



Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Silvio de Paiva da Fonseca

**Análise dos biomarcadores cortisol e prolactina em
pacientes com formas clínicas leves a críticas para
Covid-19: um estudo de coorte prospectivo**

Brasília, 2022

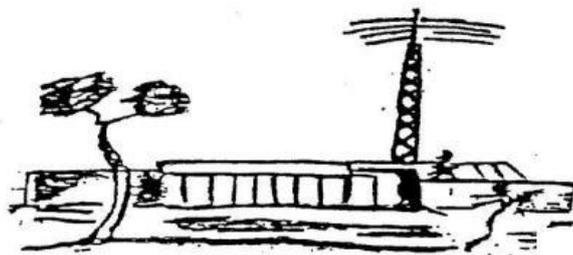
Análise dos biomarcadores cortisol e prolactina em pacientes com formas clínicas leves a críticas para Covid-19: um estudo de coorte prospectivo

Silvio de Paiva da Fonseca

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical. Área de concentração: Biologia das doenças infecciosas e parasitárias

Orientadora: Tatiana Karla dos Santos Borges

Coorientadora: Luciana Ansaneli Neves



Brasília, 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

FF676a

Fonseca, Silvio de Paiva da Fonseca Análise dos biomarcadores cortisol e prolactina em pacientes com formas clínicas leves a críticas para Covid-19: um estudo de coorte prospectivo / Silvio de Paiva da Fonseca Fonseca; orientador Tatiana Karla dos Santos Borges Borges; co-orientador Luciana Ansaneli Naves Naves. -- Brasília, 2023.

95 p.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) -Universidade de Brasília, 2023.

1. Avaliar a relação entre as concentrações basais de cortisol e prolactina e a gravidade da apresentação clínica em indivíduos com diagnóstico de Covid-19.. 2. Analisar a associação entre as concentrações hormonais e os riscos de os pacientes apresentarem necessidade de internação, saturação de O₂ baixa (<93%), necessidade de suporte ventilatório. I. Borges, Tatiana Karla dos Santos Borges, orient. II. Naves, Luciana Ansaneli Naves, co-orient. III. Título.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Professora Doutora Tatiana Carla dos Santos Borges (presidente)

Professor Doutor Gustavo Adolfo Sierra Romero (membro)

Professor Doutor Gustavo Barcelos Barra (membro externo)

Professora Doutora Fabiola Cristina Ribeiro Zucchi (suplente)

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Roberto e Margarida, por ter me concedido o dom da vida. Mesmo que distante, sempre presente como porto seguro, como refúgio para os momentos de tormentas nessa caminhada.

Dedico à minha família, em especial aos meus irmãos que sempre me apoiaram nas decisões mais difíceis que tive que tomar durante essa trajetória.

À Tayane Nobre, parceira, amiga, grande incentivadora em todos os momentos e por todo o seu apoio.

A Deus, que nunca me desamparou e que em teus braços encontrei abrigo, no teu silêncio encontrei respostas e no teu amor encontrei refúgio.

Esse trabalho é para vocês e por vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus** pela saúde e pela vida, por ter me dado força e fé para vencer os obstáculos, com ele nada é impossível.

À minha orientadora **Tatiana Borges**, com você aprendi muito mais que orientações técnicas para desenvolver um trabalho acadêmico, aprendi lições de vida. Com você pude compartilhar alguns dos momentos mais difíceis da minha vida pessoal, profissional e acadêmica e você sempre estava ali, com uma palavra de incentivo sempre me motivando a não baixar a cabeça e seguir em frente. Me desculpa pelas mensagens às vezes não respondidas, pelos sumiços repentinos, e mesmo com tudo isso você não deixou de acreditar em mim. Minha gratidão por ter feito parte da minha vida.

À minha coorientadora **Luciana Naves**, uma luz em nossos caminhos. Obrigado por nos permitir fazer parte desse seu projeto maravilhoso, pelos ensinamentos, pela sua dedicação e por compartilhar o seu conhecimento, sua presteza é admirável.

A todos os professores do Núcleo de Medicina Tropical, pelos ensinamentos transmitidos, em especial o professor **Fernando Abad-Franch**, pelas valorosas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

À **Tayane Nobre**, pelos ensinamentos e apoio, sua força e compreensão foram vitais para eu seguir em frente.

À colega de trabalho, **Simone Sousa Lima** do laboratório Sabin, pelos relatórios e planilhas de dados que muitas vezes solicitamos com urgência, e você prontamente nos ajudou.

À toda **equipe do serviço móvel** do laboratório Sabin, que proporcionou o atendimento em tempo hábil aos pacientes, permitindo assim que a pesquisa fosse realizada.

Às amigas construídas durante essa trajetória, à todas as pessoas que voluntariamente participaram dessa pesquisa e a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que essa etapa em minha vida fosse concluída.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (A) Representação esquemática da estrutura e (B) genoma de β CoV	22
Figura 2. Representação esquemática da replicação do SARS-CoV-2.....	24
Figura 3. Covid-19 e os mecanismos patogênicos no sistema endócrino.....	32
Figura 4. Fluxograma de critérios de inclusão e exclusão.....	41
Figura 5. Correlação entre internação hospitalar e níveis basais de cortisol e prolactina.....	50
Figura 6. Correlação entre níveis basais de cortisol e prolactina, com apresentação de saturação de O ₂ baixa (<93%)	51
Figura 7. Correlação entre níveis basais de cortisol e prolactina com a necessidade de suporte de suporte ventilatório.....	52
Figura 8. Relação de cortisol alterado com os grupos de estudo, internados ou não internados, sexo, com ou sem comorbidades e idade.....	53
Figura 9. Relação de prolactina alterada com os grupos de estudo, internados ou não internados, sexo, com ou sem comorbidades e idade.....	54
Figura 10. Teste de correlação de Pearson, correlação entre as variáveis.....	55
Figura 11. Apresentação dos intervalos de confiança, com a odds ratio ajustada para cada uma das cinco variáveis analisadas.....	59
Figura 12. Modelos analisados para o desfecho da saturação.....	61
Figura 13. Apresentação os intervalos de confiança com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas de saturação baixa (<93%).....	63
Figura 14. Apresentação dos intervalos de confiança com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas após exclusão da variável dispneia.....	64

Figura 15. Apresentação dos intervalos de confiança, com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas, comparando modelos com e sem as variáveis anosmia/ageusia.....	65
Figura 16. Modelos analisados para o desfecho de necessidade de suporte ventilatório.....	66
Figura 17. Apresentação dos intervalos de confiança com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas para o desfecho de suporte ventilatório.....	67
Figura 18. Apresentação dos intervalos de confiança com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas, comparando modelos com e sem anosmia/ageusia.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição e características clínicas dos pacientes da amostra. Distrito Federal, 2021.....	47
Tabela 2. Comorbidades em pacientes diagnosticados com Covid-19. Distrito Federal, 2021.....	47
Tabela 3. Características dos grupos de internados e não internados. Distrito Federal, 2021.....	48
Tabela 4. Gravidade e medicamentos utilizados na admissão dos pacientes diagnosticados com Covid-19. Distrito Federal, 2021.....	49
Tabela 5. Apresentação dos valores de p e valores de r de Pearson para associação positiva ou negativa entre as variáveis estudadas e o cortisol anormal.....	56
Tabela 6. Apresentação dos valores de p e valores de r de Pearson para associação positiva ou negativa entre as variáveis estudadas e a prolactina anormal.....	56
Tabela 7. Estimativas dos parâmetros odds ratio, intervalo de confiança (IC) e importância relativa das variáveis analisadas para o desfecho internação hospitalar.....	58
Tabela 8. Estimativas dos parâmetros odds ratio, intervalo de confiança (IC) e importância relativa das variáveis analisadas para o desfecho saturação de O ₂ baixa (<93%).....	62
Tabela 9. Estimativas dos parâmetros odds ratio, intervalo de confiança (IC) e importância relativa das variáveis analisadas para o desfecho necessidade de suporte de oxigênio.....	67

APÊNDICES

Apêndice 1. Modelos de codificação das variáveis cortisol e prolactina.....	96
Apêndice 2. O número de modelos possíveis para cinco variáveis independentes.....	97

Anexo:

Anexo 1. Esboço artigo original.....98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HCoVs	Coronavírus Humano
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoVs	Síndrome Respiratória Aguda Grave causada por coronavírus
βCoV	Beta-coronavírus
MERS-CoV	Síndrome Respiratória do Oriente Médio causada por coronavírus
OMS	Organização Mundial da Saúde
2019-nCov	Novo Coronavírus
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave por coronavírus do tipo 2
RNA	Ácido Ribonucleico
αCoV	Alfa-Coronavírus
NSPs	Proteínas Não Estruturais
S	Proteína Spike
E	Envelope
N	Nucleocapsídeo
M	Membrana
HE	Hemaglutinina Esterase
ACE2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
ACE	Enzima de Conversão de Angiotensina
TMPRSS2	Receptor Transmembranar Protease Serina 2
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Transcrição Reversa
TLR4	Receptor Tipo Toll 4
IL-1β	Interleucina 1Beta
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
IL-7	Interleucina 7
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10

IL-12	Interleucina 12
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos-Macrófagos
IP-10	Proteína 10
IFN-γ	Interferon Gama
CAMs	Moléculas de Adesão Celular
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
Th1	Linfócitos T Auxiliares Tipo 1
IFN-I	Interferon do Tipo 1
NAb	Anticorpos Neutralizantes
NK	Células Natural Killer
SNC	Sistema Nervoso Central
HPA	Hipotálamo-Pituitário-Adrenal
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
GC	Glicocorticoides
PRL	Prolactina
AICc	Critérios de informação de Akaike Corrigido
DSSO	Dias Desde o Início dos Sintomas
WI	Pesos de Akaike
dAICc	Delta de Akaike
OR	Razão de chances

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	20
1.1 Epidemiologia e breve histórico	20
1.2 Classificação e genoma	22
1.3 Transmissão	23
1.4 Invasão celular e ciclo replicativo	23
1.5 Manifestações clínicas	25
1.6 Imunopatogenia	27
1.7 Covid-19 e o sistema endócrino	31
1.7.1 Papel do cortisol no sistema imune	32
1.7.2 Papel da prolactina no sistema imune	34
1.8 Resposta hormonal ao estresse	35
1.8.1 Resposta hormonal ao estresse infeccioso na Covid-19	36
2. JUSTIFICATIVA	38
3. OBJETIVOS	39
3.1 Objetivo geral	39
3.2 Objetivos específicos	39
4. MÉTODOS	40
4.1 Tipo de estudo	40
4.2 Descrição da área do estudo	40
4.3 Descrição da amostra do estudo	40
4.4 Critérios de inclusão e exclusão	41
4.5 Amostras biológicas	42
4.6 Dosagem do cortisol	42
4.7 Dosagem da prolactina	43
4.8 Estratégia de análise dos dados	44
5. RESULTADOS	46
5.1 Descrição e características clínicas da população	46
5.2 Classificação de acordo com critérios de gravidade da doença	48

5.3 Análise exploratória.....	49
5.3.1 Desfecho necessidade de internação.....	49
5.3.2 Desfecho saturação de O ₂ baixa (<93%) e necessidade de suporte ventilatório	51
5.4 Inferência dos dados.....	57
5.4.1 Desfecho hospitalização.....	57
5.4.2 Desfecho saturação de O ₂ baixa (<93%)	60
5.4.3 Desfecho necessidade de suporte ventilatório.....	65
6. DISCUSSÃO	70
7. CONCLUSÕES	79
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
9. APÊNDICES	96
9.1 Apêndice 1. Modelos de codificação das variáveis cortisol e prolactina.....	96
9.2 Apêndice 2. O número de modelos possíveis para cinco variáveis independente.....	97
10. Anexo. Esboço artigo original.....	98

RESUMO

Introdução: Identificados na década de 60, os coronavírus humanos (HCoVs) causadores da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) têm causado milhões de mortes no mundo todo. Três grandes surtos causados pelos (HCoVs) ocorreram nas últimas três décadas, entre eles o de um coronavírus de origem zoonótica foi relacionado à causa de pneumonia grave em Wuhan na China, sendo nomeado posteriormente como SARS-CoV-2. Este foi responsável por mais de 530 milhões de casos confirmados e mais de 6 milhões de mortes no mundo. Com grande afinidade pelo sistema respiratório, o SARS-CoV-2 utiliza o receptor de enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) para infectar humanos. Cerca de 81% dos casos são assintomáticos ou com sintomas leves a moderado e 14% e 5% com sintomas graves ou críticos. Nas infecções por CoV, o sistema imune é vital para o controle e resolução das infecções. Além disso, o sistema endócrino parece desempenhar funções importantes nas infecções por SARS-CoV-2, uma vez que a infecção pode alterar funções de diversas glândulas endócrinas. O cortisol e a prolactina são glicocorticoides que podem agir nas respostas imunes aumentando ou diminuindo a produção de citocinas. Dessa forma, uma resposta hormonal alterada influencia as respostas fisiológicas e do sistema imune, tendo assim um papel crucial nas infecções por SARS-CoV-2. **Objetivo:** Avaliar a relação entre as concentrações de cortisol e prolactina nas fases iniciais da infecção e a gravidade da evolução clínica em indivíduos com diagnóstico de Covid-19. **Métodos:** Foi realizado um estudo de coorte prospectivo composto por pacientes voluntários de ambos os sexos, recrutados em unidades de saúde do Distrito Federal e com Covid-19 confirmada por RT-PCR. Uma coleta por punção venosa de sangue periférico foi realizada em até 24 horas após a confirmação do resultado do RT-PCR, para a dosagem do cortisol e prolactina, utilizando a metodologia de quimiluminescência direta. Foi realizada uma análise exploratória das variáveis extraídas dos prontuários dos pacientes, uma análise multivariada de correlação de Pearson e, após ajustes das variáveis, foi desenvolvido modelos dentro do conjunto de dados que melhor explicava cada uma das variáveis analisadas, utilizando o método de Akaike. Com os dados correlacionados, foram definidas como variáveis dependentes i) o risco de hospitalização ii) o risco de saturação de O₂ baixa (<93%)

e iii) o risco de necessidade de suporte de O₂. Como covariáveis: sexo, idade, presença de comorbidades, presença de síndrome gripal/sinais e sintomas de Covid-19 (febre, tosse, cefaleia, mialgia, coriza, espirros), presença de dispneia, presença de ageusia e/ou anosmia, presença de fadiga/cansaço. **Resultados:** o cortisol basal anormal foi relacionado com um aumento nas chances de internação hospitalar, com a saturação O₂ (<93%) e com a necessidade de suporte ventilatório em 15,7%, 6,7% e 10,9%, respectivamente. O sexo, a idade e a presença de comorbidades também foram fatores que contribuíram para um aumento nas chances dos pacientes apresentarem um pior prognóstico nos dados analisados. A prolactina basal não apresentou um impacto importante no desfecho das variáveis independentes **Conclusão:** Os dados mostram que alterações no nível de cortisol se relacionam com um pior prognóstico dos pacientes homens com comorbidades e conforme o avanço da idade.

Palavras Chaves: SARS-CoV-2, Covid-19, sistema imune, sistema endócrino, cortisol, prolactina.

ABSTRACT

Introduction: Identified thousands of deaths worldwide (SARS) causes of thousands of deaths worldwide, the viruses that cause Acute Respiratory Syndrome have been identified by thousands of deaths worldwide. Three major all-cause outbreaks (HCoV2) in the latter causes three severe pneumonias in Wuhan, China, later created as SARS-CoV. This was responsible for more than 530 million confirmed cases of deaths and more than 6 million deaths worldwide. With great adjustment by system-2, SARS-CoV uses the angiotensin-converting enzyme receptor to infect 2 humans (ACE2). About 81% of cases are asymptomatic or with mild to moderate symptoms and 14% and 5% with severe or critical symptoms. In CoV infections, the immune system is vital for the control and resolution of infections. Furthermore, the system of important functions seems to improve in SARS-CoV-2 infections, as it can alter the functions of several glands. Cortisol and prolactin are the production of immune responses increasing or the production of glucocorticoids which are the production of glucocorticoids. In this way, a hormonal response influences biological responses as well as the immune system, a crucial role in SARS-CoV-2 infections. **Objective:** To assess between clinical and pro-infant cortisol conditions the severity of presentation and relationship with diagnosis of Covid-19. **Methods:** A prospective cohort study was carried out composed of volunteer patients of both sexes, both recruited from health units in the Federal District and with Covid-19 confirmed by RT-PCR. A peripheral blood venipuncture collection was performed after confirmation of the RT-PCR result, for use until the puncture of cortisol and prolactin, the direct chemiluminescence methodology. An analysis of the best variables was performed, a multivariate analysis of investigation of the variables variables, was developed within the set of variables that explain each of the variable data, using the method of A. With the correlated data, the risk of risk of low O₂ dependence (<9%) and iii) the risk of needing hospitalization ii) the risk of needing hospitalization ii) As covariates: sex, age, presence of comorbidities, presence of flu-like syndrome/signs and symptoms of Covid-19 (fever, cough, headache, myalgia, coryza, sneezing), presence of dyspnea, presence of ageusia and/or anosmia, presence of fatigue/tiredness. **Results:** Baseline cortisol was related to one in the odds of normal hospitalization support (9%, with O₂9%

ventilatory saturation respectively, and with an increase respectively by 15.7%, 6.7% and 1.9%. Gender, age, age and age were as factors that improved a patient's chances of worsening the prognosis, but also the data worsened. Prolactate did not have a major impact on the baseline outcome of the independent variables

Conclusion: The data show that there was no change in the cortisol level of patients with comorbidities and with advancing age.

Keywords: SARS-CoV-2, Covid-19, immune system, endocrine system, cortisol, prolacti

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia e breve histórico

Os coronavírus humanos (HCoVs) foram primeiramente identificados na década de 60 como HCoV-229E e HCoV-OC43 (Hamre e Procknow, 1966; McIntosh, 1967) e desde então, são responsáveis por um número substancial de infecções do trato respiratório. A infecção costuma se apresentar com diversos fenótipos clínicos e muitas vezes possuem o quadro clínico caracterizado como resfriado comum (Kahn e McIntosh, 2005).

Os HCoVs tiveram sua primeira atenção mundial no final de 2002, quando casos de pneumonia atípica grave foram descritos em Guangdong, no sul da China. Apresentando um potencial pandêmico à medida que a doença se espalhava, resultou em mais de 8 mil casos em 25 países e 774 mortes. Embora o número de casos fosse relativamente menor, quando comparado com pandemias anteriores, a sua alta transmissibilidade potencializada pelas viagens aéreas contribuiu para um impacto importante nos países acometidos (Peiris et al, 2004). Desta forma, por causar uma Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), estes vírus ficaram conhecidos como SARS-CoVs e, conforme foram sendo realizados sequenciamentos, observou-se fortes indícios de serem um agente zoonótico. Assim, na epidemia supracitada, o causador da SARS foi um beta-coronavírus (β CoV) tendo como hospedeiro natural o morcego (Wilde et al, 2018; Paules et al, 2020).

Uma década após o surto na China, mais um β CoV de origem zoonótica foi identificado. Desta vez, isolado de um paciente com pneumonia grave e insuficiência renal em Jeddah na Arábia Saudita, foi nomeado como Síndrome Respiratória do Oriente Médio causada por coronavírus (MERS-CoV) (Zaki et al, 2012). Os dromedários foram sugeridos como hospedeiros intermediários na transmissão para humanos (Dudas et al, 2018) e de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), até setembro de 2019, quase 2.500 mil casos foram confirmados, incluindo 851 mortes associadas com uma taxa de letalidade de 35% (WHO, 2019).

Em dezembro de 2019, casos atípicos de pacientes com pneumonia de causas desconhecidas e relacionadas a um mercado de frutos do mar e animais

selvagens em Wuhan no sul da China chamou a atenção das autoridades sanitárias. Diante disso, uma investigação epidemiológica e etiológica foi conduzida. Nos resultados das análises, foram descritas características clínicas, origem da pneumonia e um novo coronavírus (2019-nCov) (Zhu et al, 2020) que posteriormente, foi oficialmente nomeado como SARS-CoV-2 (Síndrome Respiratória Aguda Grave causada por coronavírus do tipo 2) (Gorbalenya et al, 2020).

Logo, a infecção por SARS-CoV-2 se propagou rapidamente por toda a China e em poucos dias, em dezenas de outros países, causando em muitos indivíduos a doença denominada Covid-19. Em função deste alastramento rápido, a OMS declarou em janeiro de 2020 emergência de saúde pública para a recente Covid-19 e em março de 2020 alterou o status de emergência para pandemia (OMS, 2020) quando já passava de 87 mil casos confirmados e quase 3 mil mortos (Guo et al, 2020). Em 3 de fevereiro de 2020, o Brasil declarou emergência de saúde pública de importância nacional, mesmo não tendo casos confirmados no país. Essa emergência buscava implantar ações que pudessem conter ou mitigar o avanço e a entrada da doença no país (Cavalcante et al, 2020).

No Brasil, o primeiro caso confirmado foi de um indivíduo do sexo masculino residente na cidade de São Paulo, em 26 de fevereiro de 2020. Uma semana após a confirmação do primeiro caso, o vírus já originava 488 casos suspeitos e dois notificados. Sem evidências de transmissão autóctone ou domiciliar, os primeiros casos confirmados foram de pessoas que retornaram ao Brasil de países da Europa, quando o surto estava evidente no continente europeu (Croda e Garcia, 2020). Até a semana epidemiológica 21 (maio de 2022), o Brasil apresentou números alarmantes sobre a pandemia com mais de 30 milhões de casos confirmados e mais de 660 mil mortes, com um índice de letalidade de 2,8%. Com esses números, se tornou o terceiro país no mundo com maior número de mortos, estando atrás apenas dos Estados Unidos e Índia (Ministério da Saúde, 2021).

Seis meses após a declaração de seu estado pandêmico, a Covid-19 já ocasionava quase 10 milhões de infectados e aproximadamente 500 mil mortes em todo o mundo (OMS, 2020). Em maio de 2022, o número de casos acumulados já ultrapassava 500 milhões e mais de seis milhões de mortes

(OMS, 2022). Diante do exposto, a Covid-19 representou e ainda representa uma grande ameaça à saúde pública devido à sua alta transmissibilidade e consequências catastróficas na economia global (Hu et al, 2021).

1.2 Classificação e genoma

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples não segmentado e envelopado. Pertence à subfamília Coronavirinae, família Coronaviridae e ordem Nidovirales (Guo et al, 2020). É classificado como um β CoV e é o sétimo coronavírus capaz de infectar humanos, seguindo 2 α CoV (HCoV-229E e HKU-NL63) e 4 β CoV (HCoV-OC43, HCoV- HKU1, SARS-CoV e MERS-CoV (Liu et al, 2020).

Como demonstrado na Figura 1, o genoma do SARS-CoV-2 é semelhante aos outros β CoVs, com o genoma de aproximadamente 30 kb e contém ao menos dez quadros de leitura aberta (ORFs). Dois terços do RNA viral localizado na (ORF 1a/b) codificam 16 proteínas não estruturais (NSPs). As outras ORFs, em um terço do genoma codificam quatro proteínas estruturais principais: proteína Spike (S), envelope (E), nucleocapsídeo (N) e membrana (M), bem como várias proteínas acessórias. A proteína S desempenha um papel essencial na ligação aos receptores na célula hospedeira (Guo et al, 2020).

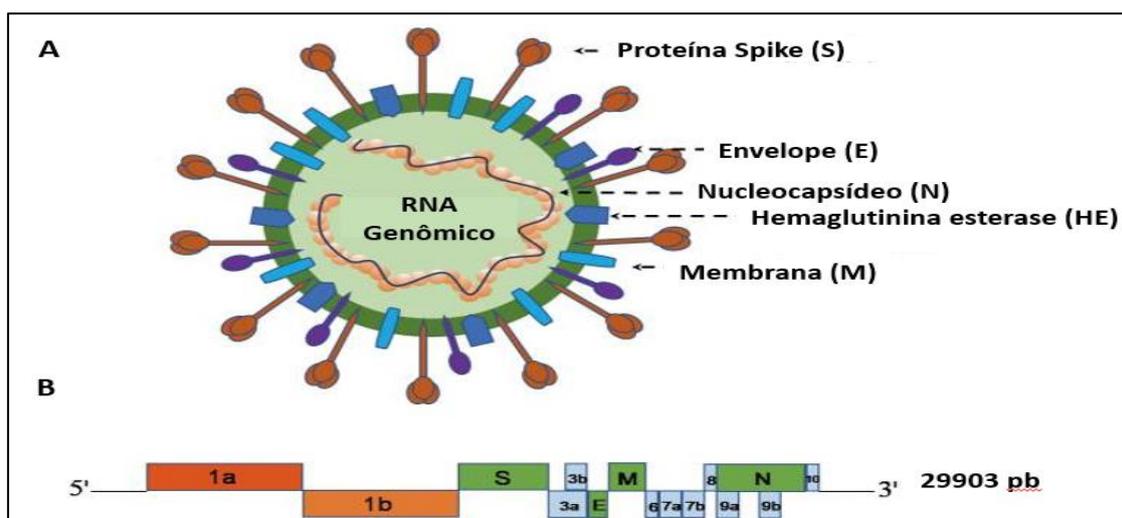


Figura 1: (A) Representação esquemática da estrutura e (B) genoma de β CoV. Demonstração das proteínas estruturais: Spike (S), Envelope (E), Esterase de Hemaglutinina (HE), Membrana (M), e o RNA genômico empacotado dentro da partícula e envolvido pela proteína N (Adaptado de Jin et al, 2020).

1.3 Transmissão

Foi demonstrado por análises evolutivas que morcegos e roedores são as fontes da maioria dos α CoVs e β CoV (Liu et al, 2020). A partir das análises genéticas, sugeriu-se que os morcegos fossem hospedeiros primários para SARS-CoV-2, devido ao compartilhamento de 96% do genoma com dois CoVs semelhantes ao SARS. Além disso, sucessivas infecções por CoVs relacionadas a SARS-CoV-2 em pangolins, sugeriram estes animais como possíveis hospedeiros intermediários (Liu et al, 2019; Lam et al, 2020). No entanto, uma análise filogenética realizada por Pekar e colaboradores em 2022, mostrou que as linhagens A e B do SARS-CoV-2 tiveram saltos zoonóticos dos hospedeiros intermediários, ainda indeterminados no mercado de Huanan, para os humanos em meados de novembro de 2019 rejeitando a hipótese de introdução única do vírus de linhagem A da pandemia de Covid-19.

O que os estudos indicam, até o momento, é que a transmissão do vírus surgiu por via zoonótica (Kirtipal et al, 2020), no entanto, sua rápida disseminação entre humanos, reforça que sua principal via de transmissão é a de pessoa para pessoa. O SARS-CoV-2 pode ser transmitido pelo ar a partir de partículas virais eliminadas por saliva ou muco nasal de uma pessoa infectada ao tossir ou espirrar (CDC, 2021). Além disso, a infecção da mucosa dos olhos, nariz e boca é uma possível via de transmissão a partir do contato com superfícies contaminadas (Cevik et al, 2020) visto que as partículas virais podem permanecer viáveis por muitos dias em superfícies lisas e temperaturas mais baixas (Chin et al, 2020; Doremalen et al, 2020).

1.4 Invasão celular e ciclo replicativo

Inicialmente, quando a Covid-19 se estabeleceu por todo o mundo, houve grandes esforços para a identificação da via de infecção do vírus, pois isto traria uma grande implicação para o entendimento da patogênese e desenvolvimento de estratégias terapêuticas. Portanto, sabe-se que o vírus se liga às células do epitélio respiratório, começa a se replicar migrando para os alvéolos pulmonares

(Hu et al, 2020) e assim como o SARS-CoV, utiliza o receptor de enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) para infectar humanos (Guo et al, 2020).

A ACE2 é um componente fundamental no sistema renina-angiotensina (SRA). Sua função fisiológica é converter a angiotensina I em angiotensina (1-9) e a angiotensina II em angiotensina (1-7). A angiotensina (1-9) se liga ao receptor, “MAS” levando à vasodilatação e efeitos anti-inflamatórios. Em contraste, a ACE (enzima de conversão da angiotensina) converte a angiotensina I em angiotensina II. Por sua vez, a angiotensina II causa vasoconstrição e efeitos pró-inflamatórios por meio do receptor de angiotensina II tipo 1 (Hamming et al, 2007). Amplamente expressa na mucosa nasal, coração, pulmão, vasos, intestino, rim e testículos, a ACE2 está principalmente ligada às membranas celulares e pouco presente na circulação (Sodhi et al, 2017; Jin et al, 2020).

Como a proteína S é projetada para fora do envelope viral, esta se liga de forma muito eficiente à ACE2 facilitando a entrada nas células (Figura 2). Existem indicações de que assim que o SARS-CoV-2 se liga à ACE2, ocorre a endocitose e remoção funcional deste receptor na membrana, levando à uma redução de expressão e regulação negativa de ACE2 (Verdecchia et al, 2020). Esse mecanismo impede que ACE2 execute sua função normal de regular a sinalização de angiotensina II tornando-a mais disponível, produzindo uma disfunção do SRA, aumentando a inflamação, permeabilidade vascular, edema, pressão arterial e desequilíbrio hidroeletrólítico (Kuba et al, 2005; Glowacka et al, 2010; Jin et al, 2020).

