

**UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA  
CURSO DE BIOMEDICINA**

Dyovana Pastoriza Gonçalves

**AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DOS SINTOMAS EM PACIENTES COM SARS-  
CoV-2 E DE SUA RELAÇÃO COM O COMPRIMENTO DOS TELÔMEROS**

Santa Cruz do Sul

2022

Dyovana Pastoriza Gonçalves

**AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DOS SINTOMAS EM PACIENTES COM SARS-  
CoV-2 E DE SUA RELAÇÃO COM O COMPRIMENTO DOS TELÔMEROS**

Projeto de pesquisa a ser apresentado à disciplina de Trabalho de Curso I, do Curso de Biomedicina da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC.

Orientador: Andréia Rosane de Moura Valim

Coorientador: Lia Gonçalves Possuelo

Santa Cruz do Sul

2022

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha amada orientadora prof Andreia, por todo suporte durante minha graduação, que me acolheu desde meu segundo semestre e esteve comigo nos piores e melhores momentos, que compreendeu quando as coisas “não entravam” na minha cabeça, que me fez ser a pesquisadora que sou hoje. Eu tenho orgulho de falar que fui sua orientanda e com toda certeza você sempre será minha maior inspiração.

Á minha co-orientadora Lia, que esteve comigo durante todo meu trajeto, que nunca hesitou em me ajudar quando as dúvidas surgiam, sempre esteve disposta a me escutar e me acolher como uma filha. Agradeço pelos puxões de orelha que certamente eu levo como aprendizado para a vida toda e ainda, pelas aulas maravilhosas que tive a oportunidade de ser tua aluna, sou eternamente grata por você ter feito parte de todo meu trajeto.

Desde 2019, fui bolsista de iniciação científica, nesse período eu conheci pessoas maravilhosas que ganharam um espaço enorme no meu coração, obrigada por todas as risadas, conhecimentos passados e amizades. Em especial, quero agradecer a equipe do 55, que eu pude trabalhar durante todo o período da pandemia, ajudando no diagnóstico do Covid, com vocês eu aprendi muito e sou grata por toda essa família.

Agradeço a Duda, por ter aceitado fazer meus experimentos comigo, se disponibilizar durante feriado e ser meu braço direito nessa fase final.

Quero deixar um agradecimento especial para minhas amigas que fiz durante todo esse período de graduação, Duda, Rafa, Djulia e Manu, vocês foram um suporte para mim e me ajudaram quando os surtos vinham, sem vocês, nada teria sido igual, obrigada por fazerem parte disso e serem umas das melhores pessoas que já conheci e que levarei eternamente comigo.

Agradeço meus amigos, que entenderam que as vezes não era possível estar presente com eles e me apoiaram para que esse momento chegasse. Agradeço meu namorado, Artur, por estar do meu lado nessa reta final e por ter me dado o suporte que precisava, por me incentivar e me animar mesmo quando eu estava surtando com meus trabalhos.

Por fim, gostaria de agradecer minha família, que me deu a oportunidade de está realizando um sonho, por me incentivarem a sempre buscar o melhor de mim, principalmente, minha irmã, Jeniffer, que me escutou e me aconselhou em todo esse processo, que acreditou em mim e não me deixou desistir em nenhum momento. A todos vocês, eu só tenho a agradecer, vocês fazem parte da minha história, muito obrigada!

## RESUMO

A pandemia da síndrome respiratória aguda do coronavírus 2 (SARS-CoV-2) causou uma crise na saúde pública do mundo todo. As manifestações clínicas e a severidade dos sintomas estão sendo aos poucos esclarecidas, no entanto, já se sabe que a gravidade aumenta com a idade, sendo que os mais velhos apresentam maior mortalidade, sugerindo que as vias moleculares subjacentes ao envelhecimento contribuem para a gravidade da Covid-19. Os telômeros são estruturas que estão localizadas nas extremidades dos cromossomos e estão sendo amplamente investigadas, cujo seu comprimento está relacionado com processos inflamatórios e com a idade biológica. O vírus da Covid-19, o SARS-CoV-2 pode infectar diversos tipos de células, fazendo com que aumente o processo de regeneração e renovação dos tecidos. Estudos têm indicado uma relação entre o Covid-19 e o comprimento dos telômeros, sendo que o tamanho dessa estrutura pode ter implicações na severidade da doença. Com base nisso, o objetivo do estudo é avaliar a severidade dos sintomas em pessoas que foram contaminados pelo vírus SARS-CoV-2 e a relação com o comprimento dos telômeros, para dessa forma entender sobre a gravidade e a severidade da doença em indivíduos com telômeros mais curtos. No estudo foram incluídas pessoas que tiveram infecção com o SARS-CoV-2, cujos sintomas foram graves, brandos ou assintomáticos. As análises foram realizadas com 67 participantes, dos quais 36 (53,7%) já haviam tomado alguma dose da vacina. A maioria dos participantes estavam na faixa etária de 21-40 anos (43,3%). Dos participantes analisados, todos mostraram ao menos algum tipo de sintoma, sendo que o sintoma mais prevalente foi cansaço, apresentado por 59 (88%) pessoas e o menos prevalente foi de erupção cutânea 11(16,4%). Além disso, os participantes mostraram na sua maioria, possuir os telômeros menores 38(56,7%) de acordo com o cálculo DeltaDeltaCt. Também foi analisado a relação dos telômeros e comorbidades, aonde 21 (31,1) dos participantes mostraram ter algum tipo de comorbidades e 13 (61,9) tinham os telômeros <1. A partir desse estudo, foi possível avançar na compreensão das razões porque alguns desenvolvem as formas graves da Covid-19 e outras não e explicando alguns aspectos epidemiológicos únicos da pandemia causada pelo SARS-COV-2 e sua relação com o comprimento dos telômeros.

Palavras-Chave: Covid-19, Comprimento dos Telômeros, Sintomas da Covid-19.

## ABSTRACT

The pandemic of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has caused a public health crisis worldwide. The clinical manifestations and severity of symptoms are slowly being clarified, however, it is already known that severity increases with age, with older people having higher mortality, suggesting that molecular pathways underlying aging contribute to the severity of Covid-19. Telomeres are structures that are located at the ends of chromosomes and are being widely investigated, the length of which is related to inflammatory processes and biological age. The Covid-19 virus, SARS-CoV-2 can infect many different types of cells, causing the process of tissue regeneration and renewal to increase. Studies have indicated a relationship between Covid-19 and telomere length, and the size of this structure may have implications for disease severity. Based on this, the objective of the study is to evaluate the severity of symptoms in people who have been infected with the SARS-CoV-2 virus and the relationship with telomere length, in order to understand the severity and gravity of the disease in individuals with shorter telomeres. The study included people who had been infected with SARS-CoV-2, whose symptoms were severe, mild, or asymptomatic. The analyses were performed on 67 participants, of which 36 (53.7%) had already taken some dose of the vaccine. Most participants were in the age range of 21-40 years (43.3%). From the participants analyzed, all showed at least some type of symptom, with the most prevalent symptom being fatigue, presented by 59 (88%) people and the least prevalent was cutaneous eruption 11(16.4%). In addition, the participants were mostly shown to have shortened telomeres 38(56.7%). From this study, it was possible to advance the understanding of why some develop the severe forms of Covid-19 and others do not and explaining some unique epidemiological aspects of the SARS-COV-2 pandemic and its relationship to telomere length.

Keywords: Covid-19, Telomere Length, Covid-19 Symptoms.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1:** Estrutura do vírus e proteínas de superfície.

