismutase e catalase: ações como fatores antioxidantes e relação com a COVID-19

SOD e CAT são alguns dos principais agentes antioxidantes enzimáticos atuantes no organismo e responsáveis pelo retardo ou paralisação da oxidação de substratos oxidáveis. A SOD reduz as EROs mediante a retirada radical superóxido e a CAT atua combatendo o excesso de metemoglobina e degradando H_2O_2 . Entretanto, de maneira geral, a quantidade sérica dessas enzimas mostra-se inferior em pacientes com COVID-19 em relação a casos controle^{12, 34}. Vale ressaltar que em alguns estudos a CAT apresentou discreta elevação em pacientes com

a doença em relação ao grupo controle ou ausência de diferença estatística significativa, representando assim um contraponto a outros trabalhos avaliados^{14,15}.

Elementos minerais e vitaminas: funções antioxidantes

A deficiência de vitaminas e minerais, como a vitamina D (Vit D) e Mg, pode afetar negativamente a modulação do sistema imunológico. Assim também, a insuficiência de vitamina E (Vit E), um antioxidante lipofílico, compromete o sistema antioxidante não enzimático, que protege as células contra a peroxidação lipídica. No entanto, a infecção por COVID-19 pode desencadear depleção tanto de elementos microminerais (Zn e Cu) e macrominerais (Mg), como de vitaminas. A deficiência de Zn relacionou-se aos desfechos mais desfavoráveis; demonstraram, também, que pacientes graves apresentaram maior propensão ao esgotamento desses elementos quando comparados a indivíduos saudáveis^{12,35,36}. Desta forma, a reposição de vitaminas e minerais contribui para a homeostase do sistema redox por meio da ação dessas substâncias na atenuação da resposta inflamatória por apresentarem propriedades antioxidantes e alaborarem para desfechos clínicos mais favoráveis^{37,38}.

Alteração estrutural da albumina e estresse oxidativo

A albumina apresenta funções antioxidantes e antitrombóticas, com capacidade de sequestrar EROs, íons Fe^{2+} e outros elementos oxidantes presentes na corrente sanguínea, e em condições patológicas, torna-se essencial para a evolução clínica favorável do paciente³⁹. Entretanto, as funções biológicas da albumina são comprometidas, diante de processos inflamatórios graves, nos quais ocorre aumento da permeabilidade dos vasos com extravasamento desta para o meio extracelular e conseqüente diminuição da meia-vida. Esse mecanismo resulta em hipoalbuminemia, a qual pode contribuir para o agravamento do quadro clínico do paciente e potencial evolução a óbito, independentemente da patologia em questão⁴⁰.

Embora a albumina apresente ações antioxidantes sobre as EROs, estas também exercem influência sobre a albumina, oxidando-a e modificando sua estrutura, principalmente em condições de EO, a CAT e SOD não neutralizam o excesso de EROs⁴¹. Além da inflamação e o EO desencadearem hipoalbuminemia, a oxidação da albumina estimula a liberação de citocinas como a IL-6 e de moléculas de adesão leucocitária, o que gera um efeito pró-inflamatório sobre os tecidos, desencadeando um ciclo de agravamento da doença⁴². Este fenômeno manifesta-se também entre pacientes internados com COVID-19, pois estes apresentam maior risco de desenvolver sintomas graves, eventos trombóticos e evolução a óbito^{43,44}.

Poder antioxidante total, status oxidante total e peróxidos plasmáticos no estresse oxidativo

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), forma-se a partir da dismutação do radical superóxido O_2^- , pela SOD, e posteriormente é eliminado pela ação de outros antioxidantes, como a CAT e

GSH. Apesar do H_2O_2 não ser um radical livre, pois não possui elétron livre na última camada eletrônica, é altamente reativo, principalmente com metais de transição como o Ferro, que ao reagir forma um radical com alta reatividade, a HO. Desse modo, pacientes críticos com desfecho fatal, apresentaram PP elevado em comparação com pacientes moderados; o IEO, medido no espectrofotômetro comparando os valores de referência de PP e PAT àqueles apresentados pelos pacientes, mostraram-se quadruplicados durante a doença, significando a exacerbada ação de agentes oxidantes com depleção, de substratos antioxidantes. Acrescenta-se, também que o PAT apresentou-se aumentado em pacientes internados em UTI. Este resultado evidencia que o organismo demonstrou redução da capacidade da atuação sinérgica de elementos antioxidantes, pelo em função do aumento da atividade oxidante relacionada ao EO, que compromete a homeostasia e propicia um desfecho fatal^{19,21,45,46}.