O receptor ACE2 regula as ações da angiotensina II e protege o hospedeiro de danos teciduais, portanto o SARS-Cov-2 ao utilizar este receptor para sua entrada nas células cria uma condição regulatória desfavorável por promover a diminuição e disponibilidade do ACE2 na membrana celular. Foi demonstrado em modelo experimental que a não expressão de ACE2 não apresenta alteração na função cardíaca, no entanto, a perda ou diminuição de ACE2 resulta em deformidades graves na morfogênese do coração (Crackower et al, 2002). Isso sugere que humanos que tenham uma expressão reduzida de ACE2 não apresentam nenhuma doença ou desordem clínica cardíaca; porém, em uma infecção por SARS-CoV-2, a ausência ou bloqueio de ACE2 podem

propiciar as manifestações clínicas cardíacas mais severas (Imai et al, 2005; Zhag et al, 2020).

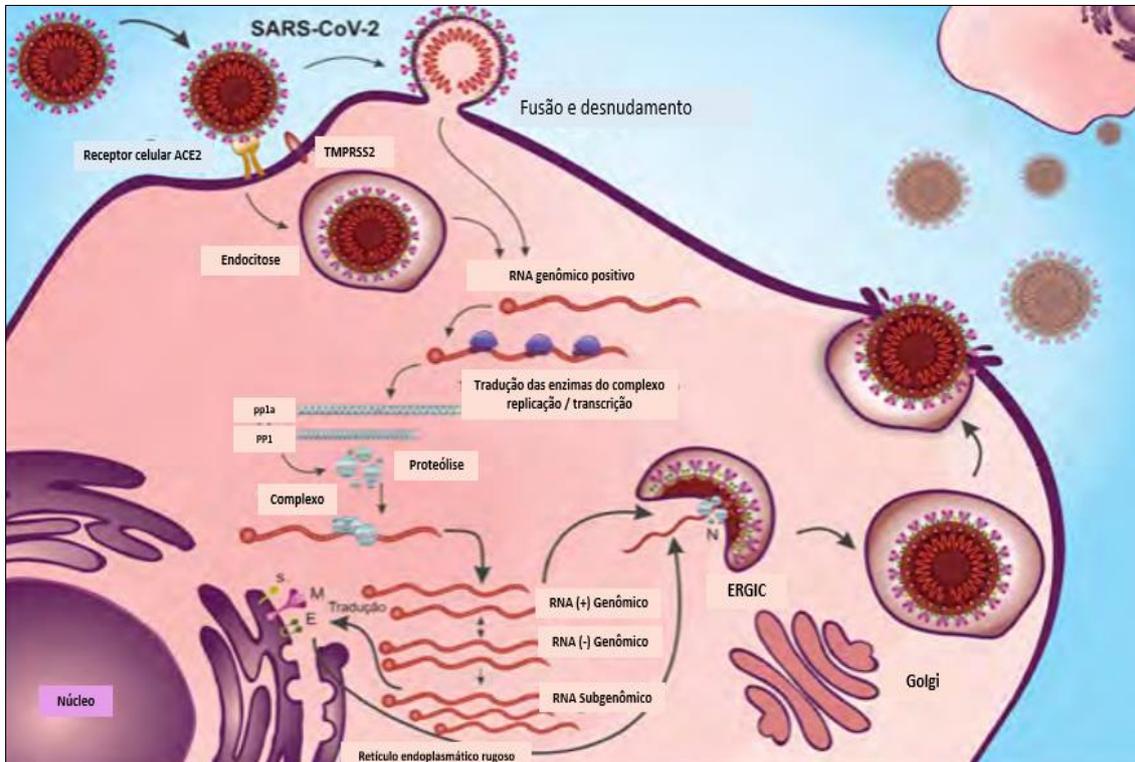


Figura 2: Representação esquemática da replicação do SARS-CoV-2. O SARS-CoV-2 liga-se ao receptor ACE2 da célula-alvo e a clivagem da proteína entre as unidades S1 e S2, que é operada pelo receptor transmembranar protease serina 2 (TMPRSS2). Isso permite a fusão da membrana plasmática com o envelope viral e desnudamento do RNA genômico. De forma alternativa, o vírus pode entrar na célula via endocitose. As poliproteínas pp1a e pp1ab são então traduzidas e clivadas, havendo formação do complexo replicase-transcriptase e favorecimento da síntese dos RNAs genômico e subgenômico virais. As proteínas estruturais M, E e S são traduzidas e seguem para o ERGIC, onde, juntamente com o RNA genômico associado à proteína N, vão formar vírions maduros que serão exocitados. (Adaptado de Borges et al, 2020).

1.5 Manifestações clínicas

Em cerca de 81% dos casos de Covid-19, a infecção aguda acontece de maneira assintomática ou com sintomatologia leve a moderada. Entretanto, o alto percentual de pessoas assintomáticas pode ser desafiante no controle da doença, pois foi demonstrado em pessoas que evoluíram para a cura clínica, resultados continuamente positivos de RT-PCR (reação em cadeia da polimerase em transcrição reversa) (Lan et al, 2020). Isso sugere que mesmo em pessoas recuperadas existe a possibilidade de serem “reservatórios”

dispersores do vírus. Por outro lado, outro estudo apontou que aproximadamente 14% e 5% dos pacientes sintomáticos avaliados, progrediram para a forma grave e crítica, respectivamente (Wu e McGoogan et al, 2020).

Geralmente, pacientes que possuem condições como hipertensão, obesidade, diabetes, doenças renais, pulmonares e cardiovasculares, apresentam maior risco de desenvolver as formas graves de Covid-19 e maior mortalidade (Ejaz et al, 2020; Gandhi et al, 2020). Essas doenças apresentam condições que são determinantes para o surgimento de alterações no endotélio vascular. O fato de o endotélio vascular ser indispensável na regulação do tônus vascular e na manutenção da homeostase, e assim, uma disfunção endotelial pode alterar o equilíbrio homeostático causando disfunção microvascular, isquemia de órgãos, inflamação com edema tecidual e alteração nos mecanismos de coagulação desses órgãos (Varga et al, 2020). Uma vez que comorbidades pré-existentes estão relacionadas à disfunção crônica do endotélio (Flammer et al, 2012; Beyerstedt et al, 2021), o SARS-CoV-2 pode intensificar essas condições devido a desregulação do SRA levando a um aumento no processo inflamatório, vasoconstrição e formação de trombos nos tecidos lesionados, conseqüentemente causa um risco maior de desenvolver as formas graves da Covid-19 (Brandão et al, 2020; Ackermann et al, 2020).

A forma leve da doença (fase I) é caracterizada por progressão benigna e delimitada com presença de febre e tosse seca, podendo manifestar sintomas menos frequentes como diarreia, mialgia, cefaleia, perda do olfato e/ou paladar e coriza. A forma grave (fase II) é definida por dispneia, diminuição da saturação do oxigênio, infiltrado pulmonar no raio-x e opacidade em vidro fosco em tomografias computadorizadas. Na forma crítica (fase III), os pacientes apresentam síndrome de inflamação pulmonar e extrapulmonar marcada por hiperativação imunológica resultando em produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias. Esse evento denominado “tempestade de citocinas” desempenha grande papel no agravamento da doença e provavelmente, seja uma das principais causas de letalidade (Brandão et al, 2020; Wang et al, 2020).

Contudo, à medida que a pandemia avança e perdura, com as observações clínicas e estudos de casos, observa-se que a Covid-19 não se restringe a um agravo pulmonar, mas também como uma doença extrapulmonar multifatorial e sistêmica. Os sistemas: neurológico, renal, cardíaco,

gastrointestinal, dermatológico e endócrino também podem ser acometidos. Existem relatos mostrando que os pacientes podem apresentar alterações neurológicas como anosmia, ageusia, meningoencefalite, polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda (síndrome de Guillain-Barré). Outros relatos mostram que as manifestações renais ocorrem principalmente por lesão renal aguda. No sistema cardíaco observa-se sequelas cardiovasculares como lesão miocárdica, síndromes coronárias agudas, cardiomiopatia, arritmias e choque cardiogênico. No sistema gastrointestinal sintomas como anorexia, náusea, vômito, diarreia e dor abdominal foram apontados. Na pele, foi relatado erupção cutânea eritematosa, urticária e vesículas semelhantes à varicela e no sistema endócrino se observou anormalidades no metabolismo da glicose, incluindo piora da hiperglicemia, cetose euglicêmica e cetoacidose diabética clássica (Gupta et al, 2020; Kochi et al, 2020; Munhoz et al, 2020; Lowe et al, 2021).

Além disso, outros relatos mostram que após o período agudo, cerca de 10% das pessoas podem ter manifestações de Covid-19 pós-aguda ou Covid-19 prolongado (Carfi et al, 2020; Greenhalgh et al, 2020; Moreno-Pérez et al, 2021). Foi proposto que esses sintomas podem ser categorizados como (1) sintomas residuais persistentes após a recuperação da infecção aguda; (2) disfunções orgânicas persistentes após a recuperação inicial e (3) síndromes que se desenvolvem após infecção inicial assintomática ou leve. Nesses incluem fadiga prolongada, falta de ar, comprometimento de memória e concentração, sequelas pulmonares, cardíacas, tromboembólicas, renais e neurológicas (Amenta et al, 2020).

1.6 Imunopatogenia

O sistema imune é vital para o controle e resolução das infecções por CoV, ao mesmo tempo que contribui na patogênese (Guo et al 2020). Em princípio, a resposta contra o SARS-CoV-2 ocorre dependente de fatores relacionados ao vírus, tais como: na capacidade de replicação, nos mecanismos de evasão e no seu efeito citopático (Kumar et al, 2020) que se associam a uma resposta imune individual dependente de características genéticas, *status* nutricional e metabólico e idade (Anastassopoulou et al, 2020; Meyerowitz et al,

2021) de tal forma que se a virulência e os mecanismos de escape viral forem maiores que a capacidade do indivíduo de responder ou se a resposta imune for deficiente, isso leva à maior gravidade; ou se a resposta imune for muito robusta com grande liberação de mediadores inflamatórios, ocorre dano aos tecidos acometidos que leva também à maior gravidade. Assim, é necessário que exista um equilíbrio entre o vírus e a resposta antiviral do seu hospedeiro, para que os mecanismos imunopatológicos não se estabeleçam na infecção (Lucas et al, 2020).

Considerando esses fatores, o SARS-CoV-2 é um vírus que causa grande perda celular pela sua alta capacidade replicativa e pelo seu efeito citopático, o que promove grande perda e disfunção celular no local acometido (Yang et al, 2020). A destruição excessiva de células pulmonares (local inicial da infecção), libera uma grande quantidade de antígenos virais e produtos celulares estimulantes da resposta imune inflamatória, que tem por objetivo a eliminação da infecção e o restabelecimento da função tecidual. Contudo, essa mesma resposta produz mediadores, como é o caso das citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias capazes de modificar as funções celulares no local, tais com a capacidade das células endoteliais de se manterem coesas. Isso, promove o extravasamento vascular de produtos, antígenos e vírus, gerando respostas inflamatórias extrapulmonares (Kim et al, 2021). Se a resposta inflamatória inicial não for devidamente controlada por mecanismos compensatórios e regulatórios do sistema imune, esta provoca liberação de uma grande quantidade de citocinas (tempestade de citocinas) que provavelmente é a principal causa de mortalidade na infecção por SARS-CoV-2 (Fu et al, 2020; Jin et al, 2020).

De interesse, estudos indicam que os níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias liberadas pela hiperativação da imunidade inata estão relacionados a pacientes graves e ao mau prognóstico na Covid (Zarrilli et al, 2021). Neste evento, um dos principais antígenos responsáveis pela ativação da resposta inata é a proteína S, que pode ser reconhecida diretamente por receptores para padrões moleculares, como por exemplo o receptor TLR4 (Aboudounya e Heads, 2021) ou, após fagocitose de células infectadas mortas por macrófagos, que produzem em resposta várias citocinas como IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, fator de necrose tumoral α (TNF- α), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) e proteína 10 (IP-10) induzida por interferon

gama (IFN- γ) (Hu et al, 2020).

Em resposta à produção de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , o endotélio vascular pulmonar aumenta a expressão de moléculas de adesão celular (CAMs) e a liberação de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Isso amplia o influxo de leucócitos do sangue para o tecido infectado e promove a expansão da permeabilidade vascular, conseqüentemente, mais células inflamatórias chegam ao tecido pulmonar e as partículas virais presentes ganham a circulação sanguínea, alcançando outros órgãos que expressam a ACE2. Em função disso, a produção local e sistêmica de citocinas estimula a medula óssea a produzir e liberar granulócitos imaturos, que retornam aos pulmões estendendo a inflamação pulmonar. Em contrapartida, as células endoteliais danificadas expressam fatores pró-coagulantes (Polidoro et al, 2020; Brandão et al, 2020). Além disso, ainda há o estresse oxidativo gerado dentro do estado inflamatório que sustenta e agrava a lesão tecidual. Em conjunto, a produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias, o estresse oxidativo e a destruição tecidual desempenham um papel importante na patogênese da coagulopatia relacionada à Covid-19 (Cecchini e Cecchini, 2020; Zarrilli et al, 2021).

A resposta adaptativa que é inicialmente ativada contra o SARS-CoV-2 é a do ramo de linfócitos T auxiliares do tipo 1 (Th1). Essa resposta é induzida por fagócitos e células dendríticas pela produção de IL-12 por fagócitos, IL-2 por linfócitos ativados e a produção de Interferon do tipo 1 (IFN-I) pelas células infectadas (Yang, 2020). A resposta Th1 tem como função o controle de patógenos intracelulares e promove a produção de anticorpos neutralizantes (NAb). A importância da síntese de IFN-I consiste na ativação da resposta imune inata com o estímulo das células NK que destroem células infectadas. Por conseguinte, o IFN-I aumenta a citotoxicidade de linfócitos T CD8+ que lisam células infectadas, além de estimular as células B na produção de anticorpos neutralizantes (NAb), que bloqueiam a entrada viral em células do hospedeiro (Tsai et al, 2021).

Os NAb também podem desempenhar um papel importante na imunopatogênese da Covid-19. O complexo vírus-NAb pode desencadear respostas inflamatórias mediadas por FcR. Nesse processo conhecido como infecção aumentada dependente de anticorpo (ADE), os anticorpos NAb são subneutralizantes, ou seja, não possuem ação neutralizante eficiente. Dessa

forma, assim como em outras infecções virais (Takada e Kawaoka, 2003), por exemplo na Dengue, o complexo vírus-NAb se liga ao receptor Fc da célula-alvo-promovendo a endocitose e facilitando a entrada das partículas virais. Essa "facilitação" do sistema imune adaptativo provoca um aumento da replicação viral e maior gravidade da doença (Liu et al, 2019; Fu et al, 2020; Jin et al, 2020).

No decorrer da infecção, o SARS-CoV-2 também adquire mecanismos de escape, pois pode evitar o reconhecimento imunológico, desencadeando um atraso na resposta imune inicial e isso permite a replicação viral. Conseqüentemente, pode promover a diminuição da síntese de IFN-I comprometendo a resposta antiviral (Verdecchia et al, 2020). Além dos mecanismos de escape, também se observa que a resposta adaptativa com a presença de ramos diferentes de respostas é capaz de contribuir para manifestações mais graves. As respostas imunes são divididas aproximadamente em três perfis (Annunziato et al, 2014). Normalmente, os vírus induzem a imunidade do perfil Th1, definida pela expressão de IFN- γ caracterizada por eliminação do patógeno intracelular desempenhada por células NK, T citotóxicas e Th1. Curiosamente, em uma análise longitudinal conduzida por Lucas e colaboradores, em 2020, a infecção por SARS-CoV-2 também induziu à imunidade do tipo Th2 mediada por IL-4, IL-5, IL-13 e até mesmo a do tipo Th17, mediada por IL-17 e IL-22. A resposta do tipo Th17 desempenha um papel importante em casos graves de Covid-19 devido a um transbordamento pró-inflamatório adicional, resultante dos níveis suprafisiológicos de IL-1 β , IL-6 e TNF- α que contribuem para a formação de edema (Wu e Yang, 2020). Desse modo, o perfil de resposta imune inadequado impede *clearance* viral adequado e influência no progresso e gravidade da doença. Portanto, diferente do perfil Th1 que é o mais adequado para a resolução da infecção viral, os demais perfis estão associados à maior gravidade e óbito (Brüssow, 2020).

Em conjunto com a resposta imune direta contra o vírus e aos antígenos teciduais de danos, a interação da proteína S aos receptores ACE2 também é um importante fator que contribui para a imunopatologia da Covid-19. Quando a proteína S se liga ao receptor ACE2, essa interação promove a endocitose do receptor, o que diminui a expressão da ACE2 na membrana celular e assim impede sua função de regulação do SRA. O desequilíbrio do SRA e a hiperatividade da angiotensina II, aumenta a permeabilidade vascular

promovendo edema e acúmulo de neutrófilos no pulmão. Além disso, a angiotensina II induz as citocinas TNF α e IL-6, que ativam o amplificador de IL-6 (IL-6 AMP), levando à liberação de citocinas inflamatórias. Portanto, esse sistema parece ter implicações também nas manifestações extrapulmonares visto que a expressão de ACE2 está presente em células de outros sistemas orgânicos (Gupta et al, 2020).

1.7 Covid-19 e o sistema endócrino

O sistema endócrino parece desempenhar um papel importante na infecção por SARS-CoV-2. Os distúrbios endócrinos e metabólicos pré-existentes podem ser fatores de risco para pior progressão clínica de Covid-19 (Lisco et al, 2021) e adicionalmente, o próprio vírus apresenta afinidade de ligação aos tecidos endócrinos, provocando lesão tissular direta ou desencadeando reações autoimunes secundárias (Soldevila et al, 2021). No entanto, a repercussão das disfunções endócrinas em pacientes acometidos por Covid-19 é pouco explorada (Kumar et al, 2021).

Sabe-se que o SARS-CoV-2 pode acometer o sistema nervoso central (SNC) e logo, o hipotálamo e a hipófise. Todavia, ainda não é bem esclarecido se a infecção nestas glândulas ocorre pela via hematogênica ou diretamente através da placa cribiforme (Pal e Banerjee, 2020; Piticchio et al, 2021). A presença do receptor para a ACE2 no sistema endócrino, torna as glândulas um alvo definido para a entrada do vírus e a expressão de ACE2 foi descrita no hipotálamo, hipófise, tireoide, tecido adiposo, gônadas e ilhotas pancreáticas (Beyerstedt et al, 2021). Além disso, o receptor transmembranar protease serina 2 (TMPRSS2), que é um importante cofator para a entrada do vírus nas células, foi encontrado em vesículas extracelulares, permitindo hipotetizar que essa protease pode facilitar a entrada do vírus em outros órgãos e sistemas para além de sítios iniciais de infecção, potencializando a propagação do SARS-Cov-2 (Chi et al, 2020; Lazartigues et al, 2020).

Estudos sugeriram que a resposta imunológica do hospedeiro frente à Covid-19 pode levar à produção de anticorpos de reação cruzada e promover o bloqueio na ação estimuladora adrenal pelo hormônio adrenocorticotrófico endógeno (ACTH). Isso sugere um potencial impacto na resposta do cortisol ao

estresse do hospedeiro, e conseqüentemente, insuficiência adrenal relativa. Ademais, o eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (HPA) também pode ser afetado desencadeando hipocortisolismo central como manifestação de Covid-19 pós aguda e hipotireoidismo secundário (Wheatland, 2004; Pal, 2020; Lisco et al, 2021).

A infecção por SARS-CoV-2 pode alterar a funcionalidade de diversas glândulas do sistema endócrino e processos metabólicos (Figura 3). A interação neuroendócrina e imunológica interfere na resposta metabólica ao estresse e processos inflamatórios, o que pode aumentar o risco de desenvolver formas graves da doença. Portanto, os fatores de risco em pacientes com complicações endócrinas durante ou após a infecção por Covid-19 incluem o sexo masculino, obesidade, diabetes tipo 2, hipovitaminose D, hipocalcemia, hipogonadismo e múltiplos danos nos órgãos endócrinos, incluindo o hipotálamo (Soldevila et al, 2021).

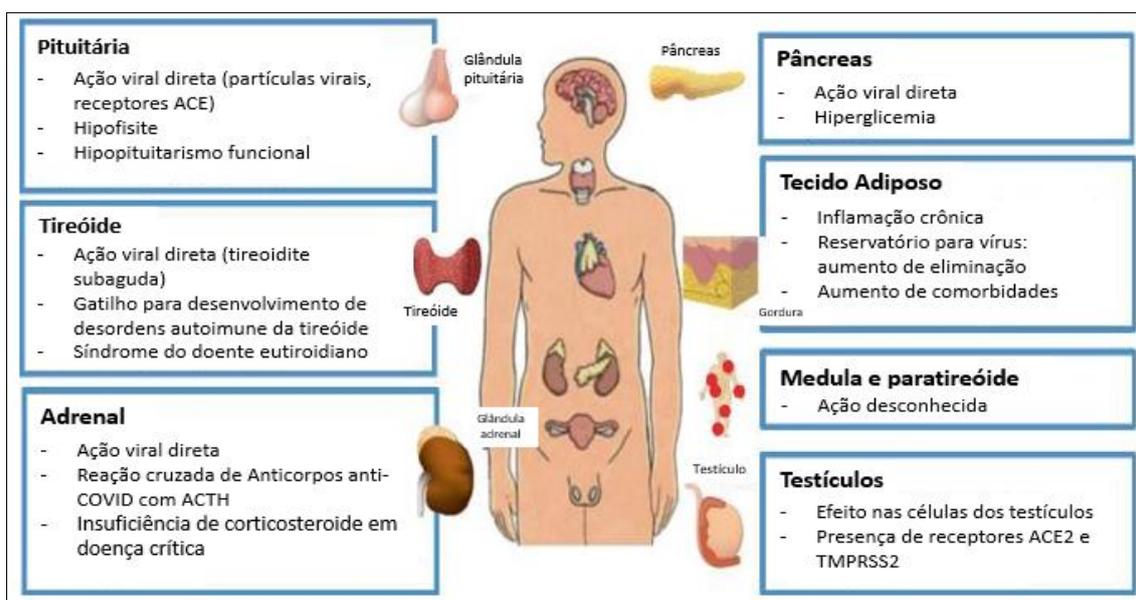


Figura 3: Covid-19 e os mecanismos patogênicos no sistema endócrino (Adaptado de Soldevila et al, 2021).

1.7.1 Papel do Cortisol no Sistema Imune

O Sistema Nervoso Central (SNC) e o sistema endócrino atuam em sinergia para manter a homeostase do organismo, promovendo respostas fisiológicas rápidas, desencadeando ações entre circuitos interligados, por meio

de secreção e ou inibição de mediadores químicos e hormônios (Garavini, 2006).

O eixo HPA representa um sistema de controle e estimulação de hormônios responsáveis pelas respostas ao estresse fisiológico ou psicológico. O eixo HPA ativado estimula a secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) no hipotálamo, e conseqüentemente, ativa a hipófise anterior que libera o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH, por sua vez, estimula a glândula adrenal a secretar corticosteroides (Joseph e Golden, 2017). O cortisol, corticosterona e cortisona estimulam o metabolismo celular, disponibilizando substratos energéticos, estimulando a síntese de proteínas e glicogênio, ativando a lipólise, a gliconeogênese e exercendo funções sobre SNC (Sapolsky et al, 2000).

Especificamente, o cortisol, tem como principal função modular a resposta ao estresse e reação de “luta ou fuga” e influência diversas funções do sistema imunológico, tais como na regulação dos processos inflamatórios (Jones e Gwenin, 2021). O sistema imune desempenha um papel crucial na defesa do corpo frente à uma diversidade de agentes infecciosos. Portanto, qualquer anormalidade ou alteração na competência desse sistema pode trazer implicações na gravidade ou maior risco de morte (Glaser e Kiecolt-Glaser, 2005).

Pacientes com deficiência de cortisol exibem uma resposta celular imune inata alterada às infecções, aumento da produção de citocinas inflamatórias, perda da ação sinérgica do cortisol e risco aumentado de mau prognóstico na Covid-19 (Almeida e Mendonça, 2020; Lisco et al, 2021). Contudo, estudos revelam que a depender da dose ou do momento da evolução do estresse infeccioso, os glicocorticoides (GC) induzem ações pró-inflamatórias em respostas imunológicas. Foi observado que o tratamento com GC podem reduzir as manifestações de Covid-19 grave ou crítico ativando ACE2 e reduzindo os níveis de IL-6. Além disso, os CG podem inibir a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, como IL-2, IL-3, IL-4, IL-5 (Xiang et al, 2020). Em infecções por SARS-CoV-2, as baixas doses de CG regulam negativamente as citocinas pró-inflamatórias prevenindo uma resposta estendida de citocinas e agilizando a resolução da inflamação pulmonar e sistêmica; contudo, o uso indiscriminado de CG e sem prescrição correta, pode prejudicar a resposta imune e eliminação viral (Rizk et al, 2020).

1.7.2 Papel da Prolactina no Sistema Imune

A prolactina (PRL) é um hormônio proteico sintetizado e secretado pela glândula pituitária anterior, entretanto, pode ser sintetizada também pelo SNC, sistema imune (incluindo linfócitos T), útero e glândulas mamárias (Freeman et al, 2000). A PRL atua não exclusivamente como hormônio por meio de mecanismos endócrinos, mas também como fator de crescimento, neurotransmissor, modulador das respostas imunes inata e adaptativa a partir de várias vias de sinalização após a ligação ao seu receptor (PRLr). Mais de 300 funções exercidas por PRL já foram descritas (Blanco-Favela et al, 2012) que influenciam muito tecidos, além dos órgãos reprodutores (Yu-Lee, 1997).

No sistema imune, a PRL é produzida por linfócitos T e B, macrófagos, células mononucleares e células NK (Díaz et al, 2013). Adicionalmente, esse hormônio apresenta três isoformas: a monomérica (PRL livre), a grande PRL (do inglês *big Prolactin*) e a macroprolactina (do inglês *big big Prolactin*). A forma monomérica é biologicamente a mais ativa (Suarez et al, 2015). A atividade da PRL é iniciada com sua ligação ao PRLr e a expressão de PRL e PRLr em células imunes sustentam uma atuação auto e parácrina que, a depender das concentrações de PRL, manipula a proliferação, diferenciação, secreção e sobrevivência de células imunitárias (Borba et al, 2018). Evidências demonstraram o papel da PRL como uma citocina presente nas respostas imunes do tipo Th1 (Yu-Lee, 2002). Em pacientes com HIV, níveis mais elevados de PRL aumentaram a contagem de linfócitos T CD4+ e apoptose viral (Parra et al, 2013), além de aumentar sobrevivência celular (Yu-Lee, 2002).

A secreção de PRL é regulada por citocinas estimulantes como IL-1, IL-2 e IL-6, enquanto a endotelina-3 e o interferon (IFN) γ atuam de forma inibitória (Borba et al, 2018). Os efeitos da PRL nas respostas imunes aumentam a produção de citocinas como IFN- γ , IL-12 e IL-10 (Suarez et al, 2015). Assim, a PRL desempenha um papel fundamental para manter o número adequado de células imunes e em contraste, conserva a tolerância imunológica, principalmente na fase gestacional (Borba et al, 2018). Contudo, essa regulação irá depender da sua concentração sérica. Dessa forma o papel e efeitos da PRL no sistema imunológico são terminantemente importantes, porém, complexos (Suarez et al, 2015).

Fundamentada a relevância da PRL na regulação do sistema imunológico, esse hormônio parece desempenhar um papel importante no contexto Covid-19, como: (1) diferença de gênero na gravidade de Covid-19, onde homens têm maior risco de piores desfechos e morte, pois mulheres possuem níveis mais elevados de PRL, podendo ser um fator protetor (Jin et al, 2020); (2) até o presente, estudos sugerem que mulheres grávidas não apresentam risco extra de gravidade para Covid-19, assim níveis mais altos de PRL presentes na gestação podem proporcionar vantagem no combate à doença (Liu et al, 2020); (3) pacientes obesos possuem níveis de PRL mais baixos e são grupo de risco para a gravidade de Covid-19 (Kopelman, 2000). Sendo assim, em pacientes acometidos por Covid-19, a elevação fisiológica da PRL pode contribuir na resposta imune inicial frente à doença (Sen, 2020).

1.8 Resposta Hormonal ao estresse

A integridade da resposta hormonal ao estresse é muito importante em doenças críticas, associada sobretudo à elevação na secreção do cortisol, aumento na biodisponibilidade, redução nas proteínas ligadoras e redução no metabolismo do cortisol (Téblick et al, 2019). O eixo HPA tem papel central na resposta fisiológica ao estresse. Os neurônios do núcleo paraventricular expressam o hormônio liberador da corticotrofina (CRH), que estimula as células corticotróficas da hipófise a produzirem e secretarem ACTH, que por sua vez, atua em receptores membranários no córtex adrenal, estimulando a síntese e secreção do cortisol. O equilíbrio desse eixo se dá por retrocontrole negativo, onde o cortisol age em receptores glico ou mineralocorticoides no hipotálamo e hipófise, com inibição da liberação dos hormônios tróficos (Keller-Wood, 2015).

A determinação de pontos de corte que definem as concentrações adequadas de cortisol para situações de estresse é de difícil avaliação. Estudos sugerem que concentrações de cortisol matinal ($< 3 \text{ ug/dL}$ ou $> 18 \text{ ug/dL}$), podem definir insuficiência ou integridade do eixo corticotrófico. Todavia, valores intermediários requerem a realização de testes dinâmicos e o pico de secreção pode ser diferente de acordo com a agressão sofrida pelo organismo. Existem fatores pré-analíticos e variações circadianas. O cortisol deve ser coletado entre 8-9 horas da manhã, pois a sua concentração decresce em cerca de $1,8 \text{ ug/dL}$

por hora a partir de 7 horas (Brown et al, 2017; Schmidt et al, 2003).