**Figura 2:** Efeito do comprimento dos telômeros de linfócitos T sobre a resposta imune inata e adaptativa.

**Figura 3:** Aspectos epidemiológicos e fisiopatológicos da relação entre os telômeros de linfócitos e Covid-19.

**Figura 4:** Fluxograma de organização da pesquisa.

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1-** Classificação e características das VOCs da Covid-19

**Tabela 2-** caracterização da amostra com relação a vacinação

**Tabela 3-** caracterização da amostra em relação aos telômeros

**Tabela 4-** sintomatologia e o comprimento dos telômeros

**Tabela 5-** comorbidades e o comprimento dos telômeros

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	9
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1 SARS-CoV-2	13
3.1.1 Sintomatologia	14
3.1.1.1 Variantes do SARS-CoV-2	15
3.1.3 Diagnóstico	18
3.1.2 Prevenção e tratamento	20
3.2 Epidemiologia do Covid-19	22
3.3 Telômeros	24
3.4 Covid-19 e os telômeros	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 DESENHO DO ESTUDO E AMOSTRA	28
4.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	28
4.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	28
4.1.3 VARIÁVEIS	29
4.1.3.3 VARIÁVEIS CONFUNDIDAS	29
4.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	30
4.3 COLETA DE DADOS/MENSURAÇÕES CLÍNICAS	30
4.3.1 Coleta das amostras biológicas	30
4.3.2 Aplicação do questionário	31
4.3.3 Extração de DNA	31
4.3.4 Análise quantitativa e qualitativa do DNA	32



4.3.5 Análise do comprimento dos telômeros	32
4.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6 CONCLUSÃO	41
7 REFERÊNCIAS	41
8 ANEXO	45

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, na China, iniciou um surto de uma doença infecciosa desconhecida. Após alguns dias, o agente causador dessa doença foi identificado como um novo tipo de coronavírus e a doença identificada como síndrome respiratória aguda grave causada pelo coronavírus tipo 2, o SARS-CoV-2 e a doença foi chamada de Covid-19 (OMS, 2020).

A origem do coronavírus é zoonótica e foi descrita pela primeira vez nos anos 60 por Tyrell e Bynoe (1965). No final de 2002, surgiu o Beta coronavírus, no Sul da China, que acabou ocasionando em 8.000 infecções e 774 óbitos. Já em 2012, o MERS-CoV surgiu na Arábia Saudita, causando 2.428 infecções e 838 óbitos. Em novembro de 2019, oito anos mais tarde, teve início o novo surto de um vírus da linhagem dos Covs. Com a nova pandemia da Covid-19, diversos cientistas desenvolveram técnicas para a detecção do vírus, mesmo com a falta de informação das características químicas e estruturais do SARS-CoV-2, intuições de pesquisas foram capazes desenvolver rapidamente métodos confiáveis para o diagnóstico. Como o vírus da Covid-19 é altamente transmissível, é imprescindível a utilização de técnicas de diagnóstico eficazes para o conhecimento geral de qual vírus está circulando na região (GRALINSKI; MENACHERY, 2020; GUGLIELMI, 2021; HUANG *et al.*, 2020; VELAVAN; MEYER, 2020)

Os sintomas podem variar desde casos mais leves, com pouco sintomas clínicos de forma menos agressiva, ou casos mais graves, acompanhada de disfunção respiratória. Além dessas complicações, a doença pode levar à falência de outros órgãos que levam a necessidade de um tratamento realizado na UTI. Nos casos sintomáticos, as pessoas podem ter em torno de 25 sintomas que demonstram o potencial de agressão do vírus SARS-CoV-2, que pode acometer vários sistemas. Algumas pessoas podem ser contaminadas e não apresentarem sintomas, sendo assim, assintomáticas. Alguns estudos feitos em relação aos sintomas dessa doença, mostraram que o primeiro e segundo sintoma mais prevalente foi febre e tosse, variando entre a tosse seca ou persistente, respectivamente (CHEN *et al.*, 2020; DU *et al.*, 2020). Entender sobre os sintomas deste vírus e o agravamento dessa doença foi um dos pontos principais para a comunidade científica, pois o motivo de algumas pessoas apresentarem sintomas mais graves que outras, precisa ser melhor compreendido.

Alguns fatores imunológicos que envelhecem o sistema estão ligados ao processo de contaminação pelo vírus SARS-CoV-2 e correlacionando com o fato de dados epidemiológicos apresentarem maior letalidade nos idosos (BARBOSA *et al.*, 2021).

O cromossomo possui em suas extremidades estruturas chamadas de telômeros que ajudam a manter a sua estabilidade e servem para proteger do desgaste que ocorre a cada ciclo de replicação do DNA (KAHL; SILVA, 2016). Os telômeros são estruturas presentes no DNA que são ligadas por proteínas específicas chamadas de shelterins. A cada divisão celular, os telômeros vão diminuindo seu comprimento, especialmente nas células somáticas. Nas células germinativas a manutenção dos telômeros é realizada pela enzima telomerase, cuja função é preservar o comprimento dos telômeros, adicionando repetições teloméricas (LAMPROKOSTOPOULOU *et al.*, 2019)

Existem fatores que influenciam no comprimento dos telômeros, causando seu encurtamento. Esses fatores podem estar relacionados com hábitos de vida, envelhecimento, estresse psicológico, oxidativo e as múltiplas doenças, tais como doenças cardíacas, infecciosas e doenças relacionadas à idade (KAHL; SILVA, 2016).

Existe uma relação entre o Covid-19 e os telômeros que é definido por limite de comprimento, em que o tamanho dessa estrutura implica na severidade da doença. Quando o limite é ultrapassado, sendo mais agravado dependendo da idade do indivíduo, o telômero se torna um amplificador de sintomas na Covid-19. Pacientes em estado grave de Covid-19 e o índice de mortalidade estão associados a diminuição dos telômeros, criando uma suposta ligação entre a patogenicidade do vírus e o encurtamento de telômeros. Além disso, uma desregulação imune complexa que acelera o processo de senescência das células imunes está associada aos telômeros curtos, que levam ao aumento da infecção e a casos de pneumonia ocasionadas pelo SARS-CoV-2. Essas evidências explicam os aspectos epidemiológicos relacionados com o vírus, por conta da sua relação com a idade e a gravidade da doença (AVIV, 2021; TSILINGIRIS *et al.*, 2020). Com base nessas relações, o objetivo do estudo é analisar a relação entre os sintomas mais graves de Covid-19 com o encurtamento dos telômeros.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a severidade dos sintomas em pacientes que foram contaminados pelo vírus SARS-CoV-2 e a relação com o comprimento dos telômeros.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Identificar os sintomas apresentados por pessoas com diagnóstico de Covid-19 e variáveis sociodemográficas;
- ✓ Avaliar o comprimento dos telômeros em pessoas que tiveram Covid-19;
- ✓ Relacionar as características sociodemográficas, comorbidades e sintomas de Covid-19 com o comprimento dos telômeros.

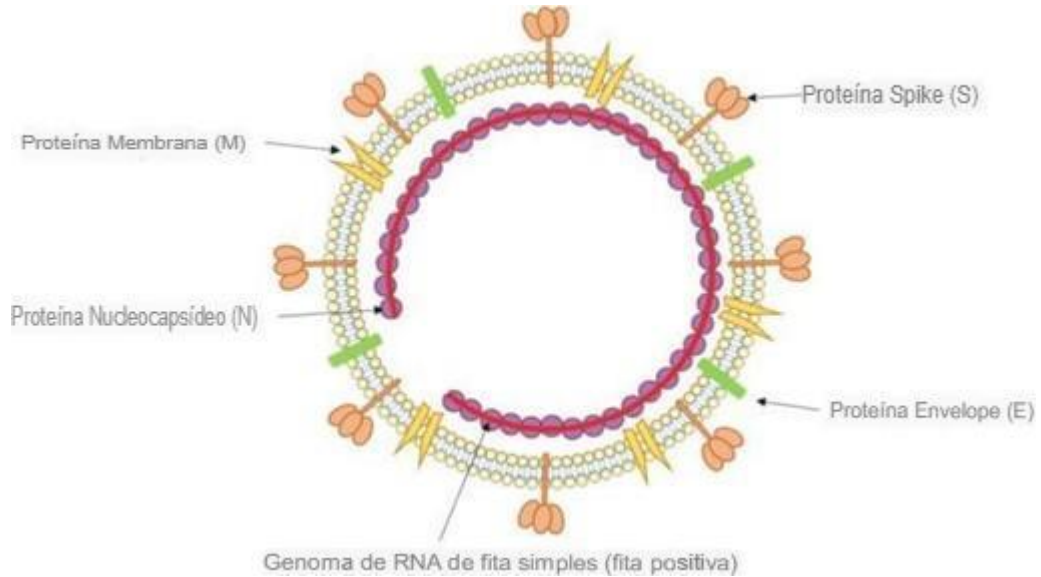
### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 SARS-CoV-2