Heterogeneidade dos métodos adotados para a medição dos níveis de estresse oxidativo

Diferentes métodos de análise foram utilizados pelas pesquisas para monitorar os dados relativos ao EO, as proteínas componentes do sistema enzimático e os elementos do sistema não enzimático. Alguns dos métodos utilizados foram o kit ELISA, o kit REDOX rápido, citometria e o método espectrofotométrico automatizado. Além desses, novos estudos estão utilizando diversas metodologias para identificar e quantificar o EO que ocorre durante a doença COVID-19 desencadeada pelo novo coronavírus. Desse modo, a utilização de distintas metodologias dificultou a comparação dos resultados entre os artigos, entretanto, apesar desta ressalva, evidenciou-se associação entre o nível de EO e a gravidade do quadro de clínico associado à COVID-19.

Contribuição dos autores: Paulo Fábio Lopes Azevedo: concepção e desenho, aquisição de dados, redação do manuscrito. José Felipe Teixeira Borges: concepção e desenho, aquisição de dados, redação do manuscrito. Micaella Yanne Fender Lobato: concepção e desenho, aquisição de dados, redação do manuscrito. Rita de Cássia Silva de Oliveira: concepção e desenho, revisão crítica do conteúdo e aprovação do manuscrito final.

REFERÊNCIAS

- Velloso JCR, Biavatti M, França PCO, Mello BJ de, Almeida AC de, Bueno GE. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte / oxidative stress: an introduction to the state of art. *Braz J Dev.* 2021;7(1):10152-68. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n1-688>.
- Almeida, LT. Avaliação do estresse oxidativo e defesas antioxidantes na infecção pelo zika virus (Flaviviridae) [Tese - Doutorado]. Ouro Preto(MG): Universidade Federal de Ouro Preto, 2020.
- Souto MD, Xavier DE de F, Dourado KF, de Moura MWS, de Aguiar GB, de Andrade MIS, et al. Níveis de albumina sérica e o desfecho de pacientes internados com COVID-19 no estado de Pernambuco. *Braz J Develop.* 2022;8(9):64929-47. Doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n9-300>.
- Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* [Internet]. 2006. 29(1):113–23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>.
- Sharif-Askari NS, Sharif-Askari FS, Mdkhana B, Hussain Alsayed HA, Alsafar H, Alrais ZF, et al. Upregulation of oxidative stress gene markers during SARS-COV-2 viral infection. *Free Radic Biol Med.* agosto de 2021;172:688–98. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.018.
- Delgado-Roche L, Mesta F. Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection. *Arch. Med. Res.* julho de 2020;51(5):384–7. DOI: 10.1016/j.arcmed.2020.04.019.
- Mueller AL, McNamara MS, Sinclair DA. Why does COVID-19 disproportionately affect older people? *Aging.* 29 de maio de 2020;12(10):9959–81. DOI: 10.18632/aging.103344.
- Scholz JR, Lopes MACQ, Saraiva JFK, Colombo FC. COVID-19, Renin-Angiotensin System, Angiotensin-Converting Enzyme 2, and Nicotine: What is the Interrelation? *Arq. Bras. Cardiol.* 13 de outubro de 2020;115(4):708–11. DOI: 10.36660/abc.20200653.
- Oliveira YPA. O papel de ros (espécies reativas de oxigênio) na exacerbção da resposta inflamatória na sepse [Dissertação - Mestrado]. Salvador(BA): Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2011.

Limitações dos estudos

As pesquisas realizadas apresentaram limitações quantitativas, relativas ao tamanho amostral, dada a situação de emergência durante a pandemia de COVID-19. Estudos foram desenvolvidos com reduzido número de pacientes porque foram realizados em um curto período, e alguns não tiveram a possibilidade de comparar os resultados com grupos controle. Desta forma, torna-se imprescindível que estes estudos sejam continuados, nos diversos locais em que foram realizados pós-pandemia, de formas retrospectiva e prospectiva, com maiores tamanhos amostrais, para que seja possível confirmar ou não os resultados constatados durante a pandemia.

CONCLUSÃO

Portanto, o EO desempenha relevante função na fisiopatologia da COVID-19 e níveis elevados de marcadores a ele relacionados, como alterações nas concentrações EROs, enzimas e substratos antioxidantes que aliados à resposta inflamatória individual (RII), podem estar relacionados à gravidade do quadro clínico dos pacientes. Desta forma, indivíduos que apresentam resposta imunológica ao vírus desproporcionalmente agressiva, produzem EROs em excesso, o que demanda maior atividade dos sistemas antioxidantes. Dessa maneira, como consequência desta atividade exacerbada, são ocasionados danos às proteínas, lipídios e material genético e consequente agravamento do quadro inflamatório instalado. Sendo assim, instala-se um ciclo de desequilíbrio entre ES e RII que resulta em deterioração progressiva do quadro clínico dos indivíduos portadores de formas graves de COVID-19.

10. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Health Emergency Dashboard. 2021.
11. Hecke, OV, Lee J. N-acetylcysteine: A rapid review of the evidence for effectiveness in treating COVID-19. Oxford COVID-19 Evidence Service. 2020. <https://www.cebm.freeradbiomed.2021.01.044>.
12. Kalem AK, Kayaaslan B, Neselioglu S, Eser F, Hasanoglu İ, Aypak A, et al. A useful and sensitive marker in the prediction of COVID-19 and disease severity: Thiol Free Radic Biol Med. 2021;166:11-7. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.02.009.
13. Dominic P, Ahmad J, Bhandari R, Pardue S, Solorzano J, Jaisingh K, et al. A diminuição da disponibilidade de óxido nítrico e sulfeto de hidrogênio é uma marca registrada da COVID-19. Redox Biol [Internet]. 2021;43:101982. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2021.101982>
14. Muhammad Y, Kani YA, Iliya S, Muhammad JB, Binji A, El-Fulaty Ahmad A, et al. Deficiency of antioxidants and increased oxidative stress in COVID-19 patients: A cross-sectional comparative study in Jigawa, Northwestern Nigeria. SAGE Open Med. 2021;9:205031212199124. Doi: 10.1177/2050312121991246.
15. Cekerevac I, Turnic TN, Draginic N, Andjic M, Zivkovic V, Simovic S, et al. Predicting Severity and Intrahospital Mortality in COVID-19: The Place and Role of Oxidative Stress. Kocic G, organizador. Oxidative Med Cel Longev. 2021;1-15. Doi: 10.1155/2021/6615787.
16. Meyer K, Patra T, Mahantesh V, Ray R. SARS-CoV-2 spike protein expressing epithelial cells promotes senescence associated secretory phenotype in endothelial cells and increased inflammatory response. Immunology. 2021;195(17):1-12. Doi: 10.1128/JVI.00794-21.
17. Mortaz E, Malkmohammad M, Jamaati H, Naghan PA, Hashemian SM, Tabarsi P, et al. Silent hypoxia: higher NO in red blood cells of COVID-19 patients. BMC Pulm Med. 2020;20(1):269. Doi: 10.1186/s12890-020-01310-8.
18. Arcanjo A, Logullo J, Menezes CCB, Giangiarulo TCSC, dos Reis MC, de Castro GMM, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (COVID-19). Scient Rep. 2020;10(1). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76781-0>.
19. Karkhanei B, Talebi Ghane E, Mehri F. Evaluation of oxidative stress level: total antioxidant capacity, total oxidant status and glutathione activity in patients with COVID-19. New Microbes New Infect. 2021;42:100897. Doi: 10.1016/j.nmni.2021.100897.
20. Badawy MA, Yasseen BA, El-Messiery RM, Abdel-Rahman EA, Elkhodiry AA, Kamel AG, et al. Neutrophil-mediated Oxidative Stress and Albumin Structural Damage Predict COVID-19-associated Mortality. Infectious Diseases (except HIV/AIDS); 2021;10:e69417: 1-22. Doi: <https://doi.org/10.1101/2021.04.01.21254767>.
21. Zendelovska, D, Atanasovska E, Petrushevskaja M, Spasovska K, Stevanovikj M, Demiri I, Labachevski N. Evaluation of oxidative stress markers in hospitalized patients with moderate and severe COVID-19. Rom J Intern Med. 2021;59(4):375-83. Doi: 10.2478/rjim-2021-0014.
22. Gadotti AC, Lipinski AL, Vasconcellos FT, Marqueze LF, Cunha EB, Campos AC, et al. Susceptibility of the patients infected with Sars-Cov2 to oxidative stress and possible interplay with severity of the disease. Free Radic Biol Med. 2021;165:184-90. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.044.
23. Laforge M, Elbim C, Frère C, Hémadi M, Massaad C, Nuss P, et al. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. Nat Rev Immunol. 2020;20(9):515-6. Doi: 10.1038/s41577-020-0407-1.
24. Wu J. "Tackle the free radicals damage in COVID-19." Nitric oxide: Biol Chemist. 2020;102:39-41. Doi:10.1016/j.niox.2020.06.002
25. Lisi F, Zelikin AN, Chandrawati R. Nitric Oxide to Fight Viral Infections. Adv Sci (Weinh). 2021;9;8(7):2003895. PMID: 33850691; PMCID: PMC7995026. DOI: 10.1002/advs.202003895.
26. Feng WX, Yang Y, Wen J, Liu YX, Liu L, Feng C. Implication of inhaled nitric oxide for the treatment of critically ill COVID-19 patients with pulmonary hypertension. ESC Heart Fail. 2021;8(1):714-8. Doi:10.1002/ehf2.13023.
27. Martelli F, Nunes FMF. Radicais livres: em busca do equilíbrio. Cienc Cult. 2014;66(3):54-7. Doi: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>.
28. Zhang B, Zhou X, Zhu C, Song Y, Feng F, Qiu Y, et al. Immune phenotyping based on the neutrophil-to-lymphocyte ratio and IgG level predicts disease severity and outcome for patients with COVID-19. Front Mol Biosci. 2020;7:157. Doi: 10.3389/fmolb.2020.00157.
29. Alves JMR. Relação neutrófilo-linfócito e resposta imune como fatores de prognóstico para COVID-19. Rev Bras Anal Clin. 2020;52(2). Doi: 10.21877/2448-3877.20200014.
30. Souza LF. Modulação redox de peroxirredoxinas e a participação dos sistemas da GSH e da Trx na proteção/função celular [Tese - Doutorado]. Florianópolis(SC): Universidade Federal de Santa Catarina - Centro de Ciências Biológicas, 2017.
31. Rover Júnior L, Höehr NF, Vellasco AP, Kubota LT. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. Quím Nova. 2001;24(1). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100019>.
32. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. Rev Nutr. 2010;23(4):629-43. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>.
33. Cecchini R, Cecchini AL. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. Med Hypotheses. 2020;143:110102. Doi: 10.1016/j.mehy.2020.110102.
34. Carvalho LBV. Avaliação dos níveis de estresse oxidativo induzido por exposição ao mercúrio em população ribeirinha infantojuvenil do rio Madeira (RO) [Dissertação - Mestrado]. Rio de Janeiro(RJ): Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, 2016.
35. Silva AA, Gonçalves RC. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. Cienc Rural. 2010;40(4):994-1002. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000037>.
36. Sethuram R, Bai D, Abu-Soud HM. Potential role of zinc in the COVID-19 disease process and its probable impact on reproduction. Reprod Sci. 2022;29(1):1-6. Doi: 10.1007/s43032-020-00400-6.
37. DiNicolantonio JJ, O'Keefe JH. Magnesium and vitamin D deficiency as a potential cause of immune dysfunction, cytokine storm and disseminated intravascular coagulation in covid-19