Alguns estudos buscaram estimar a resposta adequada ao estresse em condições cirúrgicas e, foi observada uma correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de cortisol e o tipo de cirurgia, idade, sexo (Prete et al, 2018) e um estudo recente sumariza a importância da adequada investigação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal antes do tratamento com glicocorticoides em diversas condições (Karaca et al, 2021).

1.8.1 Resposta Hormonal ao estresse infeccioso na Covid-19

O cortisol e a PRL já foram descritos por desempenharem um papel crucial na modulação do sistema imunológico (Tan et al, 2020; Kurizky et al, 2021) contudo, sua relação na tempestade de citocinas ainda permanece desconhecida e durante as infecções virais, o eixo HPA é a principal via de respostas ao estresse, além de ser estimulado por citocinas (Silverman et al, 2005).

Estudos recentes sugerem diferentes mecanismos que poderiam justificar a hipótese de comprometimento funcional no eixo HPA durante a infecção pelo SARS-CoV-2, envolvendo (1) efeito citotóxico direto nos tecidos neuroendócrinos, (2) anticorpos anormais contra o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), (3) resistência adrenocortical relativa, (4) supressão do eixo pelo uso de glicocorticoide exógeno. O mecanismo citotóxico direto sobre as glândulas endócrinas foi sugerido em estudos que demonstraram a grande afinidade do SARS-CoV pelas células hipotálamo-hipofisárias, induzindo a hipofisite, destruição de células corticotróficas e insuficiência adrenal secundária (Jefferies et al, 1998; Leow et al, 2005). Outros autores demonstraram destruição direta no tecido adrenal, com degeneração lipídica adrenocortical, hemorragia e adrenalite focal (Santana et al, 2020). Outro estudo recente demonstrou a associação entre infarto adrenal bilateral e síndrome antifosfolípide desencadeada pela Covid-19 (Machado et al, 2021).

A presença de auto-anticorpos contra o ACTH tem sido descrita possivelmente ligada a sequências de aminoácidos do vírus SARS-CoV, com homologia a resíduos da molécula do ACTH. Os anticorpos produzidos pelo hospedeiro reconhecem o vírus, mas podem bloquear inadvertidamente a

ligação do ACTH ao seu receptor, reduzindo a liberação do cortisol no estresse infeccioso (Pal e Banerjee, 2020). A variação na sensibilidade biológica ao glicocorticoide parece associar-se a elevações em algumas citocinas incluindo a interleucina-1 e o fator de necrose tumoral, que modulam a atividade do receptor e podem induzir a resistência ao glicocorticoide (Wu et al, 2020).

2. JUSTIFICATIVA

A pandemia de Covid-19 trouxe diversos desafios no controle da disseminação, diagnóstico, acompanhamento clínico e educação em saúde. Entre os vários aspectos, observa-se que o desenvolvimento dos sintomas está diretamente relacionado às características de imunidade, idade, sexo e comorbidades. Contudo, estudos mostram que alterações no sistema endócrino somados aos fatores descritos, podem se associar no desenvolvimento de casos graves. O cortisol é elevado em situações de estresse fisiológico garantindo regulação imunológica e a PRL desempenha um papel imprescindível na estimulação da imunidade inata e adaptativa. No entanto, o papel destes hormônios em pacientes com Covid-19 é pouco compreendido, necessitando de maiores ensaios e observações clínicas. Estudos mostram que níveis anormais de cortisol e prolactina podem ser indicadores de gravidade da doença, assim o acompanhamento prévio destes parâmetros poderá ter um grande valor na tomada de decisão para mitigar a gravidade da doença.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a relação entre as concentrações basais de cortisol e prolactina e a gravidade da apresentação clínica em indivíduos com diagnóstico de Covid-19.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Descrever as características clínicas dos pacientes com Covid-19 na amostra de 104 pacientes adultos

- ✓ Analisar a associação entre as concentrações hormonais e os riscos de os pacientes apresentarem necessidade de internação, saturação de O₂ baixa (<93%), necessidade de suporte ventilatório.

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Este trabalho faz parte de um projeto multicêntrico denominado “*Biomarcadores moleculares e celulares do prognóstico COVID-19: protocolo para o estudo de coorte prospectivo TARGET*” (Kurizky et al., 2020). Foi registrado no banco de dados de Ensaio Clínicos Brasileiros com o código de registro RBR-62zdkk e constitui um estudo multicêntrico de coorte prospectivo de casos de COVID-19 consecutivos. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (CEP-FM/UnB) sob o número CAAE 30846920.7.0000.0008.

4.2 Descrição da área de estudo

O Distrito Federal (DF), situado na região Centro-Oeste, é uma das 27 unidades federativas do Brasil. É um território autônomo, dividido em 33 Regiões Administrativas (RA), totalizando uma área territorial de 5.779,997 km² com uma população de 3.094.325 habitantes (IBGE, 2021). É em sua área territorial que está inserida a capital do país, Brasília. Os pacientes têm origem de diferentes RAs do DF.

4.3 Descrição da amostra do estudo

A amostra foi composta por pacientes voluntários de ambos os sexos, maiores de 18 anos, recrutados em unidades de saúde secundária e terciária no DF, especificamente o Hospital Universitário de Brasília (Universidade de Brasília - UnB) e os hospitais públicos regionais das RA da Asa Norte, Gama, Santa Maria e Taguatinga.

A avaliação clínica foi realizada por médicos no pronto-socorro e os dados referentes aos sinais e sintomas associados à Covid-19 foram inseridos no prontuário utilizado como fonte de dados deste trabalho. Os pacientes foram classificados de acordo com a severidade da doença, no momento da inclusão, em dois grupos: grupo leve/moderado e grupo grave/crítico, de acordo com as definições propostas no estudo TARGET (Kurizky et al, 2021).

Os casos graves/críticos foram definidos para os fins do estudo por dispneia (frequência respiratória >30 respirações por minuto) associada a qualquer um dos seguintes critérios: saturação de oxigênio (<93%) em repouso, PaO₂ / FiO₂ ≤300 mmHg, insuficiência respiratória com necessidade de ventilação mecânica, falência de múltiplos órgãos, choque ou admissão em unidade de terapia intensiva. Pacientes que não atenderam aos critérios de caracterização da forma grave/crítica foram considerados casos leves/moderados e não foram internados.

4.4 Critérios de Inclusão e exclusão

Para as inclusões dos participantes no estudo foram utilizados os seguintes critérios: confirmação laboratorial de Covid-19 por RT-PCR, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinado e ser maior de 18 anos. Os critérios de exclusão foram: pacientes com diagnóstico laboratorial inconclusivo, indisponível ou apenas sorológico de Covid-19; uma condição de demência (Alzheimer, Parkinson, vascular frontotemporal, corpo de Lewy ou outros), esquizofrenia ou transtornos esquizoafetivos com características psicóticas; pacientes com doenças hemorrágicas congênitas previamente conhecidas ou trombofilia ou uso de anticoagulantes (para testes de coagulação) e pacientes que não tiveram dosagem de cortisol ou prolactina e gestantes. Nenhum paciente assintomático foi incluído nos grupos do estudo, conforme Figura 4.



Figura 4. Fluxograma de critérios de inclusão e exclusão. Os pacientes encaminhados ao pronto-socorro com formas leves ou moderadas de Covid-19 que não requerem hospitalização, classificados como grupo não internados. Os pacientes encaminhados para a sala de emergência com formas graves ou críticas de Covid-19 que requerem hospitalização, classificados como grupo internados

4.5 Amostras Biológicas

Para as análises bioquímicas do cortisol e prolactina foram realizadas coletas por punção venosa de sangue periférico em tubos a vácuo sem anticoagulante com gel separador de 10 mL para obtenção de soro. As amostras foram coletadas em até 24 horas após a confirmação do resultado de RT-PCR para SARS-CoV-2. Foi considerado como cortisol basal e prolactina basal a primeira amostra colhida após a confirmação por RT-PCR e a inclusão do paciente no estudo. As coletas e o transporte das amostras foram realizados levando em consideração todas as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia em seu manual de coletas de sangue venoso (SBPC/ML, 2009). Após a coleta, aguardou-se um período de 30 a 45 minutos para a formação do coágulo antes da centrifugação. A centrifugação foi realizada durante 10 minutos a 2.500 rpm. As amostras foram transportadas em caixas térmicas contendo gelox e termômetro para o monitoramento da temperatura que poderia variar entre 2 a 8°C, mantendo os tubos das amostras sempre na posição vertical dentro das caixas.

4.6 Dosagem do Cortisol

Os exames de cortisol e prolactina foram quantificados pelo laboratório clínico Sabin Medicina Diagnostica S/A (Brasília, DF, Brasil) pelo método de quimiluminescência (Advia Centaur, XPT Siemens, Berlim, Alemanha) seguindo todas as normas e recomendações do fabricante.

Para dosagem de cortisol foi utilizado um imunoensaio competitivo que utiliza a tecnologia de quimiluminescência direta. O cortisol presente na amostra do paciente compete com o cortisol marcado com éster de acridina por sítios de ligações de anticorpo anticortisol policlonal de coelho adsorvido em fase sólida, representado pelo reagente lite. O anticorpo anticortisol policlonal está ligado a um anticorpo monoclonal de rato, que por sua vez está covalentemente associado às partículas paramagnéticas na fase sólida.

O teste foi iniciado com a adição de 20 µL (microlitros) de soro em cuvetes únicas adicionando-se 50 µL de reagente lite e 250 µL de reagente de fase

sólida. Posteriormente, foram submetidos a uma incubação por um período de 5 minutos a 37°C. Após o término da incubação as cuvetes foram lavadas com água miliq fornecida no kit, juntamente com os outros reagentes. Em seguida adicionou-se 300 µL de reagente ácido e 300 µL de reagente base (hidróxido de sódio a 0,25 N). Por conseguinte, a reação de quimiluminescência foi iniciada produzindo emissão de luz que é quantificada pelo leitor, utilizando filtro de 450 nm e um segundo de referência de 630 nm. Para a interpretação quantitativa existe uma relação inversa entre a quantidade de cortisol presente no soro e a quantidade de unidades relativas de luz (URL – absorbância) detectadas pelo sistema de leitura do aparelho (Advia Centaur, XPT Siemens, Berlim, Alemanha). Os resultados foram apresentados em µg/dL, utilizando uma curva de calibração que é realizada a cada 10 dias ou a cada troca de lotes de reagentes.

4.7 Dosagem da Prolactina

A dosagem foi realizada por um imunoenensaio em sanduiche pela técnica de quimiluminescência, utilizando quantidades constantes de dois anticorpos. O primeiro anticorpo é um anticorpo policlonal antiproactina de cabra marcado com éster de acridina, caracterizado como reagente lite. O segundo anticorpo é um anticorpo antiprolactina monoclonal de rato, identificado como reagente de fase solida, que está covalentemente associado a partículas paramagnéticas.

O teste foi iniciado com a adição de 20 µL de soro em cuvetes únicas adicionando-se 50 µL de reagente lite e 250 µL de reagente de fase sólida. Posteriormente, foram submetidos a uma incubação por um período de 5 minutos a 37°C. Após o término da incubação, as cuvetes foram lavadas com água Miliq fornecida no kit, juntamente com os outros reagentes. Em seguida adicionou-se 300 µL de reagente ácido e 300 µL de reagente base (hidróxido de sódio a 0,25 N). Por conseguinte, a reação de quimiluminescência foi iniciada produzindo emissão de luz que é quantificada pelo leitor, utilizando filtro de 450 nm e um segundo de referência de 630 nm. Para a interpretação quantitativa existe uma relação inversa entre a quantidade de prolactina presente no soro e a quantidade de unidades relativas de luz (URL) detectadas pelo sistema de leitura do Advia Centaur por meio do valor de absorbância. Os resultados foram

apresentados em $\mu\text{g/dL}$, utilizando uma curva de calibração que é realizada a cada 28 dias.

4.8 Estratégia de análise dos dados

Foi realizada análise exploratória na qual, inicialmente, as variáveis categóricas e contínuas foram descritas por meio de frequências com porcentagens e medianas, respectivamente.

Em seguida, foi realizada análise multivariada de correlação de Pearson R utilizando as seguintes variáveis: necessidade de hospitalização, saturação de O_2 baixa (<93%), necessidade de suporte ventilatório, dias desde o início dos sintomas (DSSO), sexo, idade, taxa de cortisol basal, taxa de prolactina basal, presença de comorbidades, presença de sintomas gripais, dispneia, ageusia e/ou anosmia e fadiga.

Com os dados correlacionados, foram definidas como variáveis dependentes i) o risco de hospitalização II) o risco de saturação de O_2 baixa (<93%) e iii) e necessidade de suporte ventilatório. Como variáveis independentes de interesse (focais) foram definidas o cortisol basal e a prolactina basal e, como covariáveis: sexo, idade, presença de comorbidades, presença de síndrome gripal/sinais e sintomas de Covid-19 (febre, tosse, cefaleia, mialgia, coriza, espirros), presença de dispneia, presença de ageusia e/ou anosmia, presença de fadiga/cansaço.

Após os ajustes, realizou-se a comparação do desempenho dos modelos para eleger qual melhor elucidava a variação dos dados. Foram utilizados modelos generalizados lineares (GLMs): binominal-logit, $\text{Logit} = \log\text{-odds} = \log[p/(1-p)]$. Devido as variáveis de desfecho conter apenas duas informações (sim ou não), todos esses modelos foram ajustados por máxima verossimilhança. O ajuste foi realizado para o modelo completo e para todos os modelos aninhados, levando em consideração todas as variáveis, correlacionando-as com as variáveis de desfecho do estudo (hospitalização, saturação de O_2 baixa (<93%) e necessidade de suporte ventilatório).

O desempenho de cada modelo foi comparado para avaliar qual tinha maior suporte relativo dos dados. Dessa forma, foi empregado o ajuste por verossimilhança que atribuiu “notas” aos melhores modelos e quanto maior o

valor de verossimilhança, maior a pontuação do modelo. No entanto, o número de parâmetros de cada modelo foi levado em consideração, pois quanto maior a complexidade do modelo, melhor será o ajuste, fazendo com que o modelo receba uma “nota” menor. Para tal, foi utilizado os Critérios de Informação de Akaike Corrigido (AICc), utilizado para amostras pequenas (Arnold, 2010). O AICc mostrou o equilíbrio entre o ajuste e a complexidade dos modelos. Quanto menor for o valor de AICc melhor será o modelo. Assim, os critérios de informação de Akaike forneceram outro parâmetro chamado de pesos de Akaike (w_i), ou pesos das evidências em favor de cada modelo, sendo que quanto melhor o modelo maior será seu peso.

Como estratégia de modelagem, para cada variável dependente (desfecho) formulou-se um modelo completo com as variáveis focais (cortisol e prolactina codificados) e todas as variáveis de interesse (sexo, idade, DSSO, comorbidades, sinais/sintomas, fadiga/astenia, dispneia, anosmia/ageusia. Além desses, foram construídos modelos aditivos aninhados ao modelo completo, ou seja, modelos com todas as possíveis combinações de variáveis focais e covariáveis, incluindo um modelo “nulo” contendo apenas um intercepto. Todos os modelos foram ajustados para as variáveis independentes e foram calculados os valores de AICc, o delta AICc ($dAICc$) (que reflete a diferença entre o AICc de um modelo X e o AICc do melhor modelo) e os pesos de Akaike (w_i) que mostram os melhores modelos conforme maior for o peso calculado.

Após avaliar os modelos, foram estimados os efeitos de cada variável sobre os desfechos, ou seja, a probabilidade que cada variável contribui para o desfecho. Para tal, foi calculada i) a Importância Relativa das variáveis dependentes, que reflete a soma de todos os pesos de Akaike de todos os modelos nos quais a variável aparece [$\sum w_i + (j)$]; ii) o coeficiente de regressão beta (β) ponderadas pelos pesos de Akaike e transformados em Razões de Chances (OR); iii) e os intervalos de confiança de 85%, preconizado para abordagens que utiliza critérios de informação de Akaike, com o erro padrão incondicional (Arnold, 2010).

5. RESULTADOS

5.1. Descrição e características clínicas da população

A amostra do estudo TARGET foi constituída por 204 pacientes que tiveram diagnóstico confirmado de infecção por SARS-CoV-2 por RT-PCR e que procuraram os serviços de saúde nos hospitais HUB (Hospital Universitário), HRAN (Hospital Regional da Asa Norte), HRT (Hospital Regional de Taguatinga), HRSM (Hospital Regional de Santa Maria) e (HRG) Hospital Regional do Gama. Dos pacientes, 99/204 (48,5%) não realizaram dosagem de cortisol ou prolactina e uma paciente estava grávida, portanto, foram excluídos do estudo. Verificou-se que o grupo de pacientes excluídos, apresentavam características como idade, sexo, dias de sintomas, comorbidades, sintomas, uso de medicação semelhantes ao grupo de pacientes incluídos no estudo, podendo assim caracterizar que houve uma perda no tamanho da amostra, mas não nas características da amostra. Assim, esse braço do estudo foi conduzido com uma amostra de 104 pacientes, conforme descrição na Tabela 1.

Dos participantes do estudo, 55/104 (52,8%) são mulheres com média de idade de 46,8 anos e os participantes do sexo masculino apresentaram média de idade de 48,9 anos. Sete pacientes (6,7%) evoluíram para óbito. Na avaliação da frequência dos sintomas clínicos, 66/104 (63,5%) apresentaram febre e fadiga. A dispneia, cefaleia e a saturação (<93%) estiveram presentes em 64,5%, 48,1% e 51,9% dos pacientes respectivamente e ageusia/anosmia foi identificada em 46/104 (44,3%) da amostra (Tabela I).

Tabela 1. Descrição e características clínicas dos pacientes da amostra. Distrito Federal, 2021.

Parâmetros	Mulheres N = 55 (52,8%)	Homens N = 49 (47,2%)	Total N = 104
Média de Idade (anos)	47,1 (27-76)	48,9 (23-81)	47,9 (23-81)
Duração dos Sintomas (dias)	5,2 (1-12)	4,5 (1-11)	4,8 (1-12)
Sintomas iniciais			
Dispneia	27 (49,1%)	40 (81,6 %)	67 (64,4%)
Cefaleia	28 (50,9%)	22 (44,9%)	50 (48,1%)
Febre	35 (63,6%)	31 (63,2%)	66 (63,5%)
Saturação <93%	23 (41,8%)	31 (63,2%)	54 (51,9%)
Ageusia/Anosmia	27(58,7%)	19 (41,3%)	46 (44,3%)
Fadiga	36 (54,5%)	30 (45,5%)	66 (63,5%)
Evoluíram para Óbito	2 (28,6%)	5 (71,4%)	7 (6,7%)

Do total de participantes, 46/104 (43,8%) apresentaram pelo menos uma comorbidade, sendo que, hipertensão e diabetes mellitus foram as mais frequentes com 26/46 (56,5%) e 15/46 (32,6%) pacientes, respectivamente. Além disso, a cardiopatia foi detectada em 6/46 (13%), obesidade e asma foram declaradas em 5/46 (10,8%) e 3/46 (6,5%) dos pacientes, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Comorbidades em pacientes diagnosticados com Covid-19. Distrito Federal, 2021.

Comorbidades	Mulheres N = 21 (45%)	Homens N = 25 (56%)	Total N = 46
Hipertensão	9 (42,8%)	17 (68,0%)	26 (56,5%)
Diabetes mellitus	6 (28,5%)	9 (24,0%)	15 (32,6%)
Obesidade	1 (4,7%)	4 (16,0%)	5 (10,8%)
Cardiopatias	2 (9,5%)	4 (16,0%)	6 (13,0%)
Asma	1 (4,7%)	2 (25,0%)	3 (6,5%)

5.2. Classificação de acordo com critérios de gravidade da doença

Do total de pacientes, 78/104 (75%) foram classificados como graves /críticos e foram internados. Em contrapartida, 26/104 (25%) foram classificados como leves/moderados, de acordo com o que foi descrito no Protocolo TARGET (Kurizky et al, 2021). Assim, a maior frequência de internação foi observada em homens (Tabela 3).

Tabela 3. Características dos grupos de internados e não internados. Distrito Federal, 2021.

Parâmetros	Não internados N = 26 (25,0%)	Internados N = 78 (75,0%)	Total 104
Mulheres	20 (76,9%)	35 (44,9%)	55 (52,8%)
Homens	6 (23,1%)	43 (55,1%)	49 (47,2%)
Média de Idade (anos)	42,6 (27-75)	49,7 (23-81)	47,9 (23-1)
Duração dos Sintomas (dias)	4,2 (1-8)	5,1 (1-12)	4,8 (1-12)

Dos critérios de gravidade utilizados para definir a internação dos pacientes, dispneia, saturação de O₂ (<93%) e insuficiência respiratória estiveram presentes em 67/104 (64,4%), 54/104 (51,9%) e 52/104 (50,0%), respectivamente. O comprometimento pulmonar também foi observado em 53/104 (50,9%) e a diarreia foi identificada em 24(23,1%) dos pacientes, mesmo não sendo utilizada para definir critérios de gravidade (Tabela 4).

Cerca de 92,35% dos pacientes utilizaram algum medicamento durante o período de evolução da doença. Os antibióticos foram os medicamentos mais utilizados, 69/96 (71,9%), e a prescrição de corticoides foi verificada em 58/96 (60,4%). A administração de ivermectina e hidroxicloroquina, antes da inclusão no estudo, foi relatada em 26/96 (27,1%) e 21/96 (21,9%) respectivamente. Já o uso de algum antiviral foi verificado em 31/96 (32,3%) dos pacientes. Essa classe de medicamento foi empregada apenas pelo grupo de pacientes que estavam internados não estando presente no grupo de pacientes que apresentou a forma leve/moderada da doença. O uso de outros fármacos isolados ou combinados foi aplicado em 33/96 (34,4%) dos pacientes. A Tabela 3 descreve a frequência de sintomas e uso de medicamentos nos indivíduos submetidos ou não a internação hospitalar.

Tabela 4. Gravidade e medicamentos utilizados na admissão dos pacientes diagnosticados com Covid-19. Distrito Federal, 2021.

Parâmetros	Não internados	Internados	Total
Sintomas	N = 26 (25,0%)	N = 78 (75,0%)	104
Dispneia	5 (19,2%)	62 (79,5%)	67 (64,4%)
Saturação O ₂ <93%	4 (15,4%)	50 (64,1%)	54 (51,9%)
Insuf. Respiratória	0	52 (100%)	52 (50,0%)
Diarreia	10 (38,5%)	14 (17,9%)	24 (23,1%)
Alteração Pulmonar	2 (7,7%)	51 (65,4%)	53 (50,9%)
Medicamentos	N = 20 (20,8%)	N = 76 (79,2%)	N = 96 (92,3%)
Corticóides	40,0% (8/20)	65,8% (50/76)	60,4% (58/96)
Antibióticos	70,0% (14/20)	72,4% (55/76)	71,9% (69/96)
Ivermectina	35,0% (7/20)	25,0% (19/76)	27,1% (26/96)
Hidroxicloroquina	30,0% (6/20)	19,7% (15/76)	21,9% (21/96)
Antivirais	0	40,8% (31/76)	32,3% (31/96)
Outros	50,0% (10/20)	30,1% (23/76)	34,4% (33/96)

5.3. Análise Exploratória

Foi realizada uma análise preliminar e exploratória das variáveis para avaliar as associações bivariadas entre as variáveis de desfecho e as variáveis focais. Para isso, foi estabelecido que os valores de cortisol normal fossem estabelecidos entre 5,3 e 22,4 µg/dL Para prolactina foram utilizados valores normais para o sexo masculino de 2,0 a 18,0 µg/dL e para o sexo feminino, valores normais entre 2,0 a 29,0 µg/dL. Valores fora dessas faixas foram considerados como valores anormais.

Foram avaliados três desfechos clínicos em relação a concentração hormonal na admissão: (1) a necessidade de internação; (2) a saturação de O₂ baixa (<93%); e (3) a necessidade de suporte ventilatório.

5.3.1. Desfecho “necessidade de internação”

Foi observado que os pacientes que apresentaram concentração de cortisol elevada ou suprimida, quando comparado com pacientes com

concentrações de cortisol basal normal, estavam mais propensos a serem internados do que indivíduos com níveis de cortisol normal. Não observamos correlação entre as concentrações de prolactina e a necessidade de internação.

A Figura 5 demonstra a relação entre a concentração de cortisol e prolactina, em intervalos considerados como normais e anormais na admissão hospitalar dos pacientes.

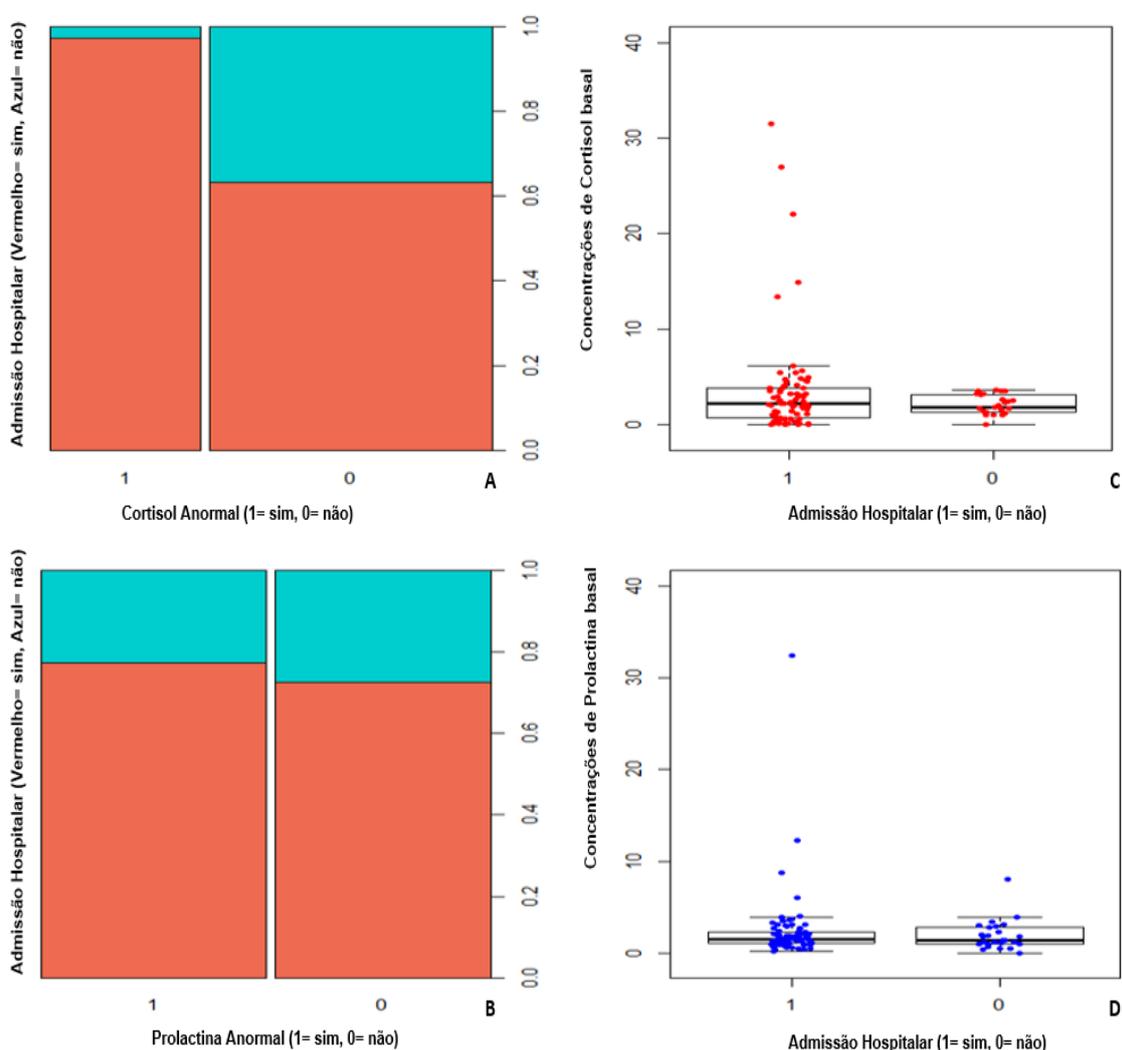


Figura 5. Análise entre internação hospitalar e níveis basais de cortisol e prolactina. Relação entre o cortisol (A), cortisol normal (A0) e cortisol anormal (A1). A cor vermelha indica pacientes internados e a cor azul pacientes não internados; Relação entre a prolactina (B) e a internação hospitalar, prolactina normal (B0) e prolactina anormal (B1), A cor vermelha indica pacientes internados e a cor azul pacientes não internados. (C) Níveis basais de cortisol (µg/dL), (C0) pacientes não internados e (C1) pacientes internados. (D) Níveis basais de prolactina (µg/dL), (D0) pacientes não internados e (D1) pacientes que foram internados. Os valores de referência para cortisol foram 5,3 e 22,4 µg/dL e para a prolactina foram de 2 a 18 µg/dL para homens e de 2 a 29 µg/dL para mulheres.

5.3.2. Desfecho “Saturação de O₂ Baixa (<93%) e Necessidade de Suporte Ventilatório.”

As análises exploratórias também foram realizadas para avaliar as relações entre as concentrações de cortisol e prolactina basal, com a saturação de O₂ baixa (<93%). Observou-se que os pacientes apresentaram concentrações de cortisol basal anormal uma correlação positiva com a baixa saturação de O₂, quando comparado com cortisol normal. No entanto, essa associação não foi observada na prolactina basal alterada, quando comparada com a prolactina basal normal, conforme Figura 6.