A origem do coronavírus é zoonótica e foi descrita pela primeira vez nos anos 60 por Tyrell e Bynoe (1965). No final de 2002, surgiu um novo Beta coronavírus, no Sul da China, que acabou ocasionando em 8.000 infecções e 774 óbitos. Já em 2012, o MERS-CoV surgiu na Arábia Saudita, causando 838 óbitos e 2.428 infecções. Em novembro de 2019, oito anos mais tarde, teve início o novo surto de um vírus da linhagem dos Covs. No mês de janeiro, o hospital de Wuhan selecionou 3 pacientes que estavam com pneumonia grave para fazer extração do RNA do fluido broncoalveolar. Os testes de clonagem revelaram então a compatibilidade das linhagens do gênero Beta coronavírus. Os profissionais da saúde e pesquisadores tiveram um papel importante na busca pelo entendimento dessa doença. Nesse caso, a corrida contra o tempo foi necessária, fazendo com que o mundo todo medisse esforços para combater a disseminação e descobrir o tratamento e a imunoprevenção, por meio de vacinas (GARRIDO; GARRIDO, 2020; GRALINSKI; MENACHERY, 2020; VELAVAN; MEYER, 2020).

O vírus SARS-CoV-2 possui um tamanho que varia entre 65-125 nm de diâmetro, contém uma fita simples de ácido ribonucleico (RNA) e proteínas estruturais que codificam o vírus, sendo elas proteína spike (S), glicoproteína de membrana (M), a proteína do nucleocapsídeo (N) e a proteína envelope (E). Essas proteínas são essenciais para entrada e replicação do vírus nas células. A proteína M, é responsável pelo transporte de nutrientes e formação do envelope. Na proteína E, ocorre a montagem e liberação do vírus, sua atividade é por meio de um canal iônico e tem papel essencial na patogênese do vírus. A proteína N, é composta por dois domínios, sendo necessário para a ligação do RNA. Por fim, a proteína S, forma a estrutura localizada no pico da superfície do vírus, onde ocorre a ligação do receptor à célula hospedeira (GUGLIELMI, 2021; SHARMA *et al.*, 2021). A Figura 1 mostra a estrutura do vírus e suas proteínas de superfície.

Figura 1- estrutura do vírus e proteínas de superfície



Fonte: adaptado de SHARMA *et al.*, 2021.

### 3.1.1 Sintomatologia

Os sintomas podem variar desde casos mais leves, com pouco sintomas clínicos de forma menos agressiva, ou casos mais graves, onde a pessoa pode desenvolver uma dificuldade respiratória. Além dessas complicações, a doença pode levar à falência de outros órgãos que levam a necessidade de UTI. Nos casos sintomáticos, as pessoas podem ter em torno de 25 sintomas que demonstram o potencial de agressão do vírus SARS-CoV-2, que pode acometer vários sistemas. Algumas pessoas podem ser contaminadas e não apresentarem sintomas, sendo assim, assintomáticas. Alguns estudos feitos em relação aos sintomas dessa doença, mostraram que o segundo sintoma mais prevalente foi a tosse, variando entre a tosse seca ou persistente (CHEN *et al.*, 2020; DU *et al.*, 2020).

A faixa etária e as condições clínicas estão ligadas a variação da taxa de letalidade das pessoas que foram contaminadas. A Covid-19 pode ser transmitida através de gotículas respiratórias, mucosa nasal, conjuntiva e oral. Os sintomas presentes nesta doença se assemelham a outras doenças respiratórias (KANNAN *et al.*, 2020).

Quanto ao tempo de surgimento dos sintomas, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (Centers for Disease Control and Prevention - CDC), mostrou que os sintomas podem aparecer de 2 a 14 dias e o sintoma mais frequente foi a febre, variando entre moderada e baixa. Deve ser levado em consideração que a maior forma de propagação do

vírus é por meio das pessoas contaminadas, cuja transmissão ocorre por meio de gotículas respiratórias (CAI *et al.*, 2020; CDC, 2022; ZOU *et al.*, 2020).

Um estudo realizado por Zhang *et al.* (2020) avaliaram 140 casos sintomáticos, e seus resultados mostram que o 39,6% de sintomas eram gastrointestinais tais como náusea 17,3%; diarreia 12,9%; anorexia 12%; dor abdominal 5,8%; eructação 5,0% e vômito 5,0% (ZHANG *et al.*, 2020) Outro estudo, mostrou que alguns casos podem acometer o sistema nervoso central, variando os sintomas entre tontura (16,8%) e cefaleia (13,1%). Já os sintomas que afetam o sistema nervoso periférico, são falta de paladar (5,6%) e de olfato (5,1%) (MAO *et al.*, 2020).

Um estudo realizado no Brasil, utilizou uma amostra de 510 pacientes e analisou os sintomas apresentados. A maioria das pessoas não apresentaram manifestações clínicas graves, no entanto, diversos sintomas foram identificados, como a febre, congestão nasal, dor de garganta, cefaleia, tosse, diarreia, náuseas e produção de escarro. Apenas 18 das pessoas analisadas eram assintomáticas (TEICH *et al.*, 2020).

### **3.1.1.1 Variantes do SARS-CoV-2**

Os vírus, no geral, têm uma grande capacidade de mudar com o tempo, mudando a propriedade do vírus e a gravidade da doença, dificultando o desenvolvimento de medicamentos, vacinas e diagnóstico eficazes. Com o andamento da pandemia, a OMS (2022) criou uma rede de monitoramento para avaliar a evolução do SARS-CoV-2. A caracterização das variantes foi dividida em variantes de interesses (VOIs) e variantes de preocupação (VOCs).

As variantes ocorrem devido a deleções genéticas e são caracterizadas pelas perdas de uma porção da sequência de ácidos nucleicos ou por mutações sinômicas, que não causam alterações na síntese dos aminoácidos e por mutações não sinômicas, que codificam novos aminoácidos. Geralmente as mutações afetam a proteína Spike, que faz interação com o receptor da célula hospedeira, a enzima ACE2 (OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020).

As variantes são nomeadas com uma chave Alfanumérica, com primeiro o código da letra do aminoácido, o número da posição desse aminoácido e o código maiúsculo do novo aminoácido. Como uma forma mais fácil de classificar essas variantes, os cientistas a classificaram como letras do Alfabeto grego. As variantes VOIs são conhecidas como Zeta, E, Theta, Iota, Kappa, já as VOCs, são denominadas de Alfa, Beta, Gama, Delta e Ômicron.

As VOIs são associadas a alterações que afetam o receptor de ligação celular do vírus, reduzindo a capacidade da neutralização dos anticorpos gerados por meio de infecção natural ou pela vacinação, diminuindo assim, a eficácia de tratamentos e sem previsão de aumento de transmissibilidade ou gravidade da infecção, com prevalência limitada em alguns países. Em contrapartida, as VOCs estão associadas a maiores prevalências de transmissão, gravidade e diminuição dos anticorpos naturais, que reduzem as chances de um tratamento eficaz (CDC, 2021).