- patients. *Mo Med.* 2021;118(1):68-73. PMID: 33551489. PMCID: PMC7861592
38. Lima WL, Batista MCC, Silvino VO, Moura RC de, Mendes IL, Moura MSB de. et al. Importância nutricional das vitaminas e minerais na infecção da COVID-19. *Res Soc Dev.* 2020;9(8). Doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.610>.
39. Chavarría AP, Vázquez RRV, Cherit JGD, Bello HH, Suastegui HC, Moreno-Castañeda L, et al. Antioxidants and pentoxifylline as coadjuvant measures to standard therapy to improve prognosis of patients with pneumonia by COVID-19. *Comput Struct Biotechnol J.* 2021;19:1379-90. Doi: 10.1016/j.csbj.2021.02.009.
40. Deng S, Liu S, Jin P, Feng S, Tian M, Wei P, Zhu H, Tan J, Zhao F, Gong Y. Albumin Reduces Oxidative Stress and Neuronal Apoptosis via the ERK/Nrf2/HO-1 Pathway after Intracerebral Hemorrhage in Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;1:1-14. Doi: 10.1155/2021/8891373.
41. Soeters PB, Wolfe RR, Shenkin A. Hypoalbuminemia: pathogenesis and clinical significance. *J Parenter Enter Nutr.* 2019;43(2):181-93. Doi: 10.1002/jpen.1451.
42. Roy D. Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischaemia modified albumin. *Heart.* 2006;92(1):113-4. Doi: 10.1136/hrt.2004.049643.
43. Magzal F, Sela S, Szuchman-Sapir A, Tamir S, Michelis R, Kristal B. In-vivo oxidized albumin– a pro-inflammatory agent in hypoalbuminemia. *PLoS One.* 2017;12(5):e0177799. Doi: 10.1371/journal.pone.0177799.
44. Kheir M, Saleem F, Wang C, Mann A, Chua J. Higher albumin levels on admission predict better prognosis in patients with confirmed COVID-19. *PLoS One.* 2021;16(3):e0248358. PMID: 33725003; PMCID: PMC7963065. Doi: 10.1371/journal.pone.0248358.
45. Acharya R, Poudel D, Bowers R, Patel A, Schultz E, Bourgeois M, et al. Low Serum Albumin Predicts Severe Outcomes in COVID-19 Infection: A Single-Center Retrospective Case-Control Study. *J Clin Med Res.* 2021;13(5):258-67. Doi: 10.14740/jocmr4507.
46. Costa JO. Capacidade antioxidantes total do plasma: associações com componentes do risco cardiometabólico e consumo alimentar em jovens não obesos e clinicamente saudáveis [Dissertação - Mestrado]. Aracaju (SE):Universidade Federal de Sergipe, 2015.

Recebido: 29.02.2024

Aceito: 31.10.2024