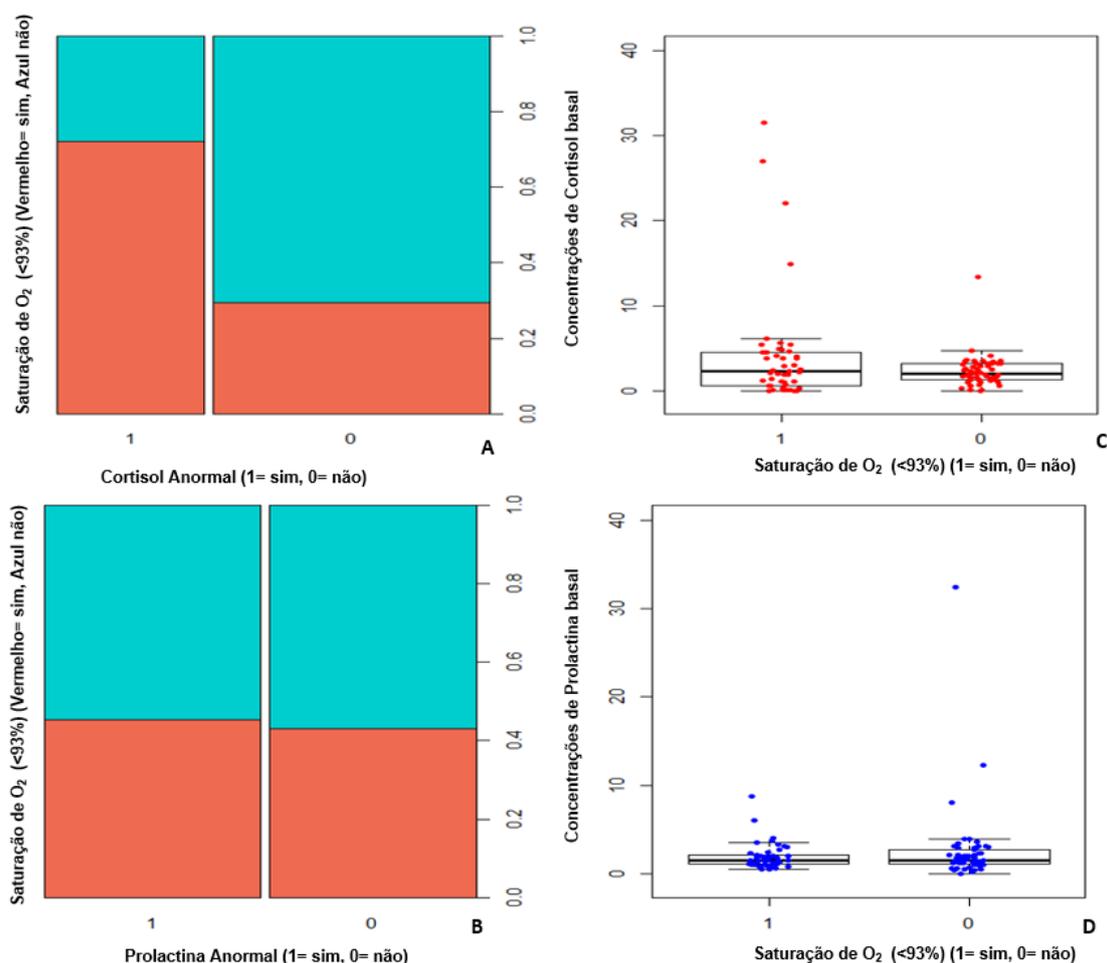


Figura 6: Análise entre níveis basais de cortisol e prolactina, com apresentação de saturação de O₂ baixa (<93%). Relação entre cortisol (A) com a baixa saturação de O₂ após diagnostico para covid, cortisol normal (A0) e cortisol anormal (A1). A cor vermelha indica pacientes com saturação de O₂ baixa (<93%) e a cor azul pacientes com saturação acima de 93%. Relação entre prolactina e baixa saturação (B), prolactina normal (B0) e prolactina anormal (B1). (C) Níveis basais de cortisol (µg/dL), (C0) pacientes com saturação maior que 93% e (C1) pacientes com saturação de O₂ baixa (<93%). (D) níveis basais de prolactina. (D0) pacientes com saturação maior que 93% e (D1) pacientes com saturação de O₂ baixa (<93%).

Na análise preliminar, foi possível observar também uma correlação positiva entre níveis de cortisol alterado e a necessidade de suporte de oxigênio pelos pacientes. Essa correlação não mostrou associação entre níveis de prolactina e necessidade de suporte de ventilatório, conforme Figura 7.

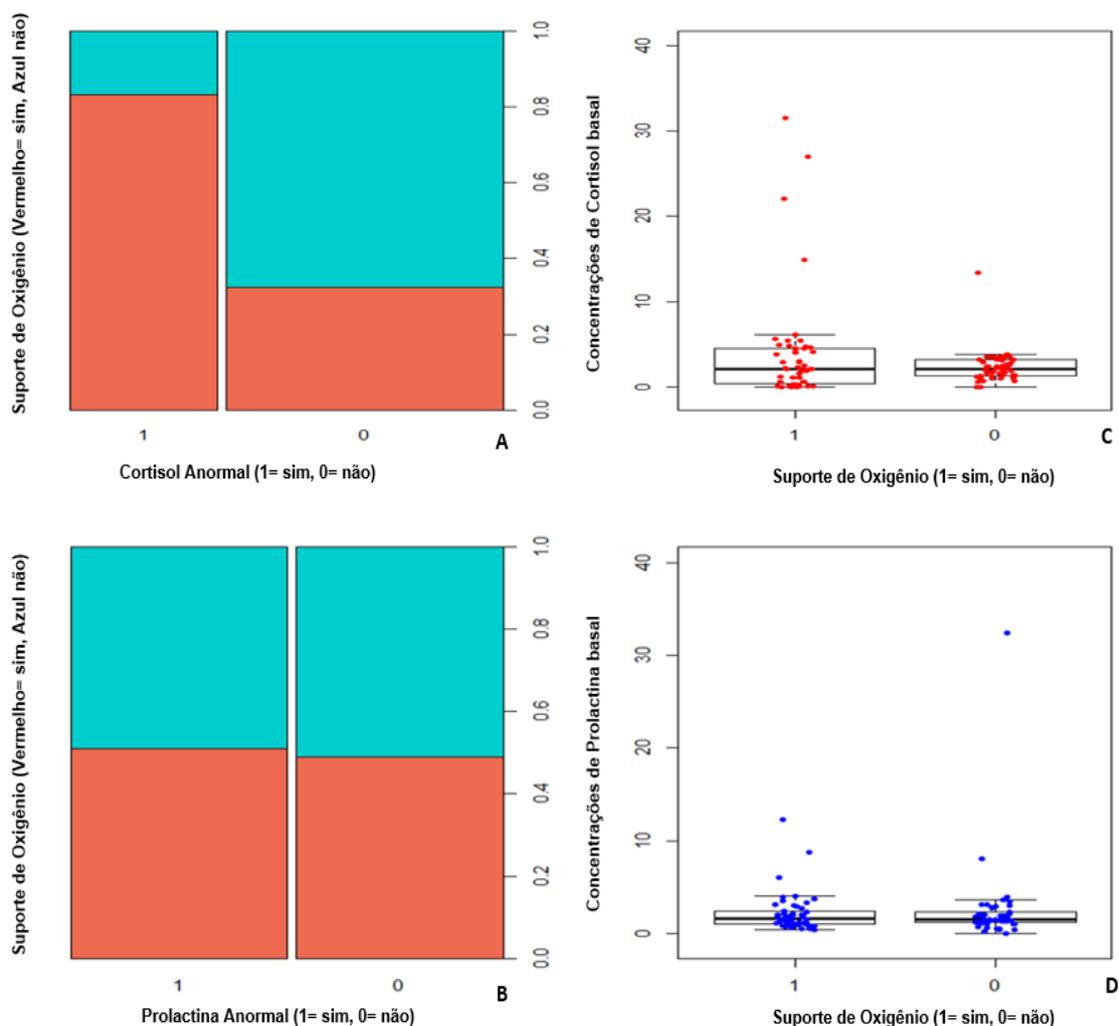


Figura 7: Análise entre níveis basais de cortisol e prolactina com a necessidade de suporte de suporte ventilatório. Relação entre o cortisol (A) e a necessidade de suporte ventilatório, (A0) cortisol normal e (A1) cortisol anormal, a cor vermelha indica o uso de suporte ventilatório e a cor azul o não uso do suporte ventilatório. Relação entre a prolactina (B) e a necessidade de suporte ventilatório, (B0) prolactina normal e (B1) prolactina anormal, a cor vermelha indica o uso de suporte ventilatório e a cor azul o não uso do suporte ventilatório. (C) Níveis basais de cortisol (µg/dL), (C0) pacientes sem o uso de suporte ventilatório e (C1) pacientes com com uso de suporte ventilatório. (D) níveis basais de prolactina (µg/dL), (D0) pacientes sem o uso de suporte ventilatório e (D1) pacientes com com uso de suporte ventilatório.

Após a análise exploratória dos dados, correlacionando o cortisol e a prolactina basal com as variáveis de desfecho: hospitalização, saturação de O₂ baixa (<93%) e necessidade de suporte ventilatório, verificou-se que o cortisol

alterado apresenta uma associação positiva com as três variáveis. Foi avaliado também, o comportamento do cortisol alterado nos pacientes internados e não internados, se apresentavam diferenças com relação ao sexo, comorbidades e idade.

O cortisol alterado esteve presente em 1/26 (3,84%) dos pacientes que não foram submetidos a internação, enquanto o cortisol alterado esteve presente em 35/78 (44,87%) dos pacientes internados (Figura 8A). Dos 35 pacientes internados com cortisol alterado 22 (62,85%) foram homens e 13 (37,15%) mulheres (Figura 8B). A variável “comorbidades” esteve presente em 18/35 (51,42%) dos pacientes internados com cortisol alterado e 17/35 (48,58%) dos pacientes internados com cortisol alterado, apresentavam nenhum tipo de comorbidade (Figura 8C).

O grupo de 78 pacientes internados, apresentou média de idade de 49,7 anos. No mesmo grupo, 35 (44,87%) apresentou cortisol alterado e uma média de idade de 52,6 anos (23 a 81 anos). Em contrapartida, 43/78(55,13%) exibiram dosagens de cortisol normal e média de idade de 47,2 anos (27 a 80 anos) (Figura 8D).

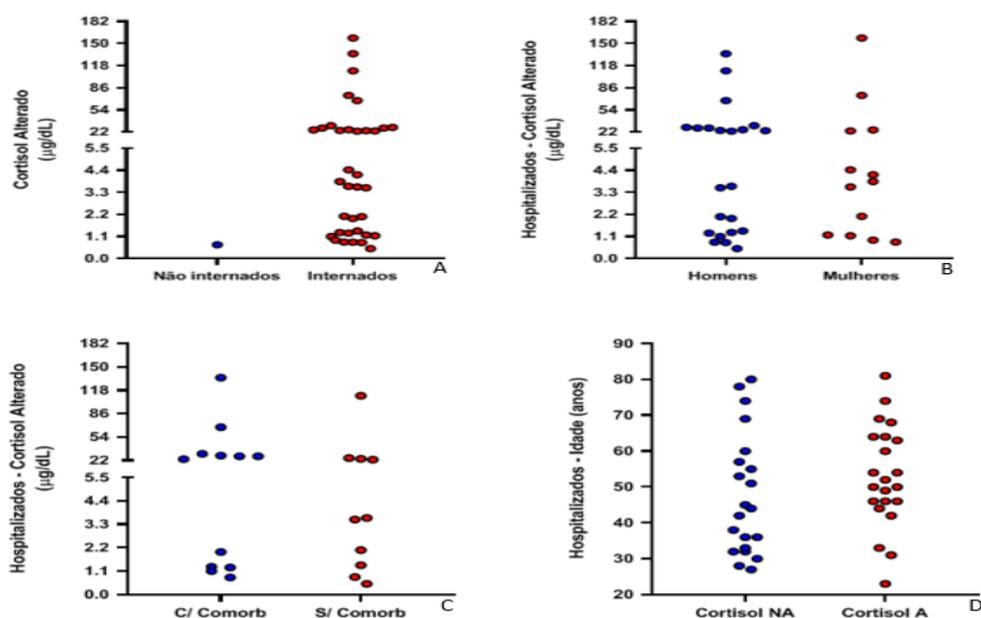


Figura 8. Relação de cortisol alterado com os grupos de estudo, internados ou não internados, sexo, com ou sem comorbidades e idade. (A) Relação de cortisol alterado nos grupos de pacientes internados e não internados. (B) Cortisol alterado no grupo de pacientes internados subdivididos por sexo. (C) Cortisol alterado no grupo de pacientes internados que apresentavam ou não comorbidades. (D) Grupo de pacientes hospitalizados divididos em pacientes com cortisol alterados e não alterados com as médias de idade de cada grupo.

A PLR alterada esteve presente em 6/25 (24%) dos pacientes que não foram submetidos a internação, enquanto a PLR alterada esteve presente em 19/25 (76%) dos pacientes internados (Figura 8A). Dos 19 pacientes internados com prolactina alterada 11(57,90%) foram homens e 8 (42,10%) mulheres (Figura 8B). A variável “comorbidades” esteve presente em 12/19 (63,15%) dos pacientes internados com prolactina alterada e 7/19 (36,85%) dos pacientes internados com prolactina altaerada, apresentavam nenhum tipo de comorbidade (Figura 8C).

O grupo de 78 pacientes internados, apresentou média de idade de 49,7 anos, enquanto o grupo internado com prolactina alterada teve média de idade de 42,25 anos (27 a 76 anos) e os hospitalizados com prolactina normal apresentaram média de idade de 48,27 anos (23 a 81anos) (Figura 8D).

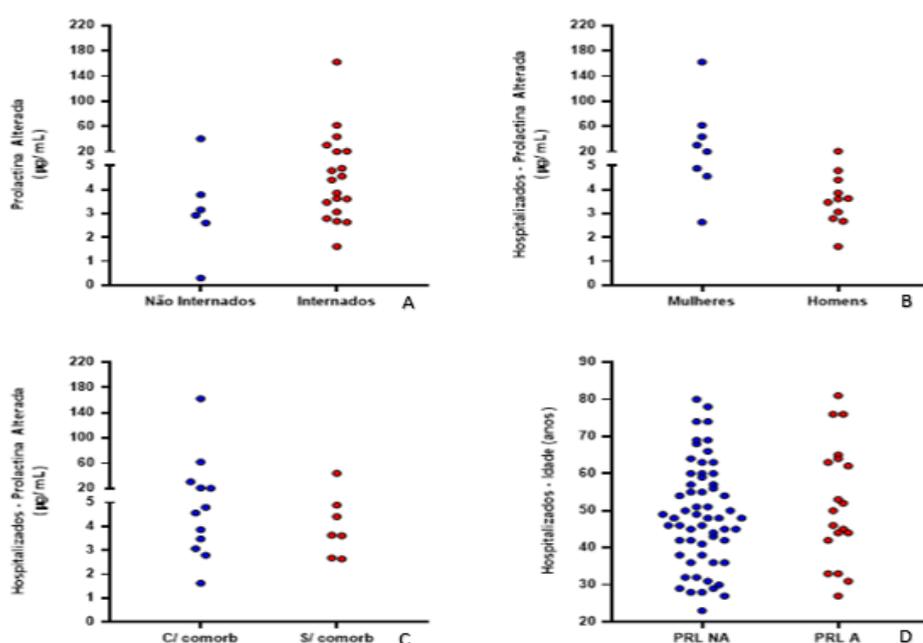


Figura 9. Relação de prolactina alterada com os grupos de estudo, internados ou não internados, sexo, com ou sem comorbidades e idade. (A) Relação de prolactina alterada nos grupos de pacientes internados e não internados. (B) Prolactina alterada no grupo de pacientes internados subdivididos por sexo. (C) Prolactina alterada no grupo de pacientes internados que apresentavam ou não comorbidades. (D) Grupo de pacientes hospitalizados divididos em pacientes com Prolactina alterada e não alterada com as médias de idade de cada grupo

Após a análise das exploratória entre as variáveis, observou-se que os valores de cortisol basal anormais estiveram correlacionados positivamente com idade, sexo, internação hospitalar, necessidade de suporte de oxigênio,

saturação baixa de O₂ (<93%), dispneia, e, negativamente com astenia e anosmia/ageusia. No caso da prolactina basal alterada, não foi constatada correlação positiva com nenhuma das variáveis estudadas. Contudo, pôde-se notar uma correlação negativa com a idade, tempo desde o início dos sintomas e óbito.

A matriz de correlação (Figura 10) mostra as correlações positivas e negativas entre diversas variáveis, de acordo com a intensidade de cor. Já as tabelas 5 e 6 mostram os valores de r de Pearson e os respectivos valores de p das variáveis que se correlacionaram positivo ou negativamente com o cortisol basal anormal ou com a prolactina basal anormal, respectivamente.

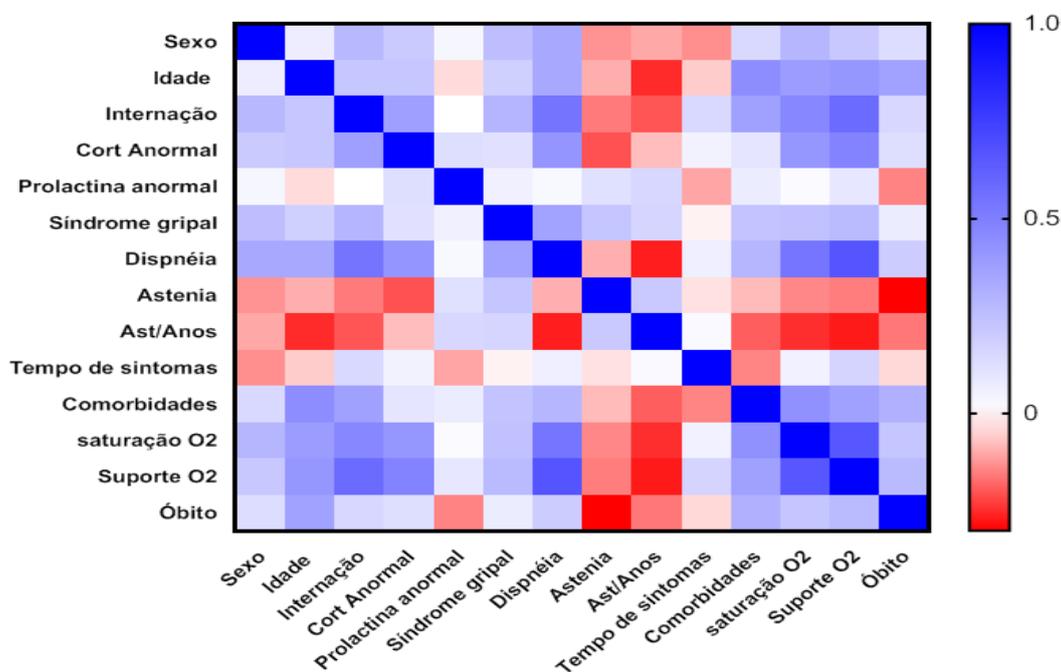


Figura 10: Teste de correlação de Pearson, correlação entre as variáveis.

Após análise, observou-se que o cortisol basal anormal está relacionado positivamente com: sexo, idade, internação, dispneia, astenia, saturação de O₂ baixa (<93%), necessidade de suporte de oxigênio e negativamente com prolactina anormal, síndrome gripal, anosmia/ageusia, comorbidades e óbito. As informações constam na Tabela 5, que apresenta os valores de p e os valores de r de Pearson das associações entre as variáveis estudadas.

Tabela 5. Apresentação dos valores de p e valores de r de Pearson para associação positiva ou negativa entre as variáveis estudadas e o cortisol anormal

Cortisol anormal			
Variável	Valor p	Valor r de Pearson	Tipo de associação
Sexo	0,038	0,204	+
Idade	0,027	0,218	+
Internação	<0,001	0,373	+
Prolactina anormal	0,191	0,129	+
Síndrome Gripal	0,245	0,114	+
Dispneia	<0,001	0,414	+
Astenia	0,035	-0,207	-
Ageusia/Anosmia	0,430	-0,078	-
Tempo de Sintomas	0,607	0,604	+
Comorbidades	0,318	0,099	+
Saturação O ₂	<0,001	0,410	+
Suporte O ₂	<0,001	0,485	+
Óbito	0,198	0,127	+

A tabela 6 apresenta os valores de p e os valores de r de Pearson das associações entre as variáveis estudadas e a prolactina basal anormal. Verifica-se uma associação negativa entre a idade, tempo de sintomas e óbito com a prolactina alterada e uma associação positiva entre as demais variáveis estudadas.

Tabela 6. Apresentação dos valores de p e valores de r de Pearson para associação positiva ou negativa entre as variáveis estudadas e a prolactina anormal

Prolactina anormal			
Variável	Valor p	Valor r de Pearson	Tipo de associação
Sexo	0,749	0,031	+
Idade	0,659	-0,043	-
Internação	1,000	0,001	+
Cortisol anormal	0,191	0,129	+
Síndrome gripal	0,572	0,056	+
Dispneia	0,795	0,025	+
Astenia	0,224	0,120	+
Ageusia/Anosmia	0,114	0,155	+
Tempo de sintomas	0,279	-0,107	-
Comorbidades	0,452	0,074	+
Saturação O ₂	0,858	0,017	+
Suporte O ₂	0,356	0,091	+
Óbito	0,136	-0,147	-

5.4 Inferência dos Dados

5.4.1 Desfecho “Hospitalização”

Para melhor codificar o cortisol e a prolactina, foram ajustados modelos alternativos e comparado os valores dos critérios de informação de Akaike (AICc) para amostras pequenas. Nesse caso, no procedimento foi selecionada a melhor forma de análise do cortisol e da prolactina. Para o cortisol foi utilizado -[Normal' (5.3–22.5) vs. 'Anormal' (<5.3 ou >22.5) (cort_anorm)] e para prolactina utilizou-se [variável contínua (incrementos de 5 unidades e 'centrada' em 0.3 [mínimo] Linear (prl_5)]. Objetivando maiores esclarecimentos, todos os modelos propostos estão presentes no Apêndice 1.

Foi formulado um modelo completo com as variáveis focais cortisol e prolactina e as covariáveis de interesse: sexo, idade e DSSO (dias desde o início dos sintomas). Para tal, foram construídos modelos aditivos aninhados com todas as possíveis combinações de variáveis focais e covariáveis, onde todos esses modelos foram ajustados para as cinco variáveis independentes.

Foi calculado os AICc de cada um dos 32 modelos possíveis, conforme Apêndice 2, assim como o delta de AICc, que é a diferença entre o AICc do modelo com maior suporte de dados e o segundo melhor modelo que explica melhor os dados. Os modelos são considerados competitivos quando o delta é $AICc < 2$. A medida de importância relativa de cada variável independente foi calculada somando os pesos de Akaike de todos os modelos, nos quais essa variável aparece.

Utilizando o ICs de 85%, preconizado para abordagens baseadas no AICc, foi calculado as estimativas médias, derivadas do conjunto de modelos, ajustando para valores de razão de chaces (OR).

Para as análises, a variável idade foi centrada na idade mínima do paciente mais jovem do banco de dados (23 anos). Essa estratégia foi aplicada para que os modelos não realizassem predições para idade inferior à idade dos pacientes estudados, além disso, o incremento da idade foi realizado de 5 em 5

anos.

Após a classificação de desempenho dos modelos, foi observado que o modelo nulo (30), apresentou nenhuma variável. Isso sugere que pelo menos uma das variáveis dependentes, provavelmente desempenham algum papel na modulação das chances de internação hospitalar dos 104 pacientes. Esse cenário que permite rejeitar a hipótese de que a internação hospitalar foi aleatória para os pacientes.

Os dois primeiros modelos apresentaram delta de AICc < 2 e foram competitivos com suporte alto para os dados. Assim, o modelo top apresentou todas as cinco variáveis analisadas. Dessa forma, sugeriu que o cortisol basal anormal, prolactina basal com incrementos de (5 ng/dL), sexo, idade a cada 5 anos e DSSO, possivelmente, desempenham algum papel independente na modulação das chances de internação hospitalar.

O cortisol basal esteve presente em todos os modelos com suporte alto ou moderado. Enquanto isso, a prolactina basal esteve presente em apenas um modelo de suporte alto e em dois modelos de suporte moderado. Isso permite sugerir que o papel do cortisol basal alterado, nas chances de internação hospitalar, provavelmente, foi maior ou muito mais importante que a prolactina basal. Os efeitos das estimativas dos parâmetros foram calculados conforme Tabela 7.

Tabela 7. Estimativas dos parâmetros odds ratio, intervalo de confiança (IC) e importância relativa das variáveis analisadas para o desfecho internação hospitalar

Variável	OR	85% IC	Importância	
Cortisol (anormal)	15,771	3,347	74,317	0,994
Sexo	4,547	1,865	11,087	0,919
Idade (Adicional de 5 em 5 anos)	1,247	1,061	1,464	0,767
DSSO (Adicional de 1 dia)	1,277	1,062	1,535	0,740
Prolactina (Incrementos de 5 ng/dL)	1,123	0,968	1,304	0,502

Os níveis anormais de cortisol basal tiveram um efeito positivo ajustado para idade, sexo, DSSO e prolactina basal nas chances de internação hospitalar. Isso sugere que: em relação ao cortisol basal anormal baixo (abaixo de 5,3

$\mu\text{g/dL}$) e cortisol basal alto (acima de $22,5 \mu\text{g/dL}$), os pacientes tiveram cerca de 16 vezes mais chances de serem internados, com OR ajustada em 15,77 e IC= 3,35 a 74,32.

O efeito da prolactina basal ajustado para idade, sexo, DSSO e cortisol basal nas chances de internação hospitalar foi efetivamente indistinguível de zero: beta = 0,116, SE = 0,103 (SE incondicional = 0,104), (IC= 0,033 a 0,265), o OR ajustado foi de 1,12 (IC= 0,97 a 1,30).

Em geral, os homens foram mais propensos que as mulheres à internação. Para tal, a média do modelo com OR ajustada foi de 4,55 (IC= 1,87 a 11,09). Os pacientes mais velhos também foram mais propensos à internação, pois as chances ajustadas aumentaram 1,25 (IC= 1,06 a 1,46) para cada cinco anos adicionais de idade. Finalmente, as chances de internação hospitalar eram cerca de 1,28 vezes maiores (IC= 1,06 a 1,54) para cada dia adicional de sintomas (dentro do intervalo de 1 a 12 dias).

As cinco variáveis independentes que foram consideradas classificam-se em termos de importância relativa, da seguinte forma: cortisol basal (0,994), sexo (0,919), idade (0,767), DSSO (0,740) e prolactina (0,502). Isso reforça a perspectiva de que os níveis de prolactina basal não foram associados às chances de internação hospitalar. Todavia, os níveis de cortisol estão fortemente associados à internação (Figura 11).

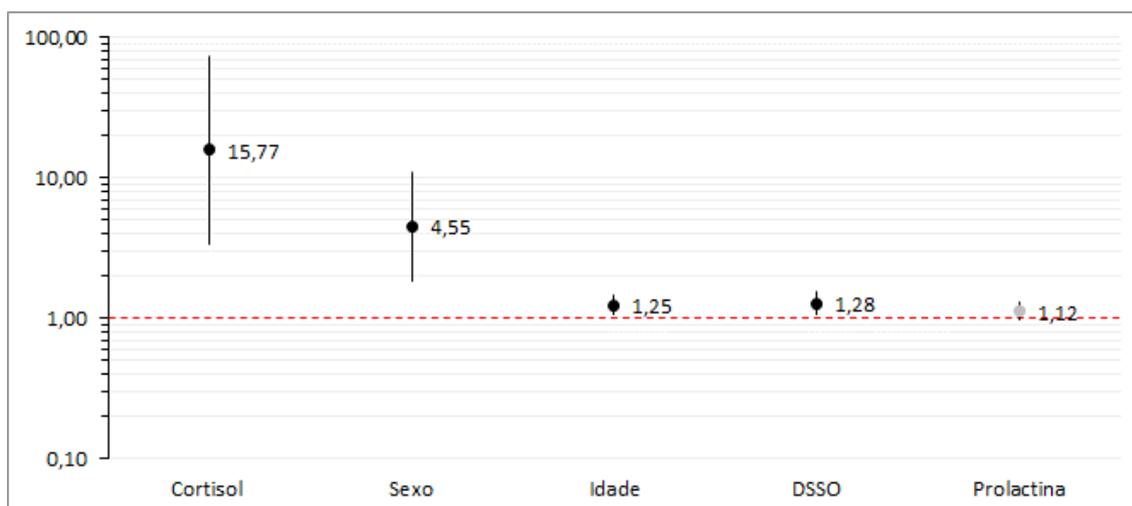


Figura 11. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a odds ratio ajustada para cada uma das cinco variáveis analisadas. As variáveis cortisol, sexo, idade e DSSO apresentaram efeitos positivos para o desfecho hospitalização, enquanto a prolactina basal não mostrou associação.