A variante Alfa teve seu primeiro caso em outubro de 2020 com o primeiro caso detectado na Europa, tendo seu pico de prevalência em março de 2021 no continente europeu. A variante Beta teve seu primeiro caso detectado na África do Sul em outubro de 2020 e foi prevalente até agosto de 2021. Essa variante não se espalhou de forma alarmante a nível global, mantendo o maior número de casos no continente da África. Já a variante Gamma, teve seu primeiro caso detectado no Brasil e no Japão, tendo seu pico de prevalência entre os meses de junho e julho de 2021. A variante Delta foi identificada pela primeira vez na Índia e teve uma infecção a nível global que começou a crescer em fevereiro de 2021 e só teve queda do pico de infecção em fevereiro de 2021. Até outubro de 2021 a Delta era prevalente em 90% dos casos, porém, atualmente, a Ômicron tornou-se a variante dominante na circulação global, tendo seus primeiros casos detectados em novembro de 2021, no entanto, em outubro de 2022 começou a apresentar sua primeira queda no Sul da América (RE3DATA.ORG, 2012; PÉREZ-ABELEDÓ; SANZ MORENO, 2021; OMS, 2021).

A variante Ômicron, foi identificada pela primeira vez na África do sul, sendo logo classificada como uma variante preocupante, pois a maioria das mutações estão ligadas à proteína Spike e 15 onde ocorre a ligação com o receptor. Diferente da Delta, apresentou menores riscos ao trato respiratório inferior, diminuindo a probabilidade de internação hospitalar. Um estudo de realizado com hamsters mostraram que a variante Ômicron teve uma capacidade reduzida de infectar os pulmões, afetando mais o trato respiratório superior em comparação com outras variantes, sendo esse um achado positivo, já que essa variante não apresenta uma forma tão agressiva quanto as variantes anteriores e causa dessa forma sintomas mais leves. No entanto, a alta transmissibilidade da Ômicron pode se dá pelas inúmeras mutações do gene que codifica a proteína spike e pela via alternativa que envolve o vírus por endossomos ligados na membrana presentes no interior das células, ajudando na maior replicação no trato superior, ocasionando dessa forma o maior contágio. Além disso, essa



variante tem capacidade de escapar da detecção por anticorpos, por conta das mutações presente na proteína (DIAMOND et al., 2021; OMS,2022; YANG et al., 2022)

Os sintomas mais prevalentes em pessoas positivas no domínio da variante Delta foram coriza, dor de cabeça e perda de olfato. Já no domínio da variante Ômicron, os sintomas mais prevalentes foram dor de cabeça e garganta, coriza, espirros e voz rouca, sendo menos propensos a terem mais de um dos sintomas clássicos de Covid-19 (febre, tosse e perda de olfato) (MENNI *et al.*, 2022). A Tabela 1 mostra a relação de cada variante com as mutações, taxa de transmissão, gravidade da doença, eficácia da vacina e genes afetados.

**Tabela 1-** Classificação e características das VOCs do Covid-19

<b>Variantes do vírus SARS-CoV-2</b>	<b>Alfa</b>	<b>Beta</b>	<b>Gama</b>	<b>Delta</b>	<b>Ômicron</b>
Linhagem Pango	B.1.1.7	B.1.351	P.1	B.1.617.2	B.1.1.529
Número de mutações na proteína spike	27 mutações 69/70Δ Y144Δ N501Y A570D P681H T716I S982A D1118H	19 Mutações L18F D80A D215G L242H‡ 242/244Δ‡ R246I K417N E484K N501Y A701V	31 Mutações L18F T20N P26S D138Y R190S K417T E484K N501Y H655Y T1072I	21 T19R 156/157Δ R158G L452R T478K P681R D950N	63 mutações A67V 69/70Δ T95I G142D 143/145Δ 211Δ 214EPEins L212I G339D S371L S373P S375F K417N N440K G446S S477N T478K E484A Q493R G496S Q498R N501Y Y505H T547K H655Y N679K P681H N764K D796Y N856K Q954H N969K L981F
Transmissibilidade	~43-90% em comparação com variantes inferiores	~23-50% em comparação com linhagens ancestrais	46% em comparação com variantes anteriores	60-70% mais transmissível que a Alfa	2,7-3,7 maior que a variante Delta

Gravidade da doença	1,5 a 1,7 maior o aumento do risco de hospitalizações, taxa de mortalidade de 30-50% maior que linhagens inferiores	2,16-3,6 vezes maior o risco de hospitalização e 1,57 vezes maior o risco de internação	1,7-2,6 maior o risco de hospitalização	2,36-2,83 vezes maior o risco de hospitalização e 133-137% maior risco de mortalidade	50-70% menor probabilidade de internação comparado com a variante Delta
Eficácia da vacina mRNA-1273 (Moderna)	73%	61%	61%	70%	44%
Eficácia da vacina BNT162b2 (Pfizer)	94%	72%	72%	88%	70%
Eficácia da vacina AZD1222 (AstraZeneca)	70%	64%	64%	60%	N/D
Genes afetados	ORF1ab, S, ORF8, N	ORF1ab, S, ORF3a, N, E	ORF1ab, S, ORF3a, ORF8, N	ORF1ab, S, ORF3a, ORF7a, N, M	ORF1ab, S, N/ORF9b, E, M
Data aproximada de detecção	Setembro 2020	Outubro 2020	Dezembro 2020	Outubro 2021	Novembro 2021

Fonte: adaptado de TEGALLY et al., 2021; “CoVariants”, 2022; MCLEAN et al., 2022.

### 3.1.3 Diagnóstico

Com a nova pandemia da Covid-19, diversos cientistas desenvolveram técnicas para a detecção do vírus, mesmo com a falta de informação das características químicas e estruturais do SARS-CoV-2, intuições de pesquisas foram capazes desenvolver rapidamente métodos confiáveis para o diagnóstico. Com a chegada do inverno torna-se muito difícil a identificação da Covid-19 pois outros vírus, como influenza A e B podem ter sintomas parecidos com o SARS-CoV-2. Como o vírus da Covid-19 é altamente transmissível, é imprescindível a utilização de técnicas de diagnóstico eficazes para o conhecimento geral de qual vírus está circulando na região (GUGLIELMI, 2021; HUANG *et al.*, 2020).

Diferentes tipos de testes vêm sendo utilizados para diagnóstico da Covid-19, incluindo testes rápidos (anticorpos e antígenos), enzimáticos imunológicos e moleculares. O método padrão-ouro de teste para Covid-19 é o RT-PCR (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa), no entanto, esse teste requer a utilização de equipamentos caros, pessoas qualificadas e o tempo maior para detecção do vírus. A RT-PCR funciona por transcrição reversa do RNA do vírus em cDNA, e é medido a carga viral por meio do Ct (limiar do ciclo). Nesse caso, menores valores de Ct indicam uma carga viral maior do vírus, enquanto maiores valores de Ct indicam menor carga viral. Para que ocorra a detecção do vírus, é necessário a utilização de primers, que são construídos a partir das regiões do genoma do SARS-CoV-2 que

codificam as proteínas S, N e E. O teste possui várias intercorrências que devem ser levadas em consideração na hora da análise, como por exemplo, impurezas, contaminação e baixa especificidade de primers (BULILETE *et al.*, 2021; PASCARELLA *et al.*, 2020; SHARMA *et al.*, 2021).

As pessoas contaminadas pelo vírus apresentam uma reação imunológica aguda, portanto, testes sorológicos apresentam uma boa opção para o diagnóstico da doença. Atualmente, esses testes foram aprovados para diagnóstico rápido e caso o teste com ácido nucleico não seja viável. Um teste desenvolvido por Zhang *et al.* (2020) *et al.*, (2020) mostrou que foi possível fazer a detecção de IgG e IgM por meio de Elisa. No teste para IgG, foi utilizado uma placa ELISA de 96 poços revestidas por NP recombinante no período da noite, soros humanos diluídos 1:20 e um anticorpo monoclonal conjugado com IgG-HRP anti-humano. Já nos testes para IgM, a placa de ELISA foi revestida durante a noite com IgM anti-humano, os soros foram diluídos em 1:100 e foi utilizado um anti-Rp3 NP-HRP conjugado.

Outro desenvolvimento importante foi feito por Li *et al.*(2020) que realizou experimentos para testagem de fluxo lateral (LFIA), fazendo a detecção de IgM e IgG de forma simultânea. Contudo, as limitações para a detecção de anticorpos são diversas, pois o desenvolvimento desses anticorpos depende do tempo de infecção. Nos estudos já feitos que analisaram os anticorpos IgM e IgG contra as proteínas spike e do nucleosídeo, mostraram que na fase aguda da infecção (IgM), o pico foi durante a segunda semana de infecção, já na fase crônica (IgG) o pico maior para detecção foi durante a terceira semana. Os testes de antígenos detectam o vírus a partir das proteínas do vírus e apresentam uma especificidade aceitável, no entanto, de acordo com a OPAS (2020), para melhorar a interpretação dos resultados, o teste confirmatório por meio da biologia molecular seria mais viável, sendo usando como critério de confirmação. Dessa forma, um resultado negativo não deve ser utilizado com critério para descarte, pois a sensibilidade do teste pode ser baixa e dessa forma, um resultado falso negativo pode ser liberado (SUN *et al.*, 2020).

Diferente do RT-PCR, esses testes não necessitam de pessoas qualificadas para ser realizado e o tempo de execução varia de 10 a 30 min dependendo da técnica e do kit comercial, além de os custos serem mais baixos (LEE *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2020).

### 3.1.2 Prevenção e tratamento

Os profissionais da saúde e pesquisadores tiveram um papel importante na busca pelo entendimento dessa doença. Nesse caso, a corrida contra o tempo foi necessária, fazendo com que o mundo todo medisse esforços para combater a disseminação e descobrir o tratamento e a imunoprevenção, por meio de vacinas (GARRIDO; GARRIDO, 2020).

O tratamento dessa doença tem sido um desafio, no entanto, alguns medicamentos como os antivirais (remdesivir, Paxlovid) e corticosteróides (dexametasona) tem sido empregado no tratamento da doença. A compreensão de marcadores da farmacogenética é imprescindível para saber qual fármaco deve ser utilizado para o tratamento, porém, as características mais complexas dessa doença e seus biomarcadores genéticos dificultam a elaboração de um tratamento eficaz. (FRICKE-GALINDO; FALFÁN-VALENCIA, 2021).

Os estudos que relacionam o tratamento com fármacos e o vírus ainda são inconclusivos, já que ensaios clínicos mostraram resultados discordantes, Há relatos de estudos realizados com pacientes em estado grave da doença, mas não críticos, que uso de remdesivir mostrou melhora clínica em pessoas que receberam o medicamento de forma precoce na diminuição nos dias de internação, além de diminuir o risco de morte e o uso de ventilação mecânica (BEIGEL et al., 2020; LAI et al., 2021; GARCÍA-LLEDÓ et al., 2022, p. 19; GARCIA-VIDAL et al., 2021; PARANJAPE et al., 2021).

O Paxlovid é um medicamento criado pela Pfizer, sendo um inibidor de protease (Mpro) do vírus SARS-CoV-2 e é potencializado com ritonavir, tendo como objetivo diminuir os riscos de hospitalizações e morte em 90% de pessoas com estado leve e moderado da doença. A interação do Paxlovid com o ritonavir reduz o risco das hospitalizações, mostrando resultados positivos, no entanto, não significativos (“Pfizer’s, 2021; ZHAO et al., 2022).

Outro fármaco que vem sendo utilizado para o tratamento e prevenção da doença é a dexametasona, sendo utilizada em pacientes que necessitam de oxigênio ou de ventilação mecânica. O uso desse fármaco se restringiu apenas em casos de tratamento de pacientes em estado grave e criticamente doentes. Estudos realizados mostraram uma redução na mortalidade em pacientes que estavam com ventilação mecânica, no entanto, não foi eficaz em pacientes que estavam sem. O papel desse medicamento está bem estabelecido para pacientes com Covid-19 grave, não havendo indicação para quadros menos graves (THE RECOVERY COLLABORATIVE GROUP, 2020; GARCÍA-LLEDÓ et al., 2022; JERONIMO et al., 2020).

Além dos citados, outros medicamentos como hidroxicloroquina/cloroquina, azitromicina e lopinavir/ritonavir, foram amplamente utilizados no tratamento precoce da doença, porém com o apoio de estudos com grandes populações, foram descartados por não mostraram benefícios. Sendo dessa forma, os antivirais como remdesivir e Paxlovid os que mostraram maior eficácia nos ensaios clínicos (GARCÍA-LLEDÓ et al., 2022).

Segundo a OMS (2020), a produção de vacinas contra o vírus SARS-CoV-2 é uma forma importante de desaceleração da Covid-19. Até o dia 27 de outubro de 2021, mais de 100 vacinas foram desenvolvidas e 26 foram avaliadas em ensaios clínicos na fase III. Com isso, a administração de vacinas se tornou prioridade para vários países, no entanto, a dificuldade de atualização sobre vacinas da Covid-19 tem sido um desafio, já que a velocidade de produção científica está cada vez mais rápida (FIOLET *et al.*, 2022).

As vacinas contra a Covid-19 têm mostrado uma eficácia alta, porém não absoluta, uma vez que o vírus tem uma alta capacidade de mutação e as novas variantes podem fazer com que a eficácia dessas vacinas seja limitada. Diante desse cenário, se torna necessário uma atenção maior para o tratamento terapêutico, que pode trazer uma alternativa para os pacientes (GARCÍA-LLEDÓ et al., 2022)

Os tipos de vacinas para Covid-19 se dividem em vacinas de RNA mensageiro (mRNA), vacinas de vetores virais e vacinas inativas e de subunidades proteicas. A vacina, baseada em mRNA, contém o antígeno de interesse da célula e é traduzido na proteína spike, induzindo a resposta imune. Por outro lado, os vetores são sistemas que contêm ácido nucléico que é capaz de codificar o antígeno. Já as vacinas inativadas, são baseadas em vírus anteriores que não podem mais infectar a célula e se replicar. As vacinas de subunidade proteicas são realizadas a partir de fragmentos de polissacarídeos ou proteínas, um exemplo muito conhecido dessa vacina é a Coronavac (FIOLET *et al.*, 2022).

A eficácia dessas vacinas, se mostram positivas em diversos estudos, sendo eles tanto na infecção sintomática quanto pela infecção assintomática. Na forma sintomática, a vacina de mRNA mensageiro, mostrou resultados contra a variante Alfa foi de 88-100%, na variante Beta e Gama a eficácia foi de 76-100% e contra a Delta, mostrou uma eficácia de 47,3%-88%. Na imunização por meio de vetores virais, a eficácia da vacina foi de 74,5% contra Alfa e 67% contra a Delta. Por fim, as vacinas inativadas, mostraram eficácia de 36,8-73,8% nas variantes Alfa e Gama, já para variantes Deltas a imunização por meio da Coronavac não apresentou muita eficácia, no entanto, a proteção contra a Covid-19 grave e hospitalizações ainda se notou

reduzida. Nos casos de infecções assintomáticas, a eficácia das vacinas de mRNA foi de 89,5-99,2% para a variante Alfa, 75-964% contra a variante Beta e 84,4% contra a variante Delta (ABU-RADDAD; CHEMAITELLY; BUTT, 2021; CHARMET *et al.*, 2021; CHODICK *et al.*, 2021; HAAS *et al.*, 2021; KEEHNER *et al.*, 2021; SHEIKH *et al.*, 2021).

É válido ressaltar que vários estudos que trazem a duração da eficácia das vacinas, mostraram que anticorpos podem durar até 6 meses no organismo. Em um estudo realizado por Pegu *et al.* (2021) mostrou que a neutralização do vírus foi mantida 6 meses nas variantes Alfa, Delta e Gama, no entanto, a atividade neutralizante foi menor na variante Beta (DORIA-ROSE *et al.*, 2021; NAABER *et al.*, 2021).

### **3.2 Epidemiologia do Covid-19**

A disseminação do vírus ocorreu de forma muito rápida, iniciando no final de 2019 na cidade de Wuhan na China e tendo o seu primeiro caso exportado para a Tailândia em janeiro de 2020. No mês de fevereiro de 2020, já haviam sido notificados 28.276 casos confirmados e 565 óbitos. Com a rápida disseminação, a OMS declarou no dia 11 de março de 2020 uma pandemia global. De acordo com Our World In Data (2022) até o dia 10 de novembro de 2022 haviam sido notificados 633.697.692 casos e 6.604.771 óbitos no mundo todo (OMS, 2020).