5.4.2 Desfecho “Saturação de O₂ baixa (<93%)”

Assim como na análise do desfecho hospitalização, para a inferência dos dados de saturação baixa de O₂ (<93%), foram seguidos os mesmos critérios. Primeiro, a escolha da melhor forma de codificar o cortisol e a prolactina, e neste caso, o sistema selecionou para o cortisol [Normal' (5.3–22.5) vs. 'Anormal' (<5.3 ou >22 .5) (cort_anorm)] e para prolactina [Baixa (≤8.0 ng/dL) vs. Alta (>8.0 ng/dL)].

Foi ajustado os modelos alternativos e comparado os valores de critérios de informação de Akaike para amostras pequenas. O modelo completo foi ajustado com as variáveis focais (cortisol e prolactina) e codificadas como descrito acima. Neste modelo, além das covariáveis, sexo, idade e DSSO utilizadas no desfecho de hospitalização, foram acrescentadas nas análises as variáveis comorbidades, sinais e sintomas gripais (febre, tosse, coriza, espirros, cefaleia, mialgia), dispneia, fadiga/astenia, anosmia/ageusia.

Foram construídos modelos aninhados ao modelo completo com todas as possíveis combinações das variáveis focais e covariáveis, incluindo o modelo nulo. Em alguns pacientes, a dispneia pode ser causada pela saturação baixa. Dessa forma, a inclusão da dispneia como variável exploratória nos modelos de saturação foi vista como estranha. Portanto, as análises foram realizadas duas vezes: uma análise com a variável dispneia e sem a variável dispneia. Para a primeira análise, com a dispneia, foram ajustados 1024 modelos (2¹⁰ variáveis), e quando a dispneia foi excluída, foram ajustados 512 modelos (2⁹ variáveis).

Na classificação dos modelos, com ou sem a presença das variáveis, verificou-se que, o modelo nulo, sem variável e somente com o intercepto, não apresentava qualquer suporte de dados (delta de AICc = 46,3 e peso aproximadamente 0,0). Isso sugere que algumas variáveis dependentes, que aparecem em outros modelos, provavelmente desempenham algum papel na modulação das chances de ter saturação baixa O₂ (<93%). Sendo assim, possibilita rejeitar a hipótese de que a saturação baixa O₂ (<93%) foi aleatória, em relação as 10 variáveis independentes analisadas.

Nos 1024 modelos analisados para o desfecho da saturação baixa de O₂ (<93%), quando a dispneia estava inclusa nas avaliações, nove modelos apresentaram suporte de dados alto, com delta AICc<2. Por conseguinte, 62

modelos apresentaram suporte de dados moderados, com delta AICc entre 2 e 5, e 953 modelos apresentaram suporte baixo, com delta AICc >5 (Figura 12).

O cortisol basal alterado esteve presente em todos os modelos com suporte alto de dados. Já nos modelos com suporte moderado, foi de 88% (55/62) e em apenas 46% (438/953) dos modelos com suporte baixo. Em contraste, a prolactina esteve presente em apenas 1 modelo com suporte alto de dados. Quando ao com suporte moderado, a presença foi em 27% (16/62) e em 55% (524/953) dos modelos com suporte baixo. Isso indica que se a prolactina teve algum papel na modulação das chances dos pacientes apresentarem saturação de O₂ baixa (<93%), este foi bem menor quando comparado com o desempenho do cortisol.

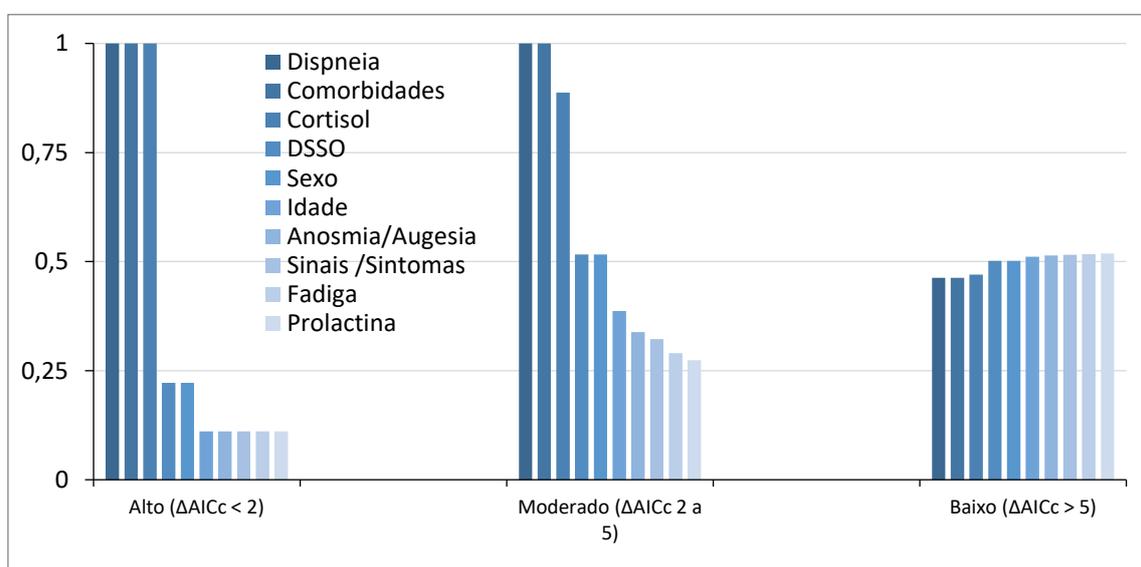


Figura 12. Modelos analisados para o desfecho da saturação. Modelos com suporte alto de dados ($\Delta AICc < 2$), principais modelos com suporte moderado ($\Delta AICc$ 2 a 5) e principais modelos com suporte baixo ($\Delta AICc > 5$), para o desfecho saturação baixa de O₂ <93%.

Os efeitos das estimativas médias de cada parâmetro e importância relativa de cada variável foram calculados nos modelos analisados. As OR foram ajustadas e os ICs de 85%, consistentes com a abordagem baseada no AICc, foram estimados (Tabela 8).

Tabela 8. Estimativas dos parâmetros odds ratio (OR), intervalo de confiança (IC) e importância relativa das variáveis analisadas para o desfecho saturação baixa <93%.

Variável	OR	85% CI		Importância
Dispneia	10,599	3,538	31,754	0,993
Comorbidades	6,132	2,550	14,749	0,973
Cortisol (Anormal)	3,950	1,669	9,350	0,849
DSSO (Adicional de 1 dia)	1,154	0,983	1,355	0,432
Sexo	2,055	0,912	4,632	0,427
Idade (Adicional de 5 anos)	1,124	0,955	1,323	0,362
Anosmia/ageusia	0,619	0,274	1,400	0,316
Sinais/Sintomas	0,447	0,082	2,436	0,291
Fadiga/Astenia	0,717	0,312	1,645	0,275
Prolactina (≤ 8.0 e > 8.0 ng/dL)	1,286	0,578	2,858	0,263

Os níveis de cortisol basal anormais tiveram efeitos positivos (após ajuste para todas as variáveis na análise) nas chances de saturação baixa (<93%) (beta =1,374, SE=0,593 (SE incondicional=0,601), (IC 0,512 a 2,235)). Isso sugere que em relação aos pacientes com níveis anormais de cortisol, os pacientes com cortisol basal baixo (abaixo de 5,3 $\mu\text{g/dL}$) ou alto (acima de 22,5 $\mu\text{g/dL}$) eram cerca de 4 vezes mais propensos a ter saturação baixa (<93%), com OD ajustada em 4,0 e IC= 1,67 a 9,35.

O efeito ajustado para prolactina basal (>8ng/dL) nas chances de saturação baixa (<93%) foi efetivamente indistinguível de zero (beta=0,251, SE=0,551 (SE incondicional=0,557), (IC= 0,548 a 1,050), com OD ajustada em 1,30 e IC= 0,58 a 2,86. Assim, como a prolactina, as variáveis DSSO, sexo, idade, sinais/sintomas, fadiga/astenia e anosmia/ageusia não apresentaram associação com a variável saturação baixa (<93%).

Os pacientes com uma ou mais comorbidades também foram mais propensos a apresentar saturação baixa (<93%) (Figura 13), com OD ajustada em 6,1 e (IC= 2,55 a 14,75).

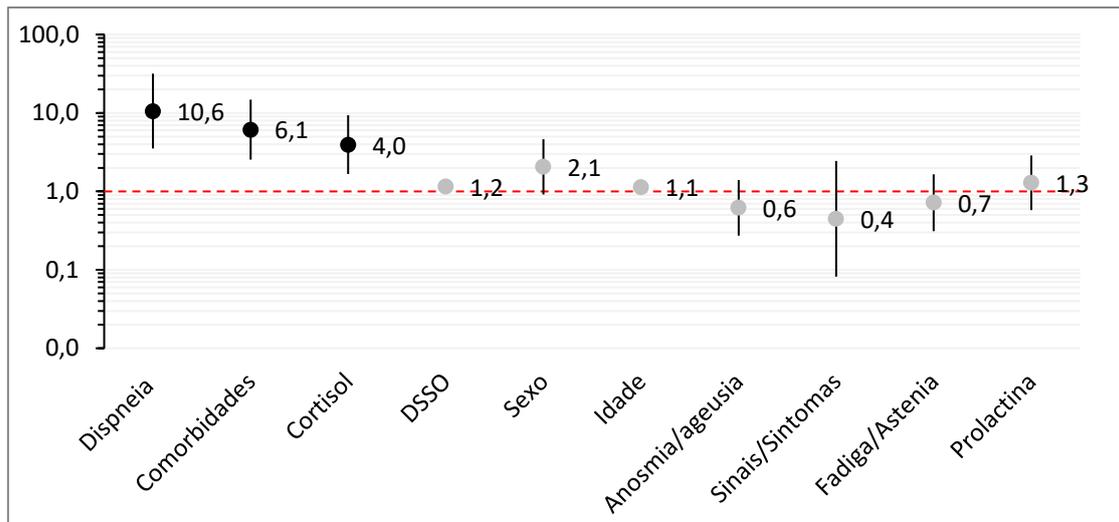


Figura 13. Apresentação os intervalos de confiança (85%) com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas de saturação baixa (<93%). As variáveis dispneia, comorbidades e cortisol, apresentaram associação positiva para saturação baixa (<93%), enquanto a prolactina basal, DSSO, sexo, idade, sinais/sintomas, fadiga/astenia e anosmia/ageusia não mostraram associações.

Pacientes que exibem saturação de oxigênio baixa podem apresentar dispneia, caso eles tenham sido acometidos por danos no tecido pulmonar. Em consequência, isso pode causar dificuldade respiratória. Portanto, para verificar se os achados sobre o cortisol e a prolactina foram robustos, uma nova análise foi realizada excluindo a variável dispneia.

Na análise após a exclusão da dispneia, foram avaliados 512 modelos aninhados ao modelo completo. Para isso, foi incluso o modelo nulo e calculada a importância relativa de cada variável, assim como o peso de AICc e o delta de AICc. Essa estratégia foi aplicada para verificar quais modelos tinham maior suporte nos dados.

Do total, 15 modelos apresentaram suporte alto, 68 modelos com suporte moderado e 429 modelos com suporte baixo dos dados. Assim, o cortisol e comorbidades estiveram presentes em 100% dos modelos com suporte alto ou moderado dos dados, com uma importância relativa de 0,994 e 0,987, respectivamente. Foram calculados os valores de beta e ajustados para OR com IC de 85% (Figura 14).

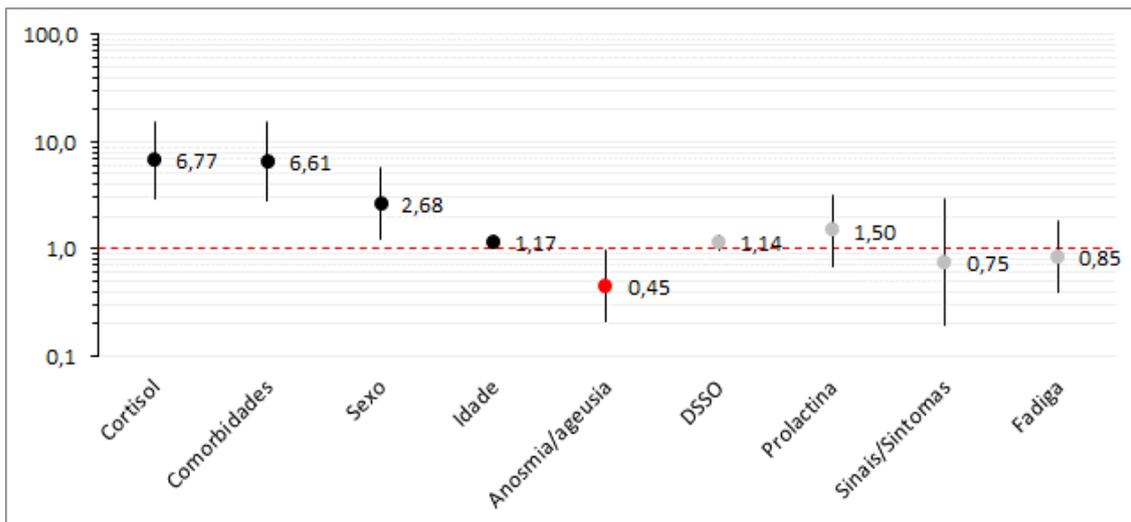


Figura 14. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a Odds Ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas após exclusão da variável dispneia. As variáveis cortisol, comorbidades, sexo e idade apresentaram associação positiva para saturação baixa (<93%), enquanto a prolactina basal, DSSO, sinais/sintomas, fadiga/astenia não mostraram associações e anosmia/ageusia mostraram associação negativa.

Com a exclusão do sintoma dispneia das análises, as variáveis focais cortisol e prolactina não apresentaram mudanças em relação às associações. Dessa forma, permaneceram qualitativamente as mesmas. Os efeitos de comorbidades também não sofreram alterações com a exclusão da variável dispneia. Por outro lado, as estimativas de efeito para idade, sexo e anosmia/ageusia são mais claras (IC de 85% excluem valores nulos) quando a dispneia é excluída. O cortisol permaneceu com um efeito positivo claro (ajustado para todas as variáveis, exceto a dispneia) nas chances de saturação baixa (<93%), com OR ajustada em 6,77 e IC= 2,98 a 15,34. Enquanto isso, a prolactina continuou não apresentando associação após ajuste para todas as variáveis e com OR ajustada em 1,50 e IC= 0,70 a 3,22.

Na análise, foi possível observar uma associação negativa para anosmia/ageusia com uma OR ajustada em - 0,45 e (IC= -0,21 a -0,98). Em seguida, a variável anosmia/ageusia foi excluída para averiguar se a associação negativa poderia influenciar nas análises das variáveis focais cortisol e prolactina. Contudo, anosmia/ageusia permaneceu qualitativamente inalterada (Figura 15).

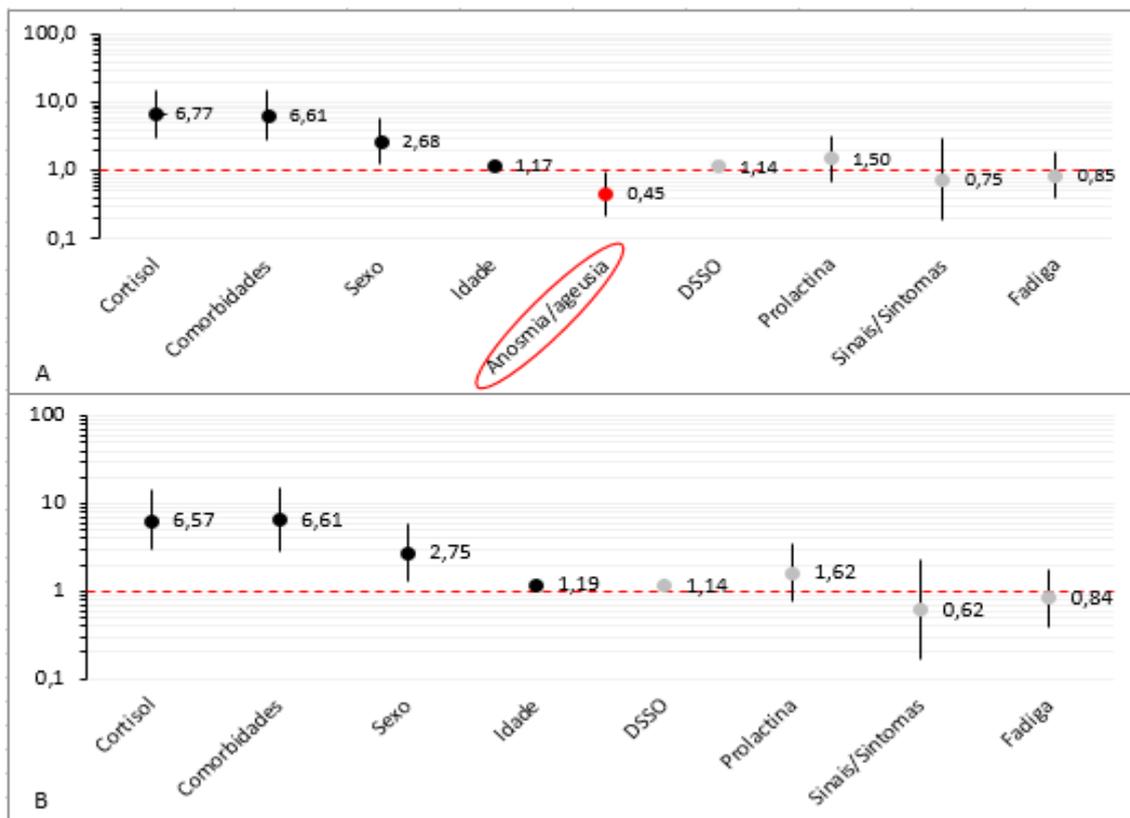


Figura 15. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a Odds Ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas, comparando modelos com e sem as variáveis anosmia/ageusia. (A) Modelo analisado com a variável anosmia/ageusia (B) Modelo analisado sem a variável anosmia/ageusia.

5.4.3 Desfecho “Necessidade de Suporte Ventilatório”

Para calcular a necessidade de suporte de oxigênio foi selecionado a melhor forma de codificar o cortisol e a prolactina. Para isso, o sistema selecionou [Normal’ (5.3–22.5) vs. ‘Anormal’ (<5.3 ou >22 .5) (cort_anorm)] e para prolactina [Baixa (≤ 8.0 ng/dL) vs. Alta (>8.0 ng/dL)].

Foi formulado um modelo completo, com as variáveis focais cortisol e prolactina como descrito acima e todas as covariáveis de interesse (sexo, idade, DSSO, comorbidades, anosmia/ageusia, sinais /sintomas e fadiga). Foram construídos modelos aditivos aninhados ao modelo completo, com todas as possíveis combinações de variáveis focais e covariáveis, incluindo o modelo nulo. Para essa análise, foram construídos 512 modelos (2^9 variáveis) e calculados os valores de AICc, o delta de AICc e o peso de Akaike para cada um dos modelos. Por meio desses dados foram estabelecidos quais modelos apresentaram suporte alto, moderado e baixo para explicar os dados (Figura 16).

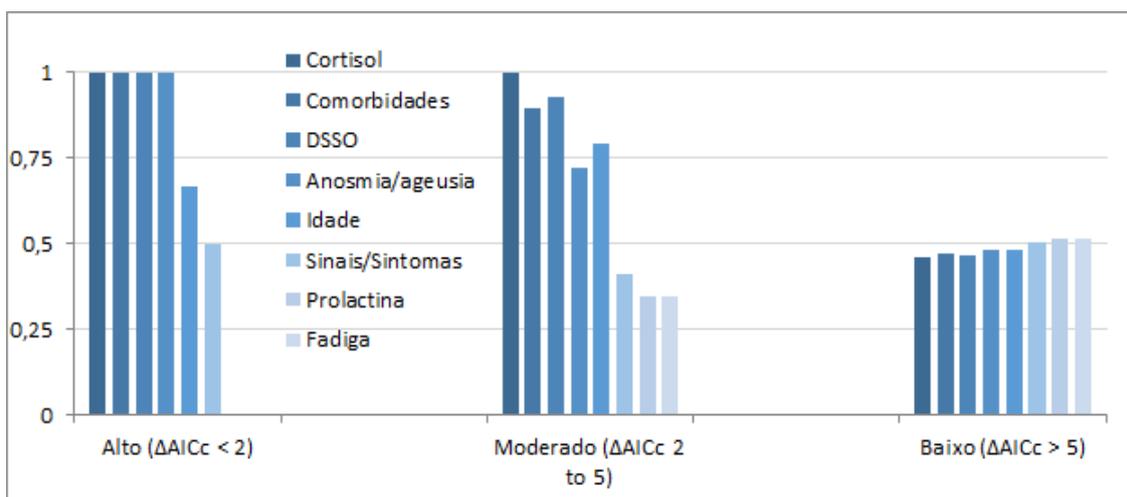


Figura 16. Modelos analisados para o desfecho de necessidade de suporte ventilatório. Modelos com suporte alto de dados ($\Delta AICc < 2$), principais modelos com suporte moderado ($\Delta AICc$ 2 a 5) e principais modelos com suporte baixo ($\Delta AICc > 5$).

Dos 512 modelos analisados, seis apresentaram suporte alto dos dados com $\Delta AICc < 2$, onde as variáveis cortisol, comorbidades, DSSO e anosmia/ageusia estiveram presente em 100% dos modelos. Do restante, 29 modelos apresentaram suporte moderado e 447 apresentaram suporte baixo dos dados.

A prolactina, presente apenas em modelos com suporte moderado e baixo, evidenciou que não seria uma variável importante, considerando o desfecho de necessidade de suporte de oxigênio. Em contraste, o cortisol esteve presente em 100% dos modelos, com suporte alto dos dados.

Os efeitos das estimativas médias de cada parâmetro, assim como a importância relativa de cada variável nos modelos analisados, foram calculados. As OR foram ajustadas e os ICs de 85%, consistentes com a abordagem baseada no AICc, foram estimados (Tabela 9).

Tabela 9. Estimativas dos parâmetros odds ratio, intervalo de confiança (IC) e importância relativa das variáveis analisadas para o desfecho necessidade de suporte de oxigênio.

Variável	OR	IC 85%		Importância
Cortisol	12,817	4,982	32,978	0,999
Comorbidades	5,128	1,991	13,210	0,903
DSSO	1,305	1,104	1,543	0,865
Anosmia/ageusia	0,287	0,121	0,681	0,777
Idade	1,263	1,070	1,491	0,752
Sinais/Sintomas	3,730	0,898	15,502	0,462
Sexo	1,765	0,765	4,069	0,347
Prolactina	1,328	0,585	3,014	0,269
Fadiga	1,103	0,488	2,491	0,243

Os níveis de cortisol basal anormal, comorbidades, DSSO e idade tiveram uma associação positiva nas chances de necessidade de suporte de oxigênio, após ajustes para todas as outras variáveis. Enquanto sinais/sintomas, sexo, fadiga e prolactina não apresentaram associação para a necessidade de suporte de oxigênio. Assim como no desfecho de saturação baixa (<93%), anosmia/ageusia apresentaram uma associação negativa (Figura 17).

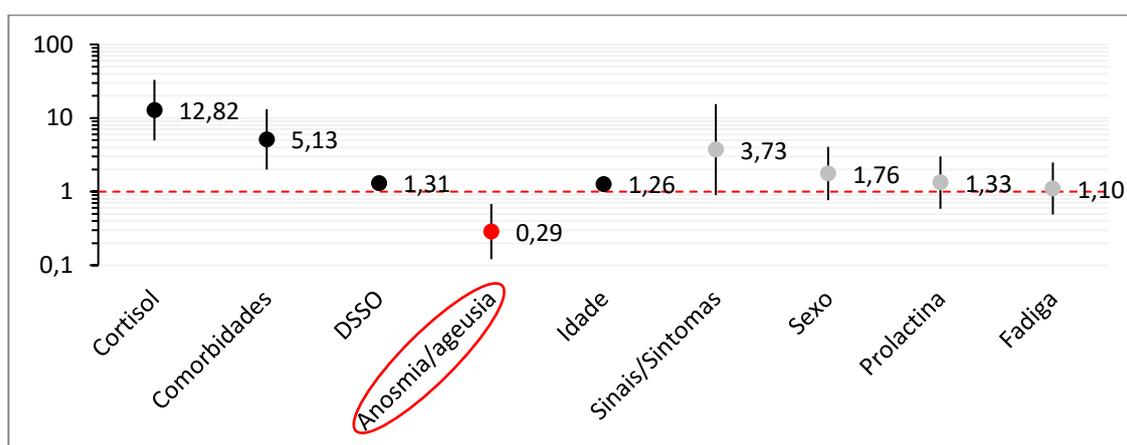


Figura17. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a Odds Ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas. As variáveis cortisol, comorbidades e DSSO apresentaram associação positiva para necessidade de suporte de oxigênio, enquanto a prolactina basal, idade, sexo, sinais/sintomas, fadiga e não mostraram associações e anosmia/ageusia mostrou uma associação negativa.

O cortisol, após ajustes para todas as outras variáveis mostrou um efeito positivo para necessidade de suporte de oxigênio, com OR ajustada em 12,82 e (IC 4,87 a 32,97). As comorbidades também apresentaram efeito positivo, após ajuste, com OR ajustada em 5,13 e (IC 1,99 a 13,21). Quanto às variáveis DSSO e idade, estas apresentaram um discreto efeito positivo com OR ajustada em 1,31 e (IC 1,10 a 1,54) e 1,26 e (IC 1,07 a 1,49), respectivamente. Por fim, a anosmia/ageusia apresentou efeito negativo, com OR ajustada em - 0,29 e (IC em -0,12 a -0,68).

Diante do exposto, foi realizada uma nova análise, excluindo anosmia/ageusia, para avaliar se a associação negativa influenciava nos desfechos das variáveis focais cortisol e prolactina, na necessidade de suporte de oxigênio. Para isso, novos modelos foram formulados, ajustados ao modelo completo e calculados o ICCc, delta de AICc e peso de Akaike. Por fim, analisados o suporte de dados que cada modelo forneceu (Figura 18).

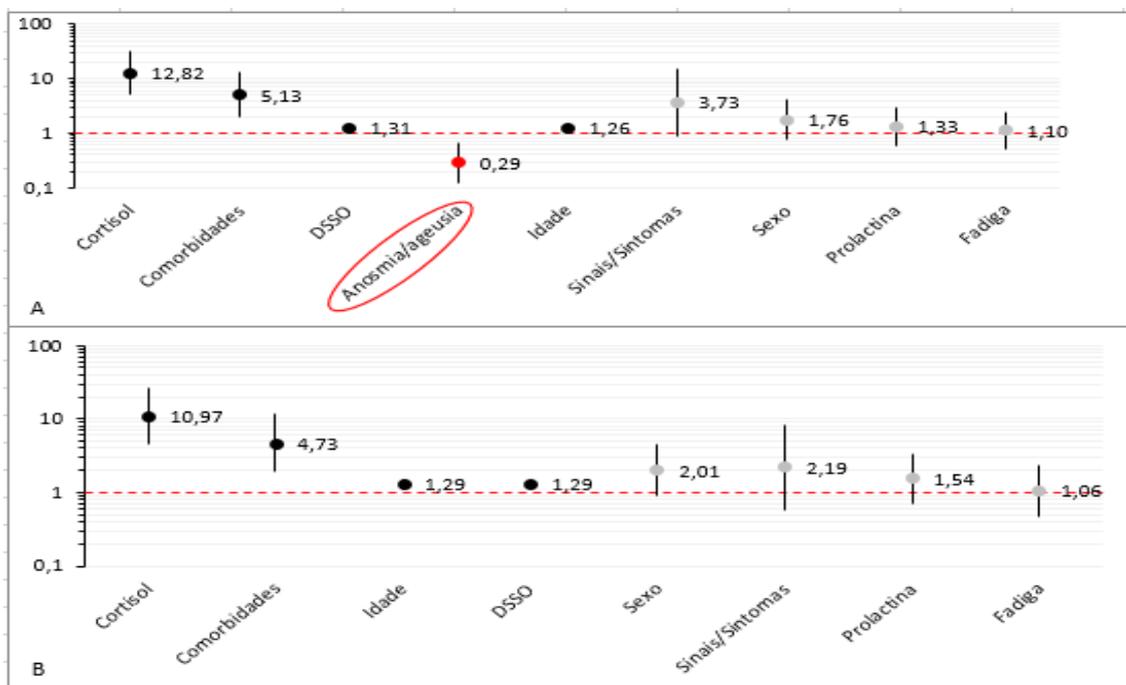


Figura 18. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas, comparando modelos com e sem anosmia/ageusia. (A) Modelo analisado com a variável anosmia/ageusia (B) Modelo analisado sem a variável anosmia/ageusia.

Após a exclusão da variável anosmia/ageusia, notou-se uma pequena alteração na OR ajustada do cortisol de 12,82 para 10,97 e das comorbidades de 5,13 para 4,73. No entanto, essa alteração não foi capaz de mudar a associação de nenhuma das variáveis analisadas. Com isso, permitiu que o efeito positivo e claro do cortisol basal anormal, após ajuste para todas as variáveis, com ou sem anosmia/ageusia, aumentasse cerca de 11 vezes as chances de um paciente necessitar de suporte de oxigênio.

6. DISCUSSÃO

A pandemia de SARS-CoV-2 tem levantado questões diversas e, entre elas, os fatores que podem contribuir para a gravidade dos indivíduos infectados. Nesse contexto, esse trabalho avaliou se os níveis basais de cortisol e prolactina são preditores de uma evolução mais crítica dos pacientes.