Em um estudo realizado na Itália no início da pandemia, verificou-se que 23% da população tinha 65 anos ou mais, dando ênfase em quadros letais para pacientes mais velhos. Ainda observaram que pacientes homens e com múltiplas comorbidades morriam com maior frequência). A taxa de mortalidade dessa doença varia de acordo com cada paciente, estima-se que ocorra entre 1 e 3% de pacientes sintomáticos, sendo aumentada significativamente em adultos com mais de 60 anos e com comorbidades preexistentes (DAVENNE; GIOT; HUYNEN, 2020; ONDER; REZZA; BRUSAFERRO, 2020).

O primeiro caso no Brasil, foi registrado em fevereiro de 2020, sendo também o primeiro caso da América latina. No mês de maio de 2020, o Brasil era o segundo país mais afetado pela doença, ultrapassando a Rússia e ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Até o dia 15 de junho de 2022, o Brasil já havia notificado 24.343.304 casos de Covid-19 e 594.200 óbitos. A região com maior número de casos foi a sudeste, onde o estado de São Paulo apresentou 4.360.548 casos acumulados. Atualmente, o Brasil possui 34.855.492 casos acumulados e 688.395 óbitos registrados por Covid-19. Ainda no país, no mês de outubro de 2022, pode-se observar em um aumento no crescimento de novos casos nos estados de Minas Gerais (MG),

Espirito Santo (ES), Sergipe (SE), Amapá (AP) e Acre (AC), em contrapartida nove dos estados do Brasil estão com índices positivos de redução e doze em manutenção (BRASIL,2022; WU *et al.*, 2020; FIOCRUZ, 2022).

No Rio Grande do Sul, o primeiro caso de Covid-19 surgiu em fevereiro de 2020. Atualmente, o Rio Grande do Sul apresenta 2.748.115 casos acumulados e 41. 204 óbitos notificados causados por Covid-19, onde o maior pico de infecção pela doença foi em janeiro de 2022 e o maior pico de óbitos em março de 2021. Ainda, a maior prevalência de infecção pela doença foi em pessoas com a faixa etária de 30-39 anos e o maior número de óbitos em pessoas com idade de 70-79 anos. O sexo feminino mostrou maior casos de infecções, correspondendo a 54% e o sexo masculino 46%. Ainda no estado do RS, os sintomas mais prevalentes apresentados foram de dor de garganta (40%), tosse (49%) e febre (34%), sendo Porto Alegre a cidade com maior número de casos, correspondendo a 303.323 pessoas infectadas (RIO GRANDE DO SUL, 2022; FIOCRUZ,2022).

Uma das formas para diminuir a disseminação e a gravidade da doença, foi a vacinação em massa no mundo todo. De acordo com o relatório de vacinação da FIOCRUZ (2022), atualmente, 181.962.650 pessoas estão com a primeira dose da vacina, correspondendo a 85,3% da população vacinada. A segunda dose da vacina ou dose única foi aplicada em 80,79% da população do Brasil. Já a terceira dose, foi aplicada em 55,7% das pessoas, onde o maior pico da vacinação foi em janeiro de 2022. (“MonitoraCovid-19”, 2022).

### **3.3 Telômeros**

O organismo vivo depende da capacidade das células de interpretar, traduzir e transmitir informações genéticas de células mães para células-filhas durante cada processo de divisão celular. No final do século XIX, foi descoberto que os responsáveis por levar essa informação genética são os cromossomos e que tal estrutura possui ácido desoxirribonucleico (DNA) e proteínas. Ao longo dos anos, cientistas passaram a estudar mais sobre DNA e descobriram que cada molécula desse componente possuía duas longas cadeias peptídicas composta por quatro unidades nucleotídicas (ALBERTS, 2010).

Como já mencionado anteriormente, os telômeros são estruturas localizadas na extremidade cromossômica e tem como objetivo ajudar a manter a estabilidade e protegem a células contra o desgaste que ocorre a cada replicação do DNA. Eles são estruturas presentes no DNA e são ligados por proteínas chamadas de shelterins. Estudos feitos com os telômeros

ao longo do ano, mostraram que a cada divisão celular, eles tendem a diminuir o seu comprimento, isso ocorre especialmente nas células somáticas. Já nas células germinativas a manutenção dos telômeros é realizada por uma enzima chamada de telomerase, cuja sua função é preservar o comprimento dos telômeros, adicionando repetições teloméricas (KAHL; SILVA, 2016; LAMPROKOSTOPOULOU *et al.*, 2019).

Em algumas células, este encurtamento pode ser neutralizado pela enzima telomerase, que é fundamental para a senescência celular. A acessibilidade entre a enzima telomerase e os telômeros pode ser regularizada pela proteína shelterin, que protege o telômeros e ajuda na formação da sua estrutura. No entanto, quando o encurtamento chega em níveis críticos, a proteína que forma o complexo de shelterin não é mais capaz de se associar a uma sequência telomérica, e conseqüentemente perde sua função (SARETZKI, 2018; TURNER; VASU; GRIFFIN, 2019).

As mulheres possuem telômeros mais longos que os homens, no entanto, o estilo de vida pode influenciar no processo de encurtamento dessa estrutura (CALADO; YOUNG, 2009). Os biomarcadores utilizados para fazer a medição do comprimento dos telômeros incluem a atividade da telomerase, proteínas shelterin, o RNA com a repetição telomérica, medidas mitocondriais, os marcadores de estresse oxidativo, entre outros (CALADO; YOUNG, 2009; NIEHS., NIA 2017).

Existem fatores que influenciam no comprimento dos telômeros, causando seu encurtamento. Esses fatores podem estar relacionados com hábitos de vida, envelhecimento, estresse psicológico, oxidativo e as múltiplas doenças, tais como doenças cardíacas, infecciosas e doenças relacionadas à idade (KAHL; SILVA, 2016).

### **3.4 Covid-19 e os telômeros**

Alguns fatores imunológicos que envelhecem o sistema estão ligados ao processo de contaminação pelo vírus SARS-CoV-2 e correlacionando com o fato de dados epidemiológicos apresentarem maior letalidade nos idosos. Mongelli *et al.* (2021) mostraram que pacientes pós-covid, que tiveram desde sintomas leves a quadros mais graves, sofreram níveis de metilação do DNA que são associados a idade biológica (BARBOSA *et al.*, 2021; MONGELLI *et al.*, 2021).



A Covid-19 em casos de linfopenia de células T apresentou resposta imune inata desregulada, ocasionando lesão pulmonar grave por conta da hiperinflamação. Ainda, os telômeros de células hematopoiéticas curtos estão associados a casos de fibrose pulmonar sendo correlacionada com os telômeros de células T curtos. Essas relações explicam o fato de a infecção pelo SARS-CoV-2 em pessoas com os telômeros mais curtos ter uma ameaça maior e pode levar a casos letais em pessoas mais velhas com os telômeros menores). A linfopenia de células T em casos de Covid-19 é pouco compreendida, porém é necessário que ocorra uma expansão clonal dessas células na resposta para a infecção pelo vírus, pois é muito importante a formação de células T de memória específica do antígeno de SARS-CoV-2 para a eliminação dele (AVIV, 2021; MCGRODER *et al.*, 2021; SETTE; CROTTY, 2021).