Nessa perspectiva, pela primeira vez, em uma população heterogênea atendida pelo SUS, foi possível associar alterações nos níveis de cortisol basal com a necessidade de internação, suporte de ventilatório e baixa saturação de O₂. Isso foi observado, principalmente, em pessoas mais velhas, do sexo masculino e com comorbidades. Em contrapartida, as análises não sustentaram o mesmo desfecho para prolactina.

Nossos resultados mostraram que pacientes que apresentaram cortisol inicial alterado, considerando os valores de referência estabelecidos, em até 24 horas após o diagnóstico para Covid-19, tiveram as chances aumentadas em ser admitidos em internação hospitalar, quando comparado com os pacientes que apresentaram cortisol dentro dos valores de referência. Resultados semelhantes foram encontrados por Tan e colaboradores, (2020), onde foi demonstrado que altas concentrações de cortisol basal estão associadas a um aumento na mortalidade e no mau prognóstico de pacientes diagnosticados com Covid-19.

Esses valores alterados em nosso estudo representam tanto valor abaixo como acima da referência normal. Sabe-se que os glicocorticoides possuem efeitos bifásicos dependentes das concentrações e do tempo de ação. Assim podem desempenhar papéis estimulantes e reguladores nos processos inflamatórios (Yeager et al, 2009). O cortisol estimula o metabolismo celular, disponibilizando substratos energéticos, estimulando a síntese de proteínas e glicogênio, ativando a lipólise, a gliconeogênese e exercendo funções sobre SNC (Sapolsky et al, 2000). A elevação do cortisol é considerada como um fator protetor para o organismo no que se refere à hiperinflamação, protegendo contra a destruição tecidual, inibindo a transcrição de citocinas pró-inflamatórias (Xiang et al, 2020).

No entanto, esta ação sobre a resposta imune pode interferir nos mecanismos necessários ao controle ou à eliminação do patógeno, o que no caso do vírus pode facilitar a replicação (Russell et al, 2020). Por outro lado, valores baixos de cortisol também são um mau prognóstico para Covid-19 porque podem comprometer a resposta celular imune inata e celular, permitindo uma produção desregulada de citocinas inflamatórias. Isso possibilita a ocorrência de danos teciduais, principalmente a lesão pulmonar que é observada na Covid-19 (Almeida e Mendonça, 2020; Lisco et al, 2021). De fato, em um estudo com pacientes críticos acima de 18 anos internados com Covid-19 na Unidade de terapia Intensiva em Sahngai na China, observou-se que os níveis de cortisol plasmáticos foram consideravelmente mais baixos do que nos pacientes sem covid e que na maioria deles, os níveis de cortisol estava abaixo de 10 µg/dL caracterizando uma insuficiência adrenal importante (Mao et al, 2021).

Após análise das cinco variáveis independentes (cortisol, prolactina, sexo, idade e DSSO) para o desfecho hospitalização, foi observado que homens com cortisol alterado apresentaram maiores chances de internação que as mulheres. É possível que essas diferenças estejam em parte associadas aos hábitos e estilo de vida; por exemplo: falta de atividade física, tabagismo, alcoolismo, má alimentação, que são fatores mais presentes no sexo masculino que no feminino. Outros estudos mostraram que as diferenças hormonais e imunológicas entre os sexos têm um papel fundamental na fisiopatologia e na gravidade da Covid-19 (Reis et al, 2021; Al-kuraishy et al, 2021; Dhindsa et al, 2021; Viveiros et al, 2021).

Uma das explicações para isso está no fato de que os hormônios sexuais exercem interferência sobre a produção de glicocorticoides, como é o caso do cortisol, e vice-versa (Bereshchnko et al, 2018). Um estudo realizado por Janele e colaboradores, em 2006, mostrou que os estrogênios aumentam e os andrógenos diminuem as respostas glicocorticoides à uma variedade de estímulos inflamatórios e não inflamatórios. Entre estes mecanismos, os hormônios sexuais modulam o feedback negativo exercido pelo cortisol no hipotálamo por meio da síntese de citocinas. Outro mecanismo pelo qual o cortisol também pode interferir em hormônios sexuais ocorre pela sua interação com a enzima aromatase que é reponsável pela conversão de testosterona em

estrogênio. Isso possibilita que pacientes com cortisol elevado tenham níveis de testosterona baixos e de estrogênio elevados, o que favorece a secreção de TNF e citocinas pró-inflamatórias (Janele et al, 2006). Corroborando esses achados, Mohamad e colaboradores, em 2019, mostraram que baixos níveis de testosterona estão associados ao aumento do risco de inflamação sistêmica.

Embora o presente trabalho não tenha dosado a testosterona nos pacientes, os estudos supracitados podem explicar, em parte, o risco maior de hospitalização para o sexo masculino e dão mais robustez à discussão sobre o papel dos hormônios sexuais no tema Covid-19. Sabe-se que os andrógenos podem afetar tanto o sistema imune inato quanto o adaptativo. Podem influenciar no desenvolvimento e funcionalidade imune e, na maioria das vezes, agir como imunossupressores (Trigunaite et al, 2015). Especificamente a testosterona principal andrógeno masculino tem influência sobre vários mecanismos imunológicos, como a redução da atividade de células B e T e inibição nas atividades de macrófagos e monócitos. Assim, a testosterona pode desempenhar um papel imunossupressor em várias infecções virais, incluindo o SARS-CoV-2 (Al-kuraishy et al, 2021). Em 2021, Dhindsa e colaboradores avaliaram as concentrações de hormônios sexuais em uma coorte de 152 pacientes com Covid-19. Foram observadas baixas concentrações de testosterona, elevação dos níveis de estradiol e altas taxas de citocinas pró-inflamatórias. Essas condições estiveram presentes nos pacientes do sexo masculino, que apresentaram maior gravidade da doença, quando comparados aos pacientes com a forma leve da doença. Em contraste, essas alterações não foram encontradas no grupo de 62 mulheres do estudo. Sendo assim, por esses resultados, os pesquisadores sugeriram que o hormônio testosterona possui efeito protetor contra a gravidade da Covid-19 e atribuem as altas taxas de citocinas inflamatórias à gravidade dos pacientes.

Adicionalmente, a expressão dos receptores ACE2 e TMPRSS2, que possuem papel crucial na entrada do vírus nas células em vários tecidos, além do pulmonar, é regulada pelos receptores androgênicos. Esse fato, mostra a grande importância dos hormônios sexuais na diferenciação da criticidade da Covid-19 entre homens e mulheres (Qiao et al, 2020; Stopsack et al, 2020).

Em nosso estudo observou-se ainda que pacientes mais velhos, agrupados de cinco em cinco anos, também foram mais propensos à internação, quando comparados com pacientes mais jovens. Esse achado está de acordo com o estudo conduzido por Liu e colaboradores, em 2022, com 718 pacientes em Chengdu, na China no qual foi observado que a idade mais avançada correlaciona-se com a gravidade da Covid-19. Assim, a idade, nesse presente estudo também desempenhou um papel preditivo nas distinções de casos graves e não graves, de mortos e sobreviventes. Foi constatado que idade maior de 45 anos prediz progressão da doença e mais de 65 anos um prognóstico ruim. Por fim, outro estudo em Wuhan, com uma coorte de 409 pacientes com Covid-19, concluiu que a idade e a hipertensão foram fatores de risco isolados para progressão da Covid-19 (Lv e Lv, 2021).

De fato, indivíduos mais velhos tem uma maior propensão à internação e desenvolver quadros infecciosos mais graves, quando comparado a pacientes mais jovens. Isso ocorre, porque com a idade, também ocorre diminuição das respostas imunes o que aumenta a suscetibilidade às doenças infecciosas. No idoso, também ocorre uma considerável piora nas respostas às vacinas, aumento da prevalência de câncer e doenças autoimunes, tendência em apresentar um estado inflamatório crônico de baixo grau, implicando no surgimento de doenças relacionadas à idade, como a aterosclerose, diabetes e osteoporose. Essas alterações no idoso são reflexos da senescência do sistema imune que impacta nas respostas inatas e adaptativas afetando o processo de geração de resposta a antígenos estranhos (Castelo-Branco e Soveral, 2013).

As chances de admissão hospitalar também se mostraram aumentadas para cada dia adicional de sintomas, em uma escala de 1 a 12 dias em nosso estudo. Quando o sistema imune não consegue eliminar o vírus de forma eficiente, pode haver uma grande replicação viral com o passar dos dias, e em função disso, uma resposta imune descontrolada, com inflamação exacerbada. Na época da coleta dos dados, ainda não eram estabelecidos tratamentos específicos que controlassem efetivamente a replicação viral ou a resposta imune exacerbada o que possibilitava o surgimento de complicações como trombose, parada cardiorrespiratória, falência de órgãos, insuficiência respiratória. Desta forma, quanto maior o tempo e a demora para o tratamento

dessas complicações, maiores as chances de evolução do paciente para um mau prognóstico.

Nas análises foi possível observar que a baixa saturação de oxigênio e a necessidade de suporte respiratório também estiveram associadas positivamente com o cortisol inicial alterado e que ocorreram, preferencialmente, em homens mais velhos. Um estudo com cobaias submetidas à estresse aéreo com ovalbumina mostrou que o estresse realizado repetidamente nos animais aumenta a constrição pulmonar distal com aumento de citocinas como a IL-4, prostaglandina F₂ alfa, iNOS e cortisol (Reis et al, 2012). Um outro estudo mostrou que o cortisol é um biomarcador capaz de prever a gravidade e o desfecho clínico em pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (Farghaly et al, 2020). É possível que estas alterações com aumento de cortisol plasmático nesses estudos reflitam o grau de comprometimento pulmonar em função da inflamação no local e estressores outros que levam à uma resposta do eixo HPA. No caso específico da covid-19, a doença pulmonar é acompanhada pela liberação de grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo a IL-6 (Regab et al, 2020), que pode estimular diretamente o eixo HPA, que por sua vez, promoverá a produção de cortisol (Yavropoulou et al, 2022) para controlar o processo inflamatório estabelecido. Essa ação da IL-6 já havia sido estabelecida há muito tempo em pacientes com câncer tratados com IL-6 recombinante nos quais ocorre aumento de ACTH e cortisol plasmáticos logo no início do tratamento (Mastorakos et al, 1993).

Adicionalmente, sugere-se que em pacientes com covid-19, o cortisol é capaz de ativar o receptor mineralocorticoide em células epiteliais e endoteliais estimulando a liberação de ATP que age nos receptores purinérgicos ionotrópicos da família P2X, que quando ativados abrem poros na membrana celular permitindo a passagem de cátions Na⁺, K⁺ e Ca⁺². Esse efeito estimulado pelo cortisol pode produzir a tosse e nas células pulmonares endoteliais estimular a exocitose de corpos de Weibel-Palade (WPBs) que contêm angiopoietina-2, que é importante na patogênese da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), aumentando a permeabilidade capilar e o fator de von Willebrand (VWF), que medeia as plaquetas adesão ao endotélio e, portanto, coagulação (Edwards, 2021). O aumento da permeabilidade e a ativação da

fibrina permite o acúmulo de exudato fibrinoso e hipóxia; conseqüentemente isso provoca lesões alveolares difusas e piora o processo inflamatório local (Rizk et al, 2020; Hu et al, 2020).

Portanto, a presença de cortisol alterado nos pacientes do nosso estudo possivelmente se relaciona com a saturação baixa de oxigênio e a necessidade de suporte respiratório, por mecanismos indiretos em função do grau de comprometimento histopatológicos causado pela infecção pelo SARS-CoV-2 ou por mecanismos em que o cortisol age diretamente sobre o tecido pulmonar modificando a fisiologia das células.

As comorbidades, assim como a alteração do cortisol, a idade e o sexo, também é um fator que contribui de forma significativa para uma piora clínica dos pacientes com Covid-19. Em nosso estudo, a presença de comorbidades correlaciona-se com a saturação de oxigênio baixa e a necessidade de suporte respiratório. Dos pacientes estudados, 56,5% apresentavam hipertensão, 32,6% diabetes e 10,8% obesidade. Estudos mostram que a hipertensão é a cardiopatia mais comumente encontrada em pacientes com covid-19 que realmente aumenta o risco de internação e morte e em segundo lugar estão os pacientes com diabetes (Peng et al, 2021). Provavelmente uma das causas para a piora clínica nestes indivíduos deva-se ao fato de que neles ocorre maior expressão do receptor ACE2 (Ejaz et al, 2020; Gandhi et al, 2020), o que possibilita maior entrada do vírus nas células e conseqüentemente maior inflamação em resposta. Porém, a ACE2 não serve somente como receptor para o SARS-CoV-2, também converte a angiotensina I em antiotensina II que é um peptídeo vasoativo que aumenta a pressão sanguínea e possui efeitos inflamatórios entre eles, o aumento dos macrófagos na parede vascular e no tecido miocárdico. Embora não se tenha observado a replicação viral no tecido miocárdico é possível que a presença aumentada de ACE2 e conseqüentemente da angiotensina 2 promova um aumento da inflamação sistêmica em hipertensos o que é agravada pela infecção (Peng et al, 2021). No caso dos diabéticos, além da expressão aumentada da ACE2, os pacientes possuem uma quantidade aumentada de furina circulante, que por sua vez é capaz de clivar a proteína Spike e facilitar a entrada do SARS-CoV-2 nas células. Nestes pacientes, a diabetes inclusive compromete a resposta adaptativa Th1, necessária ao combate de infecções

virais, levando a uma resposta hiperinflamatória mais retardada (Gazzaz, 2021). Adicionalmente, o aumento da glicose sanguínea diretamente aumenta a replicação do SARS-CoV-2 (Sen et al, 2021). A obesidade também é um fator de risco importante para o agravamento da Covid-19 (Huang et al, 2020), pois pode estar inclusive associada com a hipertensão e a diabetes e a gordura visceral é uma fonte importante de adipocinas que aumentam a produção de citocinas inflamatórias. Por outro lado, os indivíduos obesos apresentam uma dificuldade na resposta inata que impede a produção de o INF do tipo 1 importante na defesa anti-viral (Yu et al, 2022).

A presença de asma foi observada em 6,5% dos pacientes avaliados no estudo. Junto com as outras comorbidades se relaciona ao maior risco de agravamento da covid considerando os desfechos “baixa saturação de oxigênio” e “necessidade de suporte de oxigênio”. Nosso resultado está de acordo com outros que mostraram que a asma está presente em aproximadamente 1 a 6% dos pacientes com coronavírus; porém, esse valor pode ser mais alto dependendo da população estudada, como é o caso dos Estados Unidos, Reino Unido, Suíça e Austrália (Mendes et al, 2021). Existe uma discussão grande sobre a asma ser um fator de risco para o desenvolvimento de gravidade na Covid-19. É fato que a expressão de ACE2 é maior nas células epiteliais nasais e nas células epiteliais alveolares do tipo 2 comparados a outros tecidos; além disso, os estímulos alergênicos e outras viroses como a Influenza aumentam a expressão deste receptor nas vias aéreas o que facilitaria a entrada do SARS-CoV-2 no tecido pulmonar (Mendes et al, 2021; Adir et al, 2021). Porém, em pacientes asmáticos atópicos ou alérgicos, a expressão de ACE2 está diminuída. Diferente nos casos de pacientes com asma não-atópica no qual não existe modificação da expressão do receptor (Jackson et al, 2020). Possivelmente isso ocorra em função de uma resposta com perfil Th2 com produção de IL-13 que é capaz de diminuir a presença de ACE2, o que seria um fator protetor contra a infecção (Mendes et al, 2021). Já em outros fenótipos com baixa resposta inflamatória do tipo Th2, os indivíduos asmáticos são propensos a desenvolver um pior prognóstico de COVID-19 já que podem produzir citocinas inflamatórias como a IL-1 β , IL-6 e TNF necessárias à defesa antiviral, mas que na fase tardia da COVID-19 estão envolvidas nos casos graves (Carli et al, 2021). No nosso

estudo, não foi possível identificar os fenótipos da asma nos pacientes; contudo, dos 3 pacientes incluídos na pesquisa, 2 apresentaram saturação menor que 90%, precisaram de suporte ventilatório e também apresentavam cortisol alterado. Isso mostra que independente do fenótipo de asma, é necessário a manutenção desses indivíduos como grupo de risco para desenvolvimento das formas graves da Covid-19, principalmente se já apresentarem desde o início dos sintomas o cortisol alterado.

Quanto à prolactina, não foram observadas as mesmas associações entre alteração nos valores basais e o aumento ou a diminuição das chances de internação hospitalar. Também as análises não conseguiram associar a prolactina com a necessidade de suporte respiratório, bem como variações entre os grupos com saturação de oxigênio baixa. Esses achados estão de acordo com Das e colaboradores, que em 2021, conduziram um estudo observacional com 74 pacientes em Chandigarh, na Índia. Na avaliação foi possível identificar hiperprolactinemia, no entanto, sem diferenças significativas entre os grupos de pacientes graves e leves com Covid-19.

Não há dúvidas do importante papel da prolactina na modulação do sistema imunológico, tanto na estimulação da imunidade inata, quanto adaptativa. Para Sem, em 2020, a prolactina desempenhou efeito positivo no combate à muitas doenças, inclusive levando à hipótese de que ela pode auxiliar pacientes com Covid-19 a contornar a doença ou ter um alívio nos sintomas, desde que seus valores estejam dentro dos limites fisiológicos normais. No entanto, os achados do presente estudo, assim como os resultados de Das e colaboradores, em 2021, foram extraídos de amostras pequenas. Essa condição, faz necessária a interpretação e generalização desses resultados com cautela, pois eles podem não refletir a realidade da população, necessitando observações em estudos com maior número amostral.

Entender os mecanismos que se relacionam com a gravidade da Covid-19, possibilita a médicos e outros profissionais de saúde, uma tomada de decisão mais assertiva. Embora tenha sido aqui observado que vários pacientes utilizaram medicações que poderiam interferir nos níveis de cortisol antes da internação, a presença por si só de um nível alterado, adiciona um fator de risco maior para a internação. Quando o sexo foi comparado, constatou-se que

homens com cortisol alterado apresentaram maior risco de internação, assim como a idade mais avançadas.

Pacientes com níveis de cortisol alterado também demonstraram maiores chances de apresentar saturação de oxigênio baixa (<93%), necessitando inclusive, de suporte ventilatório. Esses níveis maiores, contudo, não refletiram em maior risco de morte, provavelmente, uma vez internados, o suporte hospitalar e clínico-terapêutico conseguiu reverter o quadro grave da maioria dos hospitalizados.

Foi possível observar a consistência nos dados após a exclusão das análises, de variáveis como a dispneia do desfecho saturação de O₂ baixa <93% e necessidade de suporte ventilatório, onde a saturação baixa e necessidade de suporte de ventilatório poderia causar diretamente a dispneia. A exclusão das variáveis anosmia/ageusia das análises também mantiveram a consistência nos dados, sendo essas variáveis caracterizadas como expurias.

Uma das dificuldades deste estudo foi avaliar os níveis de cortisol e prolactina ao longo do tempo de internação, com dosagens seriadas desses hormônios, avaliando assim as concentrações hormonais com a evolução clínica dos pacientes internados. Essa limitação ocorreu por que as dosagens de vários pacientes não foram realizadas e o número da amostra se tornou muito pequena para avaliar se as alterações hormonais voltariam à concentrações normais ou não com a evolução da doença. Também não foi possível prospectar se algum medicamento ou o tipo de comorbidade influenciou os desfechos escolhidos. Assim, a condução de um estudo de coorte com maior número de indivíduos seria de extrema importância para avaliar se a concentração de cortisol flutua em função de doenças preexistentes e quais medicamentos alteram de forma significativa a produção de cortisol, que se associaria a um pior prognóstico em pacientes com Covid-19.

Os resultados encontrados sugerem que a presença de cortisol alterado aumenta o risco dos indivíduos infectados com Covid-19 serem internados e piorarem seu quadro pulmonar. Esse resultado chama atenção para que seja monitorada o nível deste hormônio nos pacientes, de tal forma que seus níveis sejam devidamente corrigidos para uma resposta imune e bioquímica mais equilibrada.

7. CONCLUSÕES

Os níveis de cortisol basal anormais foram associados, após ajuste para sexo, idade, DSSO e prolactina basal, com um claro aumento nas chances de internação hospitalar nesta coorte brasileira de 104 pacientes adultos sintomáticos com infecção por SARS CoV-2 confirmado por RT-PCR. Pacientes com cortisol basal alterado tiveram cerca de 16 vezes mais probabilidade de serem internados no hospital, quando comparado com pacientes com níveis de cortisol basal normal, no entanto, com um substancial índice de incerteza variando de 3,35 a 74,32.

No geral, homens foram mais propensos à internação do que as mulheres, assim como pacientes mais velhos, com um aumento nas chances de 4,55 e 1,25 vezes, respectivamente. As chances de admissões no hospital também se mostraram aumentadas em 1,28 vezes para cada dia adicional desde o início dos sintomas, com intervalo analisado de 1 a 12 dias.

O efeito da prolactina basal ajustada para idade, sexo, DSSO e cortisol basal, nas chances de internação hospitalar foi efetivamente indistinguível de zero.

Os níveis anormais de cortisol também foram associados, após ajuste para sexo, idade, DSSO, prolactina basal, comorbidades, sinais/sintomas, dispneia, anosmia/ageusia, fadiga com o aumento de 6,57 vezes as chances dos pacientes de apresentar saturação de O₂ baixa (>93%), bem como as comorbidades apresentadas pelo grupo de estudo e o sexo tiveram as chances de apresentarem saturação de O₂ baixa (>93%) aumentadas em 6,61 e 2,75 vezes, respectivamente.

A prolactina basal baixa (≤ 8.0 ng/dL) ou alta (> 8.0 ng/dL) após efeito ajustado nas chances de apresentar saturação de O₂ baixa (<93%) foi indistinguível de zero, com uma OR ajustado em 1,29 e uma incerteza variando de (0,58 a 2,86).

O cortisol basal anormal, nesta coorte de 104 pacientes, foi associado a um aumento nas chances de os pacientes necessitarem de suporte ventilatório

em 12 vezes. Apesar da grande incerteza que varia entre 5 e 32, pôde-se afirmar que existe uma forte associação positiva entre níveis de cortisol basal anormal e necessidade de suporte respiratório. Pacientes que apresentaram algum tipo de comorbidade, também tiveram as chances aumentadas de necessitar de suporte ventilatório, bem como pacientes mais velhos. A prolactina basal (≤ 8.0 ng/dL) ou alta (> 8.0 ng/dL), após ajustes para as variáveis analisadas, não mostrou associação para o desfecho necessidade de suporte ventilatório.

Apesar do pequeno numero amostral avaliado, esse estudo sugere que o monitoramento do cortisol basal alterado pode ajudar a prever i) a internação hospitalar ii) saturação de O₂ baixa (<93%) iii) necessidade de suporte ventilatório. Contudo, mais pesquisas são necessárias com uma amostragem maior para confirmar nossa hipótese.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aboudounya MM, Heads RJ. **COVID-19 and Toll-Like Receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 May Bind and Activate TLR4 to Increase ACE2 Expression, Facilitating Entry and Causing Hyperinflammation.** Dozio E, editor. *Mediators of Inflammation*. 2021 Jan 14;2021:1–18. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2021/8874339/>

Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. **Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.** *New England Journal of Medicine*. 2020 Jul 9;383(2):120–8. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2015432>

Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Faidah H, Alexiou A, Batiha GES. **Testosterone in COVID-19: An Adversary Bane or Comrade Boon.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021 Sep 8;11. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.666987/full>

Almeida MQ, Mendonca BB. **Adrenal Insufficiency and Glucocorticoid Use During the COVID-19 Pandemic.** *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. 2020;75:e2022. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32555949>

Amenta EM, Spallone A, Rodriguez-Barradas MC, el Sahly HM, Atmar RL, Kulkarni PA. **Postacute COVID-19: An Overview and Approach to Classification.** *Open Forum Infectious Diseases*. 2020 Dec 1;7(12):1–7. Disponível em: <https://academic.oup.com/ofid/article/doi/10.1093/ofid/ofaa509/5934556>

Anastassopoulou C, Gkizarioti Z, Patrinos GP, Tsakris A. **Human genetic factors associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease severity.** *Human Genomics*. 2020 Dec 22;14(1):40. Disponível em: <https://humgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40246-020-00290-4>

Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. **The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015 Mar;135(3):626–35. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.11.001>

Arnold TW. **Uninformative Parameters and Model Selection Using Akaike's Information Criterion.** *Journal of Wildlife Management*. 2010 Aug;74(6):1175–8. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.2193/2009-367>

Bereshchenko O, Bruscoli S, Riccardi C. **Glucocorticoids, Sex Hormones, and Immunity.** *Frontiers in Immunology*. 2018 Jun 12;9(JUN). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.01332/full>

Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel ÉB. **COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection.** European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2021 May 3;40(5):905–19. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s10096-020-04138-6>

Borba VV, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. **Prolactin and Autoimmunity.** *Frontiers in Immunology*. 2018 Feb 12;9(FEB):1–8. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.00073/full>

Borges AA. **SARS-CoV-2: origem, estrutura, morfogênese e transmissão.** In: **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais.** EDUFBA; 2020. p. 1–21. Disponível em: https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/32370/8/vol1_cap2_SARS-CoV-2_origem_estrutura_morfogenese_e_transmissao.pdf

Brandão SCS, Godoi ETAM, Ramos J de OX, Melo LMMP de, Dompieri LT, Brindeiro DF, et al. **Papel do Endotélio na COVID-19 Grave.** Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2020 Dec 14;115(6):1184–9. Disponível em: <http://abccardiol.org/article/papel-do-endotelio-na-covid-19-grave/>

Brandão SCS, Tenório EGBDBES, Albuquerque De Oliveira J, de Oliveira J, Ramos X, Magalhães Pessoa De Melo LM, et al. **COVID-19, Imunidade, endotélio e coagulação: compreenda a interação.** Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/37570>

Brown S, Hadlow N, Badshah I, Henley D. **A time-adjusted cortisol cut-off can reduce referral rate for Synacthen stimulation test whilst maintaining diagnostic performance.** Clinical Endocrinology. 2017 Nov;87(5):418–24. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.13405>

Brüssow H. **Immunology of COVID-19.** Environmental Microbiology. 2020;22(12):4895–908. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.15302>

Carfi A, Bernabei R, Landi F. **Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19.** JAMA. 2020 Aug 11;324(6):603. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2768351>

Castelo-Branco C, Soveral I. **The immune system and aging: a review.** Gynecological Endocrinology. 2014 Jan 1;30(1):16–22. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09513590.2013.852531>

Cavalcante JR, Cardoso-Dos-Santos AC, Bremm JM, Lobo A de P, Macário EM, Oliveira WK de, et al. **COVID-19 no Brasil: evolução da epidemia até a semana epidemiológica 20 de 2020.** Epidemiol e Serv saude Rev do Sist Unico Saude do Bras. 2020;29(4):e2020376.

CDC. (CDC, 2021) **How COVID-19 Spreads.** Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>

Cecchini R, Cecchini AL. **SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression.** Medical Hypotheses. 2020 Oct;143(January):110102. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987720317540>

Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. **Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2.** BMJ. 2020 Oct 23;371:m3862. Disponível em: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.m3862>

Chi M, Shi X, Huo X, Wu X, Zhang P, Wang G. **Dexmedetomidine promotes breast cancer cell migration through Rab11-mediated secretion of exosomal TMPRSS2.** Annals of Translational Medicine. 2020 Apr;8(8):531–531. Disponível em: <http://atm.amegroups.com/article/view/40763/html>

Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, Hui KPY, Yen H-L, Chan MCW, et al. **Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions.** The Lancet Microbe. 2020 May;1(1):e10. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247\(20\)30003-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247(20)30003-3/fulltext)

Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga SE, et al. **Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function.** Nature. 2002 Jun;417(6891):822–8. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nature00786>

Croda JHR, Garcia LP. **Resposta imediata da Vigilância em Saúde à epidemia da COVID-19.** Epidemiol e Serviços Saúde. 2020 Mar;29(1):e2020002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2237-96222020000100100&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt

Das L, Dutta P, Walia R, Mukherjee S, Suri V, Puri GD, et al. **Spectrum of Endocrine Dysfunction and Association With Disease Severity in Patients With COVID-19: Insights From a Cross-Sectional, Observational Study.** Frontiers in Endocrinology. 2021 Jul 2;12. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2021.645787/full>

Dhindsa S, Zhang N, McPhaul MJ, Wu Z, Ghoshal AK, Erlich EC, et al. **Association of Circulating Sex Hormones With Inflammation and Disease Severity in Patients With COVID-19.** JAMA Network Open. 2021 May 25;4(5):e2111398. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2780135>

Díaz L, Díaz M, Gonzalez L, Lira-Albarrn S, Larrea F, Mndez I. **Prolactin in the Immune System**. In: Prolactin. InTech; 2013. p. 21–30. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/prolactin/prolactin-in-the-immune-system>

Dudas G, Carvalho LM, Rambaut A, Bedford T. MERS-CoV spillover at the camel-human interface. *Elife*. 2018 Jan 16;7:173211. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/31257>

Ejaz H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, et al. **COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients**. *Journal of Infection and Public Health*. 2020 Dec;13(12):1833–9. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876034120305943>

Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, et al. **The Assessment of Endothelial Function**. *Circulation*. 2012 Aug 7;126(6):753–67. Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245>

Francisco Blanco-Favela, María Victoria Legorreta-Haquet, Yunuen Rocío Huerta-Villalobos, Karina Chávez-Rueda, Eduardo MontoyaDíaz, Luis Chávez-Sánchez EZG. **Role of prolactin in the immune response**. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 2012;69(5):329–36. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=37232>

Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. **Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion**. *Physiological Reviews*. 2000 Jan 10;80(4):1523–631. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.2000.80.4.1523>

Fu Y, Cheng Y, Wu Y. **Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools**. *Viol Sin*. 2020;35(3):266–71. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00207-4>

Gandhi RT, Lynch JB, del Rio C. **Mild or Moderate Covid-19**. *N Engl J Med*. 2020 Oct 29;383(18):1757–66. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32329974>

Garavini MSC. **Alterações induzidas pelo estresse crônico de contenção na diferenciação de linfócitos T em camundongos Balb/c**. 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUBD-9C2J2A>

Glowacka I, Bertram S, Herzog P, Pfefferle S, Steffen I, Muench MO, et al. **Differential Downregulation of ACE2 by the Spike Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus and Human Coronavirus NL63**. *J Virol*. 2010 Jan 15;84(2):1198–205. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.01248-09>

Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020 Apr 2;5(4):536–44. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41564-020-0695-z>

Greenhalgh T, Knight M, A'Court C, Buxton M, Husain L. **Management of post-acute covid-19 in primary care.** *The BMJ.* 2020;370. Disponível em: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.m3026>

Guo Y-R, Cao Q-D, Hong Z-S, Tan Y-Y, Chen S-D, Jin H-J, et al. **The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status.** *Mil Med Res.* 2020 Dec 13;7(1):11. Disponível em: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-020-00240-0>

Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. **The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status.** *Mil Med Res.* 2020 Dec 13;7(1):11. Disponível em: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-020-00240-0>

Gupta A, Madhavan M v., Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. **Extrapulmonary manifestations of COVID-19.** *Nature Medicine.* 2020 Jul 10;26(7):1017–32. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>

Hamming I, Cooper M, Haagmans B, Hooper N, Korstanje R, Osterhaus A, et al. **The emerging role of ACE2 in physiology and disease.** *J Pathol.* 2007 May;212(1):1–11. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.2162>

Hamre D, Procknow JJ. **A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract.** *Exp Biol Med.* 1966 Jan 1;121(1):190–3. Disponível em: <http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-121-30734>

Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. **Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19.** *Nat Rev Microbiol.* 2021 Mar 6;19(3):141–54. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>

Hu B, Huang S, Yin L. **The cytokine storm and COVID-19.** *J Med Virol.* 2020 Jan 30;93(1):250–6. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.26232>

Hu B, Huang S, Yin L. **The cytokine storm and COVID-19.** *Journal of Medical Virology.* 2020 Jan 30;93(1):250–6. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.26232>

Imai Y, Kuba K, Rao S, Huan Y, Guo F, Guan B, et al. **Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure.** *Nature*. 2005 Jul 7;436(7047):112–6. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nature03712>

Janele D, Lang T, Capellino S, Cutolo M, da Silva JAP, Straub RH. **Effects of testosterone, 17beta-estradiol, and downstream estrogens on cytokine secretion from human leukocytes in the presence and absence of cortisol.** *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Jun 1;1069(1):168–82. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855144>

Jefferies WMck, Turner JC, Lobo M, Gwaltney, Jr. JM. **Low Plasma Levels of Adrenocorticotrophic Hormone in Patients with Acute Influenza.** *Clinical Infectious Diseases*. 1998 Mar;26(3):708–10. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/514594>

Jin JM, Bai P, He W, Wu F, Liu XF, Han DM, et al. **Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality.** *Frontiers in Public Health*. 2020 Apr 29;8(April):1–6. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpubh.2020.00152/full>

Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. **Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19.** *Viruses*. 2020 Mar 27;12(4):372. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/12/4/372>

Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. **Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19.** *Viruses*. 2020 Mar 27;12(4):372. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/12/4/372>

Jones C, Gwenin C. **Cortisol level dysregulation and its prevalence—Is it nature’s alarm clock?** *Physiological Reports*. 2021 Jan 19;8(24):1–9. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.14814/phy2.14644>

Joseph JJ, Golden SH. **Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus.** *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Mar;1391(1):20–34. Disponível em: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nyas.13217>

Kahn JS, McIntosh K. **History and Recent Advances in Coronavirus Discovery.** *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Nov;24(11):S223–7. Disponível em: <https://journals.lww.com/00006454-200511001-00012>

Karaca Z, Grossman A, Kelestimur F. **Investigation of the Hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis: a contemporary synthesis.** *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2021 Jun 26;22(2):179–204. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11154-020-09611-3>

Keller-Wood M. **Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis—Feedback Control.** In: **Comprehensive Physiology.** Wiley; 2015. p. 1161–82. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.c140065>

Kim JS, Lee JY, Yang JW, Lee KH, Effenberger M, Szpirt W, et al. **Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19.** *Theranostics*. 2021;11(1):316–29. Disponível em: <https://www.thno.org/v11p0316.htm>

Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. **From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses.** *Infect Genet Evol*. 2020 Nov;85(June):104502. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134820303336>

Kochi AN, Tagliari AP, Forleo GB, Fassini GM, Tondo C. **Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19.** *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2020 May 13;31(5):1003–8. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jce.14479>

Kopelman P. **Physiopathology of prolactin secretion in obesity.** *International Journal of Obesity*. 2000 Jun 24;24(S2):S104–8. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/0801291>

Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, et al. **A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus–induced lung injury.** *Nat Med*. 2005 Aug 10;11(8):875–9. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nm1267>

Kumar A, Prasoon P, Kumari C, Pareek V, Faiq MA, Narayan RK, et al. **SARS-CoV-2-specific virulence factors in COVID-19.** *Journal of Medical Virology*. 2020 Mar;93(3):1343–50. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.26615>

Kumar B, Gopalakrishnan M, Garg MK, Purohit P, Banerjee M, Sharma P, et al. **Endocrine dysfunction among patients with COVID-19: A single-center experience from a tertiary hospital in India.** *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2021;25(1):14–9

Kurizky P, Nóbrega OT, Soares AADSM, Aires RB, Albuquerque CP de, Nicola AM, et al. **Molecular and Cellular Biomarkers of COVID-19 Prognosis: Protocol for the Prospective Cohort TARGET Study.** *JMIR Research Protocols*. 2021 Mar 4;10(3):e24211. Disponível em: <https://www.researchprotocols.org/2021/3/e24211/>

Lam TTY, Jia N, Zhang YW, Shum MHH, Jiang JF, Zhu HC, et al. **Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins.** *Nature*. 2020;583(7815):282–5. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2169-0>

Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al. **Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19.** *JAMA*. 2020 Apr 21;323(15):1502. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762452>

Lazartigues E, Qadir MMF, Mauvais-Jarvis F. **Endocrine Significance of SARS-CoV-2's Reliance on ACE2.** *Endocrinology*. 2020 Sep 1;161(9):1–35. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/doi/10.1210/endo/bqaa108/5870330>

Leow MKS, Kwek DSK, Ng AWK, Ong KC, Kaw GJL, Lee LSU. **Hypocortisolism in survivors of severe acute respiratory syndrome (SARS).** *Clinical Endocrinology*. 2005 Aug;63(2):197–202. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2265.2005.02325.x>

Lisco G, de Tullio A, Stragapede A, Solimando AG, Albanese F, Capobianco M, et al. **COVID-19 and the Endocrine System: A Comprehensive Review on the Theme.** *Journal of Clinical Medicine*. 2021 Jun 29;10(13):2920. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/13/2920>

Liu D, Zheng Y, Kang J, Wang D, Bai L, Mao Y, et al. **Not Only High Number and Specific Comorbidities but Also Age Are Closely Related to Progression and Poor Prognosis in Patients With COVID-19.** *Frontiers in Medicine*. 2022 Jan 7;8. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.736109/full>

Liu L, Wei Q, Lin Q, Fang J, Wang H, Kwok H, et al. **Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection.** *JCI Insight*. 2019 Feb 21;4(4). Disponível em: <https://insight.jci.org/articles/view/123158>

Liu P, Chen W, Chen JP. **Viral metagenomics revealed sendai virus and coronavirus infection of malayan pangolins (manis javanica).** *Viruses*. 2019;11(11). Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/11/11/979>

Liu YC, Kuo RL, Shih SR. **COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history.** *Biomed J*. 2020;43(4):328–33. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.04.007>

Lopez Schmidt I, Lahner H, Mann K, Petersenn S. **Diagnosis of adrenal insufficiency: Evaluation of the corticotropin-releasing hormone test and basal serum cortisol in comparison to the insulin tolerance test in patients with hypothalamic-pituitary-adrenal disease.** *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2003;88(9):4193–8

Lowe R, Ferrari M, Nasim-Mohi M, Jackson A, Beecham R, Veighey K, et al. **Clinical characteristics and outcome of critically ill COVID-19 patients with acute kidney injury: a single centre cohort study.** *BMC Nephrology*. 2021 Dec 15;22(1):92. Disponível em: <https://bmcnephrol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12882-021-02296-z>

Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. **Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19.** *Nature*. 2020

Aug 20;584(7821):463–9. Disponível em:
<http://www.nature.com/articles/s41586-020-2588-y>

Lv Z, Lv S. **Clinical characteristics and analysis of risk factors for disease progression of COVID-19: A retrospective Cohort Study.** International Journal of Biological Sciences. 2021;17(1):1–7. Disponível em:
<https://www.ijbs.com/v17p0001.htm>

Machado IFR, Menezes IQ, Figueiredo SR, Coelho FMA, Terrabuio DRB, Ramos D v, et al. **Primary Adrenal Insufficiency Due to Bilateral Adrenal Infarction in COVID-19.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2021 Jan 1;107(1):e394–400. Disponível em:
<https://academic.oup.com/jcem/article/107/1/e394/6330483>

Marklund N, Peltonen M, Nilsson TK, Olsson T. **Low and high circulating cortisol levels predict mortality and cognitive dysfunction early after stroke.** Journal of Internal Medicine. 2004 Jul;256(1):15–21. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2004.01334.x>

McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. Proc Natl Acad Sci. 1967 Apr 1;57(4):933–40. Disponível em:
<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.57.4.933>

Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. **Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors.** Annals of Internal Medicine. 2021 Jan;174(1):69–79. Disponível em:
<https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-5008>

Mohamad NV, Wong SK, Wan Hasan WN, Jolly JJ, Nur-Farhana MF, Ima-Nirwana S, et al. **The relationship between circulating testosterone and inflammatory cytokines in men.** The Aging Male. 2019 Apr 3;22(2):129–40. Disponível em:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13685538.2018.1482487>

Mohammadi H, Rezaei M, Sharafkhaneh A, Khazaie H, Ghadami MR. **Serum testosterone/cortisol ratio in people with obstructive sleep apnea.** Journal of Clinical Laboratory Analysis. 2019 Jan 23;34(1). Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcla.23011>

Moreno-Pérez O, Merino E, Leon-Ramirez JM, Andres M, Ramos JM, Arenas-Jiménez J, et al. **Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: A Mediterranean cohort study.** Journal of Infection. 2021 Mar 1;82(3):378–83. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163445321000098>

MS. **Casos de COVID-19 Brasil** (Ministério da Saúde, 2021). Painel Coronavírus. 2021. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>

Munhoz RP, Pedroso JL, Nascimento FA, de Almeida SM, Barsottini OGP, Cardoso FEC, et al. **Neurological complications in patients with SARS-CoV-2 infection: A systematic review.** Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2020;78(5):290–300. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/anp/a/mKwsJ5vjCBZZF8Xywpvmvcs/?lang=en>

OMS (Organização Mundial da Saúde). Acesso em: 05/11/2021 Disponível em: <https://www.who.int/>

OMS. (OMS, 2020). **World Health Organization, 2020.** Disponível em: <https://www.who.int/>

OMS. (OMS, 2021). **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.** 2021. Disponível em: <https://covid19.who.int/>

Pal R, Banerjee M. **COVID-19 and the endocrine system: exploring the unexplored.** Journal of Endocrinological Investigation. 2020 Jul 2;43(7):1027–31. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01276-8>

Pal R. **COVID-19, hypothalamo-pituitary-adrenal axis and clinical implications.** *Endocrine.* 2020 May 28;68(2):251–2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-020-02325-1>

Parra A, Ramírez-Peredo J, Reyes-Muñoz E, Ruiz-Argüelles A, Ruiz-Argüelles GJ. **A Th1-Type Cytokine Named Prolactin. Facts and Hypotheses. Advances in Neuroimmune Biology.** 2013;4(1):1–6. Disponível em: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/NIB-130050>

Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections—More Than Just the Common Cold. *JAMA.* 2020 Feb 25;323(8):707. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2759815>

Peiris JSM, Guan Y, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome. *Nat Med.* 2004 Dec 30;10(S12):S88–97. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nm1143>

Pekar JE, Magee A, Parker E, Moshiri N, Izhikevich K, Havens JL, Gangavarapu K, Malpica Serrano LM, Crits-Christoph A, Matteson NL, Zeller M, Levy JI, Wang JC, Hughes S, Lee J, Park H, Park MS, Ching KZY, Lin RTP, Mat Isa MN, Noor YM, Vasylyeva TI, Garry RF, Holmes EC, Rambaut A, Suchard MA, Andersen KG, Worobey M, Wertheim JO. **The molecular epidemiology of multiple zoonotic origins of SARS-CoV-2.** Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abp8337>

Piticchio T, le Moli R, Tumino D, Frasca F. **Relationship between betacoronaviruses and the endocrine system: a new key to understand the COVID-19 pandemic—A comprehensive review.** *Journal of Endocrinological*

Investigation. 2021 Aug 13;44(8):1553–70. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01486-0>

Polidoro RB, Hagan RS, de Santis Santiago R, Schmidt NW. **Overview: Systemic Inflammatory Response Derived From Lung Injury Caused by SARS-CoV-2 Infection Explains Severe Outcomes in COVID-19.** *Frontiers in Immunology.* 2020 Jun 26;11(June). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.01626/full>

Prete A, Yan Q, Al-Tarrah K, Akturk HK, Prokop LJ, Alahdab F, et al. **The cortisol stress response induced by surgery: A systematic review and meta-analysis.** *Clinical Endocrinology.* 2018 Nov;89(5):554–67. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.13820>

Qiao Y, Wang XM, Mannan R, Pitchiaya S, Zhang Y, Wotring JW, et al. **Targeting transcriptional regulation of SARS-CoV-2 entry factors ACE2 and TMPRSS2.** *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2021 Jan 5;118(1). Disponível em: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2021450118>

Radzikowska U, Ding M, Tan G, Zhakparov D, Peng Y, Wawrzyniak P, et al. **Distribution of ACE2, CD147, CD26, and other SARS-CoV-2 associated molecules in tissues and immune cells in health and in asthma, COPD, obesity, hypertension, and COVID-19 risk factors.** *Allergy.* 2020 Nov 24;75(11):2829–45. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.14429>

Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, Khattab R, Salem R. **The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far.** *Frontiers in Immunology.* 2020 Jun 16;11. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.01446/full>

Rao S, Lau A, So HC. Exploring Diseases/Traits and Blood Proteins **Causally Related to Expression of ACE2, the Putative Receptor of SARS-CoV-2: A Mendelian Randomization Analysis Highlights Tentative Relevance of Diabetes-Related Traits.** *Diabetes Care.* 2020 Jul 1;43(7):1416–26. Disponível em: <https://diabetesjournals.org/care/article/43/7/1416/35591/Exploring-Diseases-Traits-and-Blood-Proteins>

Reis DM dos, Gama LPSR, Teixeira IA, Paula FGP de, Ferreira NN, Oliveira RF, et al. **A influência dos hormônios sexuais na resposta imunológica da COVID-19: uma revisão integrativa.** *Revista Eletrônica Acervo Saúde.* 2021 Nov 1;13(11):e9073. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/9073>

Rizk JG, Kalantar-Zadeh K, Mehra MR, Lavie CJ, Rizk Y, Forthal DN. **Pharmaco-Immunomodulatory Therapy in COVID-19.** *Drugs.* 2020 Sep 21;80(13):1267–92. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01367-z>

Ronald Glaser JKG. **Stress Damages Immune System and Health**. Discovery Medicine. 2009; Disponível em: <https://www.discoverymedicine.com/Ronald-Glaser/2009/07/18/stress-damages-immune-system-and-health/>

Russell CD, Millar JE, Baillie JK. **Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury**. The Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):473–5. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620303172>

Santana MF, Borba MGS, Baía-da-Silva DC, Val F, Alexandre MAA, Brito-Sousa JD, et al. **Case Report: Adrenal Pathology Findings in Severe COVID-19: An Autopsy Study**. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2020 Oct 7;103(4):1604–7. Disponível em: <https://ajtmh.org/doi/10.4269/ajtmh.20-0787>

Sapolsky RM. **How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions**. Endocrine Reviews. 2000 Feb 1;21(1):55–89. Disponível em: <http://press.endocrine.org/doi/10.1210/edrv.21.1.0389>

SBPC (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica). **Manual de coleta de sangue venoso** 2 ed. 2009. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320090814145042.pdf>

Sen A. **Repurposing prolactin as a promising immunomodulator for the treatment of COVID-19: Are common Antiemetics the wonder drug to fight coronavirus?** Medical Hypotheses. 2020 Nov 1;144:110208. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987720320144>

Silverman MN, Pearce BD, Biron CA, Miller AH. **Immune Modulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis during Viral Infection**. Viral Immunology. 2005 Mar [cited 2022 Jun 3];18(1):41–78. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vim.2005.18.41>

Sodhi CP, Wohlford-Lenane C, Yamaguchi Y, Prindle T, Fulton WB, Wang S, et al. **Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg 9 bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration**. Am J Physiol Cell Mol Physiol. 2018 Jan 1;314(1):L17–31. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplung.00498.2016>

Soldevila B, Puig-Domingo M, Marazuela M. **Basic mechanisms of SARS-CoV-2 infection. What endocrine systems could be implicated?** Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders. 2021 Jul 31; Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09678-6>

Stopsack KH, Mucci LA, Antonarakis ES, Nelson PS, Kantoff PW. **TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or Opportunity for Intervention?** Cancer Discovery. 2020 Jun 1;10(6):779–82. Disponível em:

<http://cancerdiscovery.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/2159-8290.CD-20-0451>

Suarez ALP, López-Rincón G, Martínez Neri PA, Estrada-Chávez C. **Prolactin in Inflammatory Response**. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2015. p. 243–64. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-12114-7_11

Takada A, Kawaoka Y. **Antibody-dependent enhancement of viral infection: molecular mechanisms and in vivo implications**. *Reviews in Medical Virology*. 2003 Nov;13(6):387–98. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/rmv.405>

Tan T, Khoo B, Mills EG, Phylactou M, Patel B, Eng PC, et al. **Association between high serum total cortisol concentrations and mortality from COVID-19**. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2020 Aug;8(8):659–60. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213858720302163>

Téblick A, Peeters B, Langouche L, van den Berghe G. **Adrenal function and dysfunction in critically ill patients**. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019 Jul 8;15(7):417–27. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41574-019-0185-7>

Trigunaite A, Dimo J, Jørgensen TN. **Suppressive effects of androgens on the immune system**. *Cellular Immunology*. 2015 Apr;294(2):87–94. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874915000313>

Tsai S, Lu C, Bau D, Chiu Y, Yen Y, Hsu Y, et al. **Approaches towards fighting the COVID 19 pandemic (Review)**. *International Journal of Molecular Medicine*. 2020 Nov 20;47(1):3–22. Disponível em: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.2020.4794>

van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. **Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1**. *N Engl J Med*. 2020 Apr 16;382(16):1564–7. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2004973>

Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. **Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19**. *The Lancet*. 2020 May 2;395(10234):1417–8. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620309375>

Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. **The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection**. *Eur J Intern Med*. 2020 Jun;76(January):14–20. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0953620520301515>

Viveiros A, Rasmuson J, Vu J, Mulvagh SL, Yip CYY, Norris CM, et al. **Sex differences in COVID-19: Candidate pathways, genetics of ACE2, and sex**

hormones. Vol. 320, American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. American Physiological Society; 2021. p. H296–304.

Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. **Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China.** JAMA. 2020 Mar 17;323(11):1061. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2761044>

Wheatland R. **Molecular mimicry of ACTH in SARS – implications for corticosteroid treatment and prophylaxis.** Medical Hypotheses. 2004 Jan;63(5):855–62. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987704002828>

WHO. Mers Situation Update September 2019. World Health Organ. 2019. Disponível em: <http://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/mers-situation-update-september-2019.html>

Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ. Host Factors in Coronavirus Replication. In: Assessment & Evaluation in Higher Education. Springer International Publishing; 2017. p. 1–42. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F82_2017_25

Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. **Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China.** JAMA Internal Medicine. 2020 Jul 1;180(7):934. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/2763184>

Wu D, Yang XO. **TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib.** Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2020 Jun;53(3):368–70. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1684118220300657>

Wu Z, McGoogan JM. **Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China.** JAMA. 2020 Apr 7;323(13):1239. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762130>

Xiang Z, Liu J, Shi D, Chen W, Li J, Yan R, et al. **Glucocorticoids improve severe or critical COVID-19 by activating ACE2 and reducing IL-6 levels.** International Journal of Biological Sciences. 2020;16(13):2382–91. Disponível em: <https://www.ijbs.com/v16p2382.htm>

Yang L, Liu S, Liu J, Zhang Z, Wan X, Huang B, et al. **COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics.** Signal Transduction and Targeted Therapy. 2020 Dec 25;5(1):128. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-020-00243-2>

Yang L, Liu S, Liu J, Zhang Z, Wan X, Huang B, et al. **COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. Signal Transduction and Targeted Therapy.** 2020 Dec 25;5(1):128. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-020-00243-2>

Yeager MP, Rassias AJ, Pioli PA, Beach ML, Wardwell K, Collins JE, et al. **Pretreatment with stress cortisol enhances the human systemic inflammatory response to bacterial endotoxin.** Critical Care Medicine. 2009 Oct;37(10):2727–32. Disponível em: <http://journals.lww.com/00003246-200910000-00008>

Yu-Lee LY. **Molecular actions of prolactin in the immune system.** Proc Soc Exp Biol Med. 1997;215(1):35-52. Disponível em: <https://doi.org/10.3181/00379727-215-44111>

Yu-Lee LY. **Prolactin Modulation of Immune and Inflammatory Responses.** Recent Progress in Hormone Research. 2002 Jan 1;57(1):435–55. Disponível em: http://www.endocrine.org/~media/endsociety/Files/EP/RPHR/57/RPHR_vol_5_7_ch_20_prolactin_modulation.pdf

Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. N Engl J Med. 2012;367(19):1814–20.

Zarrilli G, Angerilli V, Businello G, Sbaraglia M, Traverso G, Fortarezza F, et al. **The Immunopathological and Histological Landscape of COVID-19-Mediated Lung Injury.** International Journal of Molecular Sciences. 2021 Jan 19;22(2):974. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/2/974>

Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. **Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target.** Intensive Care Medicine. 2020;46(4):586–90. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>

Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. **A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019.** N Engl J Med. 2020;382(8):727–33. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2001017>

9. APÊNDICES.

9.1 Apêndice 1. Modelos de codificação das variáveis cortisol e prolactina

Selecionar a forma de codificação das variáveis

a) Dependentes: 1/0

b) **Cortisol** ($\mu\text{g/dL}$)

- i. Variável **contínua** (incrementos de 5 unidades e 'centrada' em 0.5 [mínimo])
 - **Linear** (`cort_5`)
 - **Quadrática** (`cort_5+l(cort_5^2)`)
- ii. '**Normal**' (5.3–22.5) vs. '**Anormal**' (<5.3 ou >22.5) (`cort_anorm`)
- iii. '**Baixo**' (<5.3) vs. '**Normal**' (5.3–22.5) vs. '**Alto**' (>22.5) (`cort_high_norm_low`)
- iv. Em **quartis** (0.5 / 6.4 / 11.3 / 18.2 / 158.1) (`cort_quart`)
- v. '**Normal b**' (5.3–18) vs. '**Anormal b**' (<5.3 ou >18) (`cort_anorm_18`)

c) **Prolactina** (ng/dL)

- i. Variável **contínua** (incrementos de 5 unidades e 'centrada' em 0.3 [mínimo])
 - **Linear** (`prl_5`)
 - **Quadrática** (`prl_5+l(prl_5^2)`)
- ii. '**Normal**' (M: 2.0–18.0; F: 2.0–29.0) vs. '**Anormal**' (outros) (`prl_anorm`)
- iii. '**Baixo**' vs. '**Normal**' vs. '**Alto**' (mesmos limites) (`prl_high_norm_low`)
- iv. Em **quartis** (0.3 / 5.8 / 8.1 / 11.9 / 162.2) (`prl_quart`)
- v. '**Oito ou mais**' (>8) vs. '**Resto**' (`prl_anorm_18`)

9.2 Apêndice 2. O número de modelos possíveis para cinco variáveis independentes. (+) a variável está presente no modelo e (–) a variável não está presente no modelo, importância relativa de cada variável, valor do critério de informação de Akaike (AICc), delta de Akaike e o peso de Akaike.

Modelo	Intercept	Cortisol	Sexo	Idade	DSSO	Prolactina	DF	LogLik	AICc	Delta	Peso de AICc
		0.994	0.919	0.767	0.740	0.502					
1(Top)	+	+	+	+	+	+	6	-41.296	95.457	0	0.31304
2	+	+	+	+	+	-	5	-42.708	96.028	0.571	0.23527
3	+	+	+	+	-	-	4	-44.794	97.992	2.535	0.08813
4	+	+	+	-	+	-	4	-44.892	98.189	2.732	0.07987
5	+	+	+	+	-	+	5	-43.947	98.507	3.050	0.06812
6	+	+	+	-	+	+	5	-44.022	98.657	3.200	0.06321
7	+	+	+	-	-	-	3	-46.633	99.505	4.048	0.04136
8	+	+	+	-	-	+	4	-46.099	100.602	5.145	0.02390
9	+	+	-	+	+	-	4	-46.344	101.092	5.635	0.01871
10	+	+	-	+	-	-	3	-47.587	101.414	5.957	0.01592
11	+	+	-	+	+	+	5	-45.584	101.780	6.322	0.01326
12	+	+	-	+	-	+	4	-47.088	102.581	7.124	0.00889
13	+	+	-	-	-	-	2	-49.293	102.704	7.247	0.00836
14	+	+	-	-	+	-	3	-48.295	102.829	7.372	0.00785
15	+	+	-	-	+	+	4	-47.848	104.101	8.644	0.00416
16	+	+	-	-	-	+	3	-48.984	104.209	8.752	0.00394
17	+	-	+	+	+	+	5	-47.157	104.926	9.469	0.00275
18	+	-	+	+	+	-	4	-48.712	105.828	10.370	0.00175
19	+	-	+	+	-	-	3	-51.037	108.313	12.856	0.00051
20	+	-	+	+	-	+	4	-50.025	108.455	12.998	0.00047
21	+	-	+	-	+	+	4	-51.052	110.509	15.051	0.00017
22	+	-	+	-	+	-	3	-52.153	110.546	15.089	0.00017
23	+	-	+	-	-	-	2	-54.269	112.656	17.199	0.00006
24	+	-	+	-	-	+	3	-53.487	113.215	17.758	0.00004
25	+	-	-	+	+	-	3	-53.690	113.621	18.163	0.00004
26	+	-	-	+	-	-	2	-55.085	114.289	18.832	0.00003
27	+	-	-	+	+	+	4	-53.064	114.533	19.076	0.00002
28	+	-	-	+	-	+	3	-54.667	115.575	20.118	0.00001
29	+	-	-	-	+	-	2	-57.307	118.734	23.276	0.00000
30 (nulo)	+	-	-	-	-	-	1	-58.483	119.005	23.548	0.00000
31	+	-	-	-	+	+	3	-56.974	120.188	24.731	0.00000
32	+	-	-	-	-	+	2	-58.238	120.595	25.137	0.00000

10. Anexo

Artigo Original

Título:

Impacto das concentrações de cortisol nas fases iniciais da infecção por SARS-CoV-2 na evolução clínica de pacientes com Covid-19

Silvio Fonseca^{1,2}, Tatiana Borges², Luciana Naves^{2,3}, Fernando Abad¹

¹ Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

² Sabin Medicina Diagnostica, Secretaria de Saúde, Brasília, DF, Brasil

³ Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília (DF) Brasil.

Endereço do Autor:

Tatiana Borges- Universidade de Brasília, Instituto de Biologia (IB) - Campus Darcy Ribeiro - Asa Norte - 70790075 - Brasília, DF – Brasil - Telefone: (61) 31071934

RESUMO

Introdução: Os coronavírus humanos (HCoVs) foram identificados na década de 60 e são responsáveis pela Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), resultando em milhões de mortes em todo o mundo. O SARS-CoV-2 resultou em mais de 530 milhões de casos confirmados e mais de 6 milhões de mortes em todo o mundo. O sistema imunológico é crucial para controlar as infecções por coronavírus. Além disso, o sistema endócrino desempenha um papel importante, pois a infecção por SARS-CoV-2 pode afetar várias glândulas endócrinas. O cortisol e a prolactina são glicocorticoides que podem modular a resposta imune, portanto, uma resposta hormonal alterada pode influenciar as respostas fisiológicas e imunes, desempenhando um papel crucial nas infecções por SARS-CoV-2. **Objetivo:** Avaliar a relação entre as concentrações de cortisol e prolactina nas fases iniciais da infecção e a gravidade da evolução clínica em indivíduos com diagnóstico de Covid-19. **Método:** Foi realizado um estudo de coorte prospectivo com pacientes voluntários, recrutados em unidades de saúde do Distrito Federal e com COVID-19 confirmada por RT-PCR. Foram feitas análises exploratórias e multivariadas das variáveis extraídas dos prontuários dos pacientes, com ajustes e desenvolvimento de modelos utilizando o método de Akaike. As variáveis dependentes foram o risco de hospitalização, saturação de O₂ baixa (<93%) e a necessidade de suporte de O₂. **Resultados:** o cortisol basal anormal foi relacionado com um aumento nas chances de internação hospitalar, com a saturação O₂ (<93%) e com a necessidade de suporte ventilatório em 15,7%, 6,7% e 10,9%, respectivamente. O sexo, a idade e a presença de comorbidades também foram fatores que contribuíram para um aumento nas chances de um pior prognóstico. A prolactina basal não apresentou um impacto importante no desfecho. **Conclusão:** Os dados mostram que alterações no nível de cortisol se relacionam com um pior prognóstico dos pacientes homens com comorbidades e conforme o avanço da idade.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, Covid-19, cortisol, prolactina, sistema imune, evolução clínica.