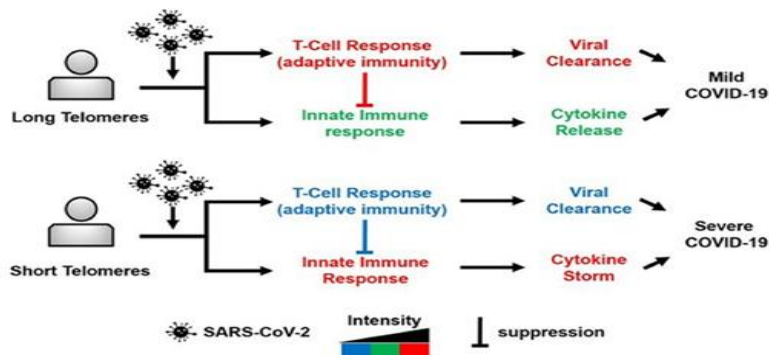
Existe uma relação entre o Covid-19 e os telômeros que é definido por limite de comprimento, onde o tamanho dessa estrutura implica na severidade da doença. Quando o limite é ultrapassado, sendo mais agravado dependendo da idade do indivíduo, o telômero se torna um amplificador de sintomas na Covid. Os sintomas mais graves de Covid-19 estão relacionados com a diminuição dos telômeros, apresentando febre, tosse, fadiga e falta de ar. Os casos mais severos de Covid-19, podem evoluir para uma pneumonia, problemas cardiovasculares e renais, acidente vascular cerebral (AVC) ou até mesmo, levar à morte do indivíduo. A doença está associada a maiores complicações em idosos, podendo levar a pessoa a ter depressão, ansiedade, insônia, entre outros problemas relacionados ao emocional (AVIV, 2021; CRUZ *et al.*, 2022; TSILINGIRIS *et al.*, 2020).

Uma senescência na proporção das células T, pode dificultar a resposta para inflamações e a funcionalidade dessas células. Os telômeros encurtados estão relacionados com resultados mais graves de várias infecções, sendo que ele pode estar menor independente dos fatores de risco de Covid-19. Os telômeros curtos em células T limitam uma resposta imune adaptativa contra o vírus SARS-CoV-2, mesmo que não ocorra a manifestação de linfopenia (AVIV, 2021; WANG *et al.*, 2021).

A Figura 2 mostra a relação do comprimento dos telômeros e a sua relação com a resposta imunológica. Pode-se observar que indivíduos com telômeros de células T longos, a resposta representada pela cor vermelha denota forte atividade de células T e supressão robusta da resposta imune inata. A cor verde denota atividade “calibrada” (moderada) da resposta imune inata. Para o indivíduo com telômeros de células T curtos, a cor azul denota resposta fraca das células T e supressão inadequada da resposta imune inata. A cor vermelha denota atividade mal

"calibrada" (forte) da resposta imune inata, expressa em tempestade de citocinas, lesão pulmonar e COVID-19 grave (AVIV, 2021).

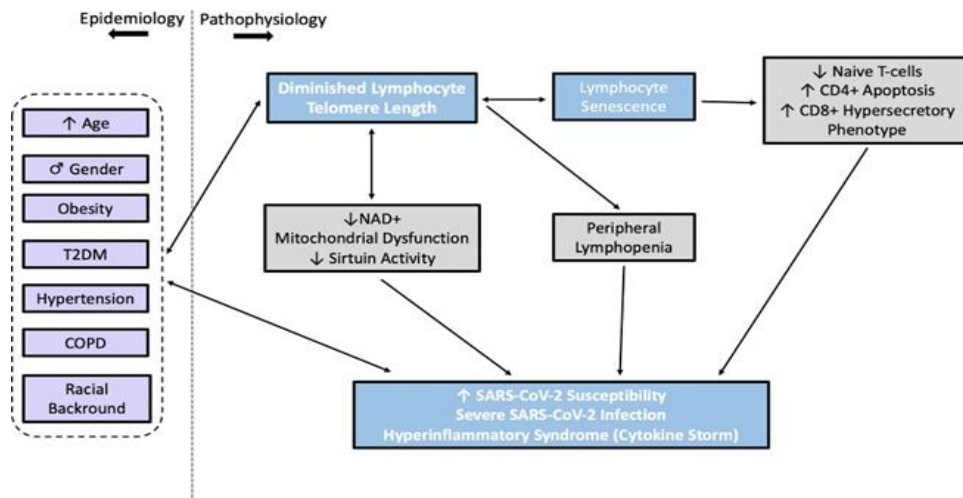
**Figura 2:** Efeito do comprimento dos telômeros de linfócitos T sobre a resposta imune inata e adaptativa.



Fonte: AVIV (2021).

O estudo de Tsilingiris *et al.* (2020) mostrou que os indivíduos com os telômeros mais curtos poderiam ter infecção mais grave pelo vírus (Figura 3). Além disso, uma desregulação imune complexa que acelera o processo de senescência das células imunes está associada aos telômeros curtos, que levam ao aumento da infecção e a casos de pneumonia ocasionadas pelo SARS-CoV-2. Essas evidências explicam os aspectos epidemiológicos relacionados com o vírus, por conta da sua relação com a idade e a gravidade da doença. Na figura abaixo é demonstrado os aspectos epidemiológicos e fisiopatológicos da relação proposta entre a diminuição do comprimento dos telômeros de linfócitos e doença coronavírus grave de 2019. Siglas: DM2: diabetes mellitus tipo 2; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; NAD<sup>+</sup>:dinucleótido de nicotinamida adenina; SARS-CoV-2: síndrome respiratória aguda coronavírus 2.

**Figura 3:** Aspectos epidemiológicos e fisiopatológicos da relação entre os telômeros de linfócitos o Covid-19.



Fonte: TSILINGIRIS *et al.* (2020).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 DESENHO DO ESTUDO E AMOSTRA**

O presente trabalho se caracteriza como um estudo observacional e transversal. Para realizar o estudo transversal, deve-se ter um delineamento da exposição que precede ou tenha consequência de um determinado efeito. Os impactos obtidos através dos estudos transversais são úteis para avaliar as necessidades em saúde da população (BONITA *et al.*, 2006). A coleta das amostras e os dados dos pacientes utilizados nesta pesquisa foram realizadas em estudo prévio denominado “CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM COVID-19 EM UMA REGIÃO DO SUL DO BRASIL”. O recrutamento dos participantes da pesquisa ocorreu por meio de divulgações pela internet, rádio, jornal e cartazes pela Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) e também do hospital Santa Cruz (HSC). O segundo grupo foi composto de indivíduos voluntários que tiveram sintomas mais graves e faziam parte do Programa de Reabilitação Cardiorrespiratória do HSC.

#### **4.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Os indivíduos incluídos na pesquisa tinham idade maior que 18 anos e tiveram diagnóstico de Covid-19 entre fevereiro de 2020 e novembro de 2021. Todos residiam no município de Santa Cruz do Sul. Além disso, alguns participantes faziam parte do programa de Reabilitação Cardiorrespiratória do HSC.

#### **4.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

Conforme mencionado acima a coleta de dados ocorreu no segundo semestre de 2021, e os critérios para a exclusão dos sujeitos foram aqueles que tiveram problemas na amostra, como por exemplo má coleta e armazenamento inadequado. Além disso, foram excluídos do estudo aqueles que não foi possível realizar a mensuração dos telômeros, pela qualidade dos procedimentos moleculares.

### **4.1.3 VARIÁVEIS**

#### **4.1.3.1 VARIÁVEIS DEPENDENTES**

- Comprimento dos telômeros: variável dependente medida através da comparação entre os telômeros e um normalizador, onde são realizadas triplicatas para ser feita a média dos valores de CT.

#### **4.1.3.2 VARIÁVEIS INDEPENDENTES**

- Tabagismo: Referente à prática de fumar autorreferida através do questionário (anexo B) realizado no estudo “CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM COVID-19 EM UMA REGIÃO DO SUL DO BRASIL”, realizada uma análise qualitativa dicotômica (sim ou não);

- Internação: Referente ao número de dias de internação devido à Covid-19 autorreferidos pelo indivíduo. Variável qualitativa dicotômica (sim ou não) e quantitativa contínua (se sim, quantos dias);

- Sintomas: Referente aos sintomas apresentados no momento da coleta e diagnóstico autorreferido pelo indivíduo através do questionário (anexo B), análise qualitativa nominal (ex.: tosse, coriza, febre, cefaleia, dificuldade respiratória);

- Gravidade dos sintomas: Referente a gravidade de sintomas apresentados pelos participantes;

- Sexo: Referente ao sexo do participante respondido no questionário;

- Idade: Referente a idade dos participantes.