INTRODUÇÃO

Os coronavírus humanos (HCoVs) foram primeiramente identificados na década de 60 como HCoV-229E e HCoV-OC43^{1,2}. Três grandes surtos causados pelos (HCoVs) ocorreram nas últimas três décadas, entre eles o de um coronavírus de origem zoonótica foi relacionado à causa de pneumonia grave em Wuhan na China, sendo nomeado posteriormente como SARS-CoV-2. Este foi responsável por mais de 530 milhões de casos confirmados e mais de 6 milhões de mortes no mundo^{3,4}. O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples não segmentado e envelopado. Pertence à subfamília Coronavirinae, família Coronaviridae e ordem Nidovirales⁵.

O que os estudos indicam, até o momento, é que a transmissão do vírus surgiu por via zoonótica⁶, no entanto, sua rápida disseminação entre humanos, reforça que sua principal via de transmissão é a de pessoa para pessoa. O SARS-CoV-2 pode ser transmitido pelo ar a partir de partículas virais eliminadas por saliva ou muco nasal de uma pessoa infectada ao tossir ou espirrar⁷. Além disso, a infecção da mucosa dos olhos, nariz e boca é uma possível via de transmissão a partir do contato com superfícies contaminadas⁸ visto que as partículas virais podem permanecer viáveis por muitos dias em superfícies lisas e temperaturas mais baixas^{9,10}.

Inicialmente, quando a Covid-19 se estabeleceu por todo o mundo, houve grandes esforços para a identificação da via de infecção do vírus, pois isto traria uma grande implicação para o entendimento da patogênese e desenvolvimento de estratégias terapêuticas⁵ e foi identificado que a ACE2 (enzima de conversão da angiotensina) componente fundamental no sistema renina-angiotensina possui função fisiológica de converter a angiotensina I em angiotensina (1-9) e a angiotensina II em angiotensina (1-7). A angiotensina (1-9) se liga ao receptor, "MAS" levando à vasodilatação e efeitos anti-inflamatórios. Em contraste, a ACE converte a angiotensina I em angiotensina II. Por sua vez, a angiotensina II causa vasoconstrição e efeitos pró-inflamatórios por meio do receptor de angiotensina II tipo1¹¹.

Em cerca de 81% dos casos de Covid-19, a infecção aguda acontece de maneira assintomática ou com sintomatologia leve a moderada. Entretanto, o alto percentual de pessoas assintomáticas pode ser desafiante no controle da

doença, pois foi demonstrado em pessoas que evoluíram para a cura clínica, resultados continuamente positivos de RT-PCR (reação em cadeia da polimerase em transcrição reversa) (Lan et al, 2020). Geralmente pacientes com algum tipo de comorbidades estão mais propensos desenvolver formas mais graves da Covid-19 ¹².

O sistema imune é vital para o controle e resolução das infecções por CoV, ao mesmo tempo que contribui na patogênese ⁵ considerando que o vírus causa grande perda celular pela sua alta capacidade de replicação e pelo seu efeito citopático no local acometido¹³. O sistema endócrino também pode desempenhar um papel importante na infecção por SARS-CoV-2. Os distúrbios endócrinos e metabólicos pré-existentes podem ser fatores de risco para pior progressão clínica de Covid-19 ¹⁴ e adicionalmente, o próprio vírus apresenta afinidade de ligação aos tecidos endócrinos, provocando lesão tissular direta ou desencadeando reações autoimunes secundárias¹⁵. No entanto, a repercussão das disfunções endócrinas em pacientes acometidos por Covid-19 é pouco explorada ¹⁶.

A infecção por SARS-CoV-2 pode alterar a funcionalidade de diversas glândulas do sistema endócrino e processos metabólicos. A interação neuroendócrina e imunológica interfere na resposta **metabólica ao estresse e processos inflamatórios, o que pode aumentar o risco de** desenvolver formas graves da doença. A infecção por SARS-CoV-2 pode alterar a funcionalidade de diversas glândulas do sistema endócrino e processos metabólicos. A interação neuroendócrina e imunológica interfere na resposta **metabólica ao estresse e processos inflamatórios, o que pode aumentar o risco de** desenvolver formas graves da doença¹⁵.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho e população do estudo: O estudo foi realizado no Distrito Federal (DF), situado na região Centro-Oeste, é uma das 27 unidades federativas do Brasil. É um território autônomo, dividido em 33 Regiões Administrativas (RA), totalizando uma área territorial de 5.779,997 km² com uma população de 3.094.325 habitantes (IBGE, 2021). A amostra foi composta por pacientes voluntários de ambos os sexos, maiores de 18 anos, recrutados em unidades de

saúde secundária e terciária no DF. Para as análises bioquímicas do cortisol e prolactina foram realizadas coletas por punção venosa de sangue periférico em tubos a vácuo sem anticoagulante com gel separador de 10 mL para obtenção de soro. As amostras foram coletadas em até 24 horas após a confirmação do resultado de RT-PCR para SARS-CoV-2. Foi considerado como cortisol basal e prolactina basal a primeira amostra colhida após a confirmação por RT-PCR e a inclusão do paciente no estudo.

ANÁLISES ESTÁTISTICAS

Os dados coletados foram digitados e processados nos programas Excel e SPSS (versão 22, SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Foi realizada análise descritiva dos resultados e calculadas frequências absolutas e relativas para as variáveis categóricas.

APROVAÇÃO ÉTICA

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (CEP-FM/UnB) sob o número CAAE 30846920.7.0000.0008.

RESULTADOS

A amostra do estudo foi constituída por 204 pacientes que tiveram diagnóstico confirmado de infecção por SARS-CoV-2 por RT-PCR e que procuraram os serviços de saúde nos hospitais credenciados para a pesquisa. Dos pacientes, 99/204 (48,5%) não realizaram dosagem de cortisol ou prolactina e uma paciente estava grávida, portanto, foram excluídos do estudo. Dos participantes do estudo, 55/104 (58,8%) são mulheres com média de idade de 46,8 anos e os participantes do sexo masculino apresentaram média de idade de 48,9 anos. Sete pacientes (6,7%) evoluíram para óbito. Na avaliação da frequência dos sintomas clínicos, 66/104 (63,5%) apresentaram febre e fadiga. A dispneia, cefaleia e a saturação (<93%) estiveram presentes em 64,5%, 48,1% e 51,9%

dos pacientes respectivamente e ageusia/anosmia foi identificada em 46/104 (44,3%) da amostra (Tabela I).

Tabela 1. Descrição e características clínicas dos pacientes da amostra. Distrito Federal, 2021.

Parâmetros	Mulheres N = 55 (52,8%)	Homens N = 49 (47,2%)	Total N = 104
Média de Idade (anos)	47,1 (27-76)	48,9 (23-81)	47,9 (23-81)
Duração dos Sintomas (dias)	5,2 (1-12)	4,5 (1-11)	4,8 (1-12)
Sintomas iniciais			
Dispneia	27 (49,1%)	40 (81,6 %)	67 (64,4%)
Cefaleia	28 (50,9%)	22 (44,9%)	50 (48,1%)
Febre	35 (63,6%)	31 (63,2%)	66 (63,5%)
Saturação <93%	23 (41,8%)	31 (63,2%)	54 (51,9%)
Ageusia/Anosmia	27(58,7%)	19 (41,3%)	46 (44,3%)
Fadiga	36 (54,5%)	30 (45,5%)	66 (63,5%)
Evoluíram para Óbito	2 (28,6%)	5 (71,4%)	7 (6,7%)

Do total de pacientes, 78/104 (75%) foram classificados como graves/críticos e foram internados. Em contrapartida, 26/104 (25%) foram classificados como leves/moderados, de acordo com o que foi descrito no Protocolo TARGET (Kurizky et al, 2021). Assim, a maior frequência de internação foi observada em homens (Tabela 2).

Tabela 2. Características dos grupos de internados e não internados. Distrito Federal, 2021.

Parâmetros	Não internados N = 26 (25,0%)	Internados N = 78 (75,0%)	Total 104
Mulheres	20 (76,9%)	35 (44,9%)	55 (52,8%)
Homens	6 (23,1%)	43 (55,1%)	49 (47,2%)
Média de Idade (anos)	42,6 (27-75)	49,7 (23-81)	47,9 (23-1)
Duração dos Sintomas (dias)	4,2 (1-8)	5,1 (1-12)	4,8 (1-12)

Os níveis anormais de cortisol basal tiveram um efeito positivo ajustado para idade, sexo, DSSO e prolactina basal nas chances de internação hospitalar. Isso sugere que: em relação ao cortisol basal anormal baixo (abaixo de 5,3 µg/dL) e cortisol basal alto (acima de 22,5 µg/dL), os pacientes tiveram cerca de

16 vezes mais chances de serem internados, com OR ajustada em 15,77 e IC= 3,35 a 74,32. O efeito da prolactina basal ajustado para idade, sexo, DSSO e cortisol basal nas chances de internação hospitalar foi efetivamente indistinguível de zero: beta = 0,116, SE = 0,103 (SE incondicional = 0,104), (IC= 0,033 a 0,265), o OR ajustado foi de 1,12 (IC= 0,97 a 1,30), conforme figura 1.

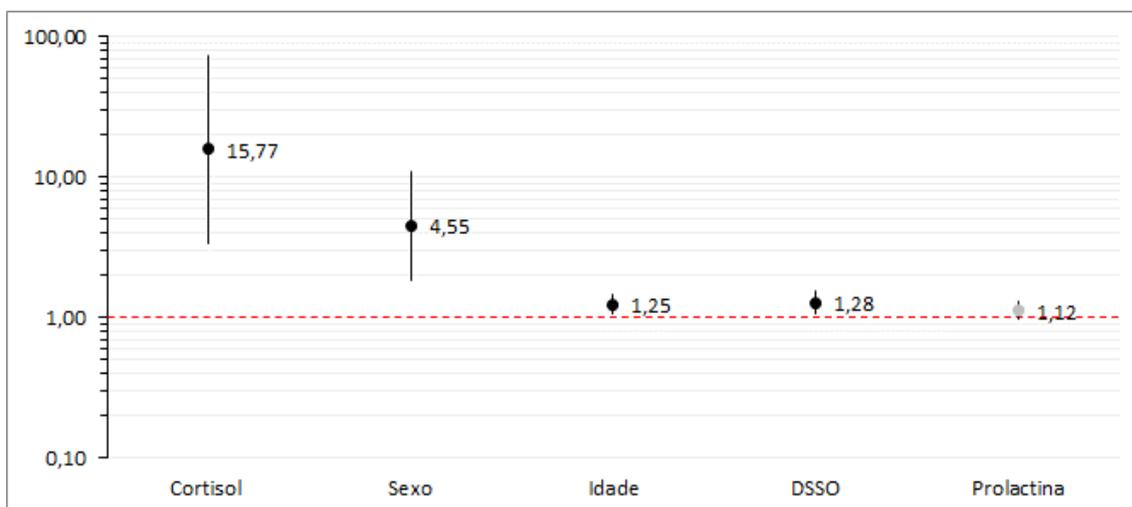


Figura 1. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a odds ratio ajustada para cada uma das cinco variáveis analisadas. As variáveis cortisol, sexo, idade e DSSO apresentaram efeitos positivos para o desfecho hospitalização, enquanto a prolactina basal não mostrou associação.

Os níveis de cortisol basal anormais tiveram efeitos positivos (após ajuste para todas as variáveis na análise) nas chances de saturação baixa (<93%) (beta =1,374, SE=0,593 (SE incondicional=0,601), (IC 0,512 a 2,235)). Isso sugere que em relação aos pacientes com níveis anormais de cortisol, os pacientes com cortisol basal baixo (abaixo de 5,3 µg/dL) ou alto (acima de 22,5 µg/dL) eram cerca de 4 vezes mais propensos a ter saturação baixa (<93%), com OD ajustada em 4,0 e IC= 1,67 a 9,35.

O efeito ajustado para prolactina basal (>8ng/dL) nas chances de saturação baixa (<93%) foi efetivamente indistinguível de zero (beta=0,251, SE=0,551 (SE incondicional=0,557), (IC= 0,548 a 1,050), com OD ajustada em 1,30 e IC= 0,58 a 2,86. Assim, como a prolactina, as variáveis DSSO, sexo, idade, sinais/sintomas, fadiga/astenia e anosmia/ageusia não apresentaram associação com a variável saturação baixa (<93%).

Os pacientes com uma ou mais comorbidades também foram mais propensos a apresentar saturação baixa (<93%) (Figura 2), com OD ajustada em 6,1 e (IC= 2,55 a 14,75).

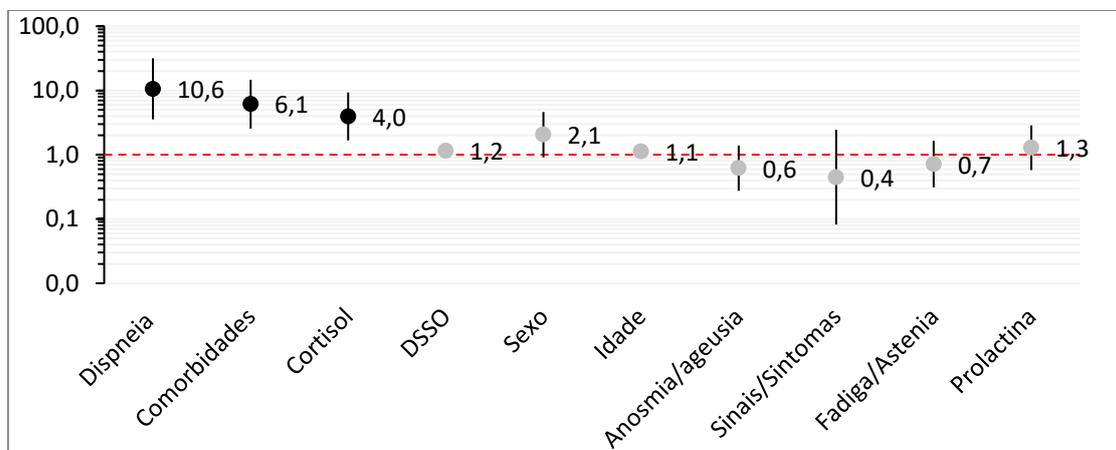


Figura 2. Apresentação os intervalos de confiança (85%) com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas de saturação baixa (<93%). As variáveis dispneia, comorbidades e cortisol, apresentaram associação positiva para saturação baixa (<93%), enquanto a prolactina basal, DSSO, sexo, idade, sinais/sintomas, fadiga/astenia e anosmia/ageusia não mostraram associações.

Os níveis de cortisol basal anormal, comorbidades, DSSO e idade tiveram uma associação positiva nas chances de necessidade de suporte de oxigênio, após ajustes para todas as outras variáveis. Enquanto sinais/sintomas, sexo, fadiga e prolactina não apresentaram associação para a necessidade de suporte de oxigênio. Assim como no desfecho de saturação baixa (<93%), anosmia/ageusia apresentaram uma associação negativa (Figura 3).

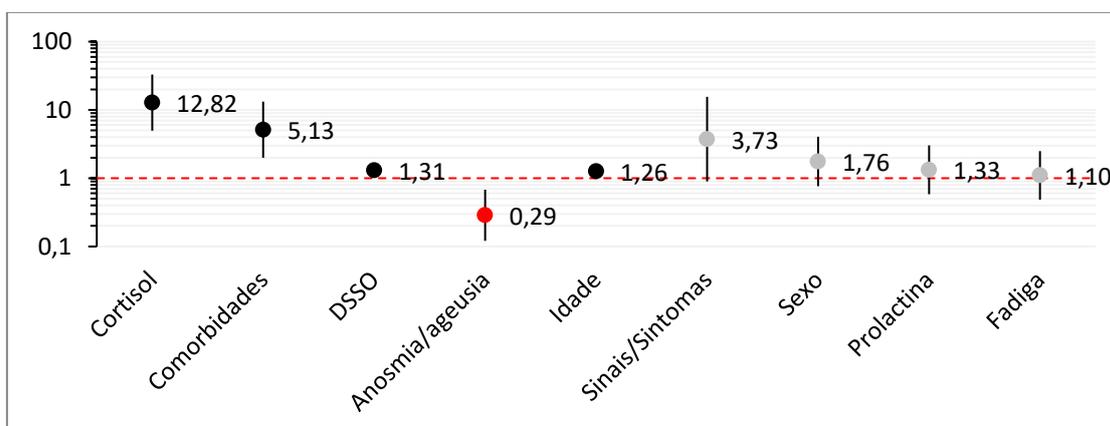


Figura3. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a Odds Ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas. As variáveis cortisol, comorbidades e DSSO apresentaram associação positiva para necessidade de suporte de oxigênio, enquanto a prolactina basal, idade, sexo, sinais/sintomas, fadiga e não mostraram associações e anosmia/ageusia mostrou uma associação negativa.

Diante do exposto, foi realizada uma nova análise, excluindo anosmia/ageusia, para avaliar se a associação negativa influenciava nos desfechos das variáveis focais cortisol e prolactina, na necessidade de suporte de oxigênio. Para isso, novos modelos foram formulados, ajustados ao modelo completo e calculados o ICCc, delta de AICc e peso de Akaike. Por fim, analisados o suporte de dados que cada modelo forneceu (Figura 4).

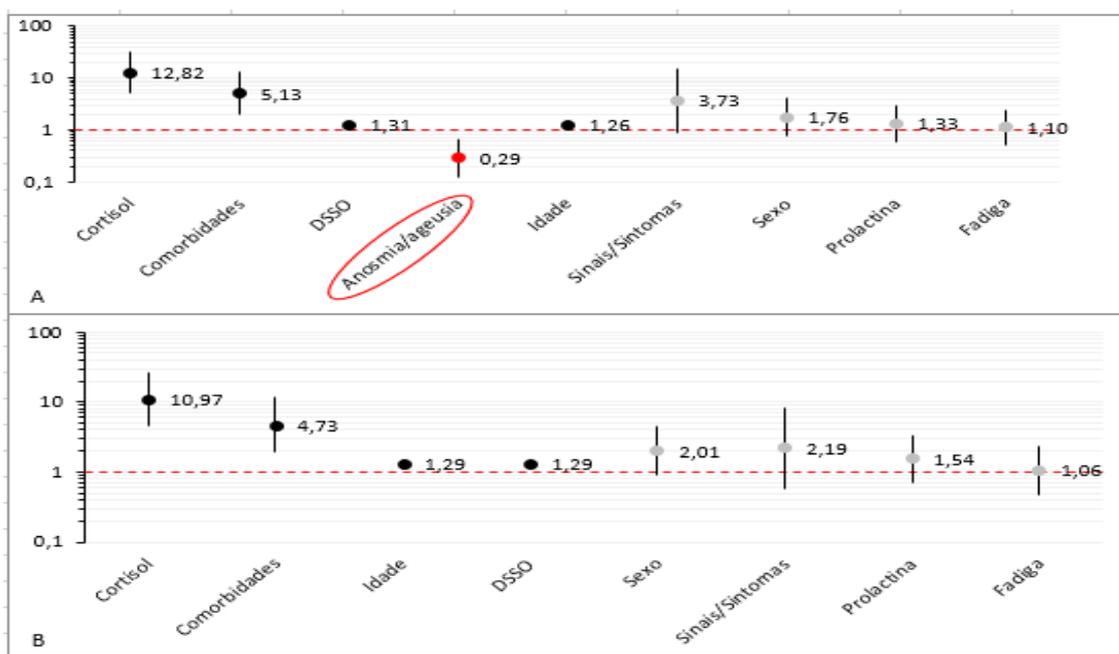


Figura 18. Apresentação dos intervalos de confiança (85%) com a odds ratio ajustada para cada uma das variáveis analisadas, comparando modelos com e sem anosmia/ageusia. (A) Modelo analisado com a variável anosmia/ageusia (B) Modelo analisado sem a variável anosmia/ageusia

DISCUSSÃO

Nessa perspectiva, pela primeira vez, em uma população heterogênea atendida pelo SUS, foi possível associar alterações nos níveis de cortisol basal com a necessidade de internação, suporte de ventilatório e baixa saturação de O₂. Isso foi observado, principalmente, em pessoas mais velhas, do sexo masculino e com comorbidades. Em contrapartida, as análises não sustentaram o mesmo desfecho para prolactina.

Nossos resultados mostraram que pacientes que apresentaram cortisol inicial alterado, considerando os valores de referência estabelecidos, em até 24

horas após o diagnóstico para Covid-19, tiveram as chances aumentadas em ser admitidos em internação hospitalar, quando comparado com os pacientes que apresentaram cortisol dentro dos valores de referência. Resultados semelhantes foram encontrados por Tan e colaboradores, (2020), onde foi demonstrado que altas concentrações de cortisol basal estão associadas a um aumento na mortalidade e no mau prognóstico de pacientes diagnosticados com Covid-19.

Esses valores alterados em nosso estudo representam tanto valor abaixo como acima da referência normal. Sabe-se que os glicocorticoides possuem efeitos bifásicos dependentes das concentrações e do tempo de ação. Assim podem desempenhar papéis estimulantes e reguladores nos processos inflamatórios¹⁷. O cortisol estimula o metabolismo celular, disponibilizando substratos energéticos, estimulando a síntese de proteínas e glicogênio, ativando a lipólise, a gliconeogênese e exercendo funções sobre SNC¹⁸. A elevação do cortisol é considerada como um fator protetor para o organismo no que se refere à hiper inflamação, protegendo contra a destruição tecidual, inibindo a transcrição de citocinas pró-inflamatórias ¹⁹.

Após análise das cinco variáveis independentes (cortisol, prolactina, sexo, idade e DSSO) para o desfecho hospitalização, foi observado que homens com cortisol alterado apresentaram maiores chances de internação que as mulheres. É possível que essas diferenças estejam em parte associadas aos hábitos e estilo de vida; por exemplo: falta de atividade física, tabagismo, alcoolismo, má alimentação, que são fatores mais presentes no sexo masculino que no feminino. Outros estudos mostraram que as diferenças hormonais e imunológicas entre os sexos têm um papel fundamental na fisiopatologia e na gravidade da Covid -19 ^{20 21}. Uma das explicações para isso está no fato de que os hormônios sexuais exercem interferência sobre a produção de glicocorticoides, como é o caso do cortisol, e vice-versa ²². Um estudo realizado por janelle e colaboradores, em 2006, mostrou que os estrogênios aumentam e os andrógenos diminuem as respostas glicocorticoides à uma variedade de estímulos inflamatórios e não inflamatórios. Entre estes mecanismos, os hormônios sexuais modulam o feedback negativo exercido pelo cortisol no hipotálamo por meio da síntese de citocinas. Outro mecanismo pelo qual o cortisol também pode interferir em hormônios sexuais ocorre pela sua interação com a enzima aromatase que é

responsável pela conversão de testosterona em estrogênio. Isso possibilita que pacientes com cortisol elevado tenham níveis de testosterona baixos e de estrogênio elevados, o que favorece a secreção de TNF e citocinas pró-inflamatórias²³. Corroborando esses achados, Mohamad e colaboradores, em 2019, mostraram que baixos níveis de testosterona estão associados ao aumento do risco de inflamação sistêmica.

Uma das dificuldades deste estudo foi avaliar os níveis de cortisol e prolactina ao longo do tempo de internação, com dosagens seriadas desses hormônios, avaliando assim as concentrações hormonais com a evolução clínica dos pacientes internados. Essa limitação ocorreu porque as dosagens de vários pacientes não foram realizadas e o número da amostra se tornou muito pequena para avaliar se as alterações hormonais voltariam à concentrações normais ou não com a evolução da doença. Também não foi possível prospectar se algum medicamento ou o tipo de comorbidade influenciou os desfechos escolhidos. Assim, a condução de um estudo de coorte com maior número de indivíduos seria de extrema importância para avaliar se a concentração de cortisol flutua em função de doenças preexistentes e quais medicamentos alteram de forma significativa a produção de cortisol, que se associaria a um pior prognóstico em pacientes com Covid-19.

Os resultados encontrados sugerem que a presença de cortisol alterado aumenta o risco dos indivíduos infectados com Covid-19 serem internados e piorarem seu quadro pulmonar. Esse resultado chama atenção para que seja monitorada o nível deste hormônio nos pacientes, de tal forma que seus níveis sejam devidamente corrigidos para uma resposta imune e bioquímica mais equilibrada.

CONFLITO DE INTERESSE.

O presente artigo não apresenta nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Hamre D, Procknow JJ. **A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract.** *Exp Biol Med.* 1966 Jan 1;121(1):190–3. Disponível em: <http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-121-307347>
- 2) McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci.* 1967 Apr 1;57(4):933–40. Disponível em: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.57.4.933>
- 3) MS. **Casos de COVID-19 Brasil** (Ministério da Saúde, 2021). Painel Coronavírus. 2021. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>
- 4) Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012;367(19):1814–20.
- 5) Guo Y-R, Cao Q-D, Hong Z-S, Tan Y-Y, Chen S-D, Jin H-J, et al. **The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status.** *Mil Med Res.* 2020 Dec 13;7(1):11. Disponível em: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-020-00240-0>
- 6) Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. **From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses.** *Infect Genet Evol.* 2020 Nov;85(June):104502. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134820303336>
- 7) CDC. (CDC, 2021) **How COVID-19 Spreads.** Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>
- 8) Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. **Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2.** *BMJ.* 2020 Oct 23;371:m3862. Disponível em: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.m3862>
- 9) Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, Hui KPY, Yen H-L, Chan MCW, et al. **Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions.** *The Lancet Microbe.* 2020 May;1(1):e10. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247\(20\)30003-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247(20)30003-3/fulltext)
- 10) van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. **Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as**

Compared with SARS-CoV-1. N Engl J Med. 2020 Apr 16;382(16):1564–7. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2004973>

11) Hamming I, Cooper M, Haagmans B, Hooper N, Korstanje R, Osterhaus A, et al. **The emerging role of ACE2 in physiology and disease.** J Pathol. 2007 May;212(1):1–11. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.2162>

12) Ejaz H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, et al. **COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients.** Journal of Infection and Public Health. 2020 Dec;13(12):1833–9. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876034120305943>

13) Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. **Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19.** Viruses. 2020 Mar 27;12(4):372. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/12/4/372>

14) Lisco G, de Tullio A, Stragapede A, Solimando AG, Albanese F, Capobianco M, et al. **COVID-19 and the Endocrine System: A Comprehensive Review on the Theme.** Journal of Clinical Medicine. 2021 Jun 29;10(13):2920. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/13/2920>

15) Soldevila B, Puig-Domingo M, Marazuela M. **Basic mechanisms of SARS-CoV-2 infection. What endocrine systems could be implicated?** Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders. 2021 Jul 31; Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09678-6>

16) Kumar B, Gopalakrishnan M, Garg MK, Purohit P, Banerjee M, Sharma P, et al. **Endocrine dysfunction among patients with COVID-19: A single-center experience from a tertiary hospital in India.** Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2021;25(1):14–9

17) Yeager MP, Rassias AJ, Pioli PA, Beach ML, Wardwell K, Collins JE, et al. **Pretreatment with stress cortisol enhances the human systemic inflammatory response to bacterial endotoxin.** Critical Care Medicine. 2009 Oct;37(10):2727–32. Disponível em: <http://journals.lww.com/00003246-200910000-00008>

18) Sapolsky RM. **How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions.** Endocrine Reviews. 2000 Feb 1;21(1):55–89. Disponível em: <http://press.endocrine.org/doi/10.1210/edrv.21.1.0389>

19) Xiang Z, Liu J, Shi D, Chen W, Li J, Yan R, et al. **Glucocorticoids improve severe or critical COVID-19 by activating ACE2 and reducing IL-6 levels.** International Journal of Biological Sciences. 2020;16(13):2382–91. Disponível em: <https://www.ijbs.com/v16p2382.htm>

- 20) Reis DM dos, Gama LPSR, Teixeira IA, Paula FGP de, Ferreira NN, Oliveira RF, et al. **A influência dos hormônios sexuais na resposta imunológica da COVID-19: uma revisão integrativa.** Revista Eletrônica Acervo Saúde. 2021 Nov 1;13(11):e9073. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/9073>
- 21) Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Faidah H, Alexiou A, Batiha GES. **Testosterone in COVID-19: An Adversary Bane or Comrade Boon.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021 Sep 8;11. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.666987/full>
- 22) Bereshchenko O, Bruscoli S, Riccardi C. **Glucocorticoids, Sex Hormones, and Immunity.** Frontiers in Immunology. 2018 Jun 12;9(JUN). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.01332/full>
- 23) Janele D, Lang T, Capellino S, Cutolo M, da Silva JAP, Straub RH. **Effects of testosterone, 17beta-estradiol, and downstream estrogens on cytokine secretion from human leukocytes in the presence and absence of cortisol.** Ann N Y Acad Sci. 2006 Jun 1;1069(1):168–82. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855144>