#### **4.1.3.3 VARIÁVEIS CONFUNDIDAS**

- Idade: obtidos através do questionário (anexo B), análises quantitativas contínua (anos completos) e qualitativa nominal (0-20, 21-40, 41-60, > 60);

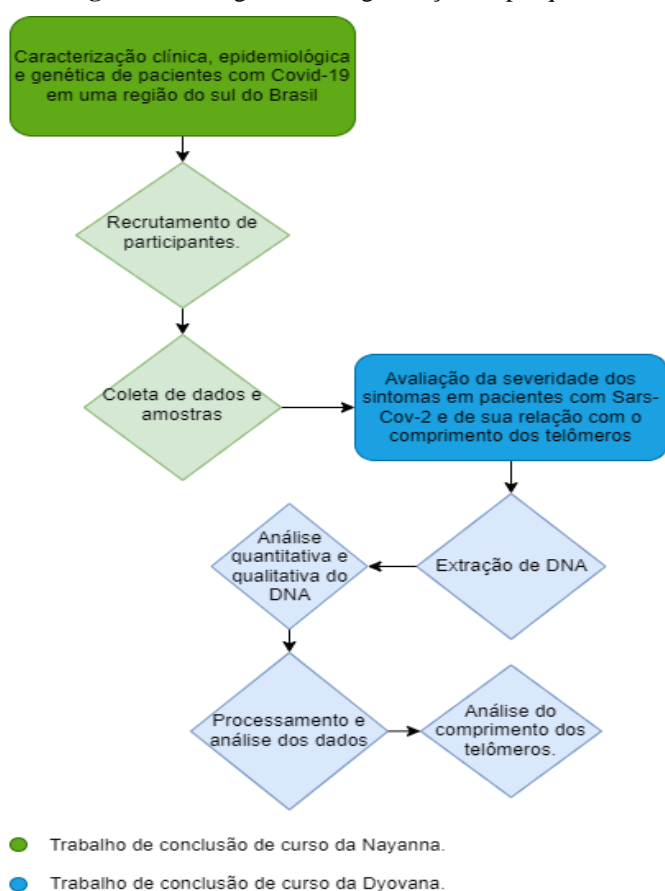
- Sexo: Masculino ou feminino, análise qualitativa dicotômica (masculino ou feminino);

- Presença de comorbidades e/ou doenças crônicas: Presença ou ausência de comorbidade, análise qualitativa dicotômica (sim ou não) e qualitativa nominal (ex.: hipertensão arterial, cardiopatia, DPOC).

## 4.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O presente estudo utilizou os dados e amostras biológicas de uma pesquisa anterior denominada “CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM COVID-19 EM UMA REGIÃO DO SUL DO BRASIL”, conduzida pelas pesquisadoras Nayanna Dias Bierhals, Lia Gonçalves Possuelo e Jane Dagmar Pollo Renner, aprovada pelo CEP com parecer nº 4.582.247 e CAAE: 41705121.4.0000.5343. A data das coletas teve início de fevereiro de 2020 e foi finalizada em novembro de 2021.

Figura 4- fluxograma de organização da pesquisa



## 4.3 COLETA DE DADOS/MENSURAÇÕES CLÍNICAS

### 5.3.1 Coleta das amostras biológicas

As coletas foram realizadas por profissionais capacitados, onde foram retirados 5 mL de sangue total em um tubo com EDTA (*thylenediamine tetraacetic acid*). As amostras foram destinadas ao Centro de Excelência em Produtos e Processos Oleoquímicos e Biotecnológicos – CEPPOB, Unidade do Parque Científico e Tecnológico da Universidade de Santa Cruz do

Sul, que está localizado na Universidade de Santa Cruz do Sul, no bloco 55. As amostras foram armazenadas em alíquotas de 500  $\mu$ L em criotubos de 1,5 mL na temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.3.2 Aplicação do questionário**

No questionário do projeto já executado (anexo B), foram identificados os sintomas dos indivíduos, se ocorreu internação hospitalar e se foi na ala do Covid-19 ou na UTI. Dessa forma a categorização por severidade da doença será baseada nos sintomas e no tipo de internação hospitalar. Todos os participantes que responderam ao questionário serão incluídos na pesquisa atual. Será utilizado o banco de dados já existente e então realizadas as análises de acordo com a classificação dada pela acadêmica da presente pesquisa.

#### **4.3.3 Extração de DNA**

Para a extração de DNA foi utilizado o método *Salting Out* (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988) com adaptações. Foi utilizado 500  $\mu$ L de sangue total em microtubo de 1,5 mL estéril. Esse método consiste em romper as membranas das células por meio da ação de lises. Inicialmente adiciona-se 700  $\mu$ L de lise celular gelada (1M de  $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ , XX M de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) que são homogeneizadas em vórtex e após isso centrifugadas por 3 minutos a 13000 rpm, essa etapa é repetida no mínimo 3 vezes, até a amostra estar em uma coloração branco-rosa. Após isso, é adicionada no tubo 350  $\mu$ L de solução de lise nuclear (1M  $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ , 0,5M de EDTA e 5M de NaCl) e 50  $\mu$ L Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) a 10% e novamente misturadas em vórtex fazendo a liberação do DNA. Depois adicionou-se 20  $\mu$ L de uma enzima chamada de proteinase K na concentração de 20 mg/mL e serão incubadas por 1h a  $65^{\circ}\text{C}$ . As amostras são retiradas do banho e então adicionado 175  $\mu$ L de NaCl a 5,3M e agitadas manualmente e centrifugadas na velocidade máxima por 10 minutos. Ao final dessa etapa, o sobrenadante foi retirado e colocado em um novo microtubo e então adicionado 1mL de etanol absoluto gelado, o tubo foi invertido para que ocorresse a precipitação do DNA e então, centrifugada novamente. As amostras foram retiradas da centrífuga e o sobrenadante foi descartado. Após foi adicionado etanol 70% e centrifugado novamente nas mesmas condições. Por fim, é retirado todo excesso de álcool e adicionado água ultrapura para fazer a diluição e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.3.4 Análise quantitativa e qualitativa do DNA**

A concentração do DNA foi obtida através de espectrofotometria pelo equipamento Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, EUA). Além disso, a qualidade do DNA foi analisada por meio de um gel de agarose 1% corado com brometo de etídio e visualizado em luz ultravioleta no transiluminador L-pix Image EX (Loccus Biotecnologia, Brasil).

#### **4.3.5 Análise do comprimento dos telômeros**

O comprimento dos telômeros foi medido utilizando a técnica de qPCR, com o instrumento Step One Plus (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Conforme descrito por Cawthon et al. (2009), essa técnica permite a amplificação da sequência de telômeros (T) e um gene de cópia única, designado como normalizador (Ribosomal Protein Large PO-RPLO). Para realizar esse procedimento, foi utilizada uma placa de 96 poços, sendo adicionada em cada poço, os primers, DNA genômico e o Sybr Green PCR, totalizando um volume de 10 µL no final. Ainda, foram utilizados quatro primers, com as seguintes sequências: GGT TTT TGA GGG TGA GGG TGA GGG TGA GGG T (tel 1), TCC CGA CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA (tel 2), CCC ATT CTA TCA TCA ACG GGT ACA A (Hrplp1) e CAG CAA GTG GGA AGG TGT AAT CC (Hrplp2). A razão utilizada de telômero para S (T/S) foi normalizada com a seguinte fórmula:  $[2^{-\Delta CT}(\text{telômeros}) / 2^{-\Delta CT}(\text{gene de cópia única})] = 2^{-\Delta \Delta CT}$ . Para cada placa terá uma curva padrão de uma amostra de referência de DNA com concentrações de 64ng; 32 ng; 16ng; 8ng; 4ng; 2ng; 1ng; 0,5 ng e 0,25 ng.

Essa curva foi incluída como padrão para controlar a variabilidade entre as placas e o valor aceito aproximadamente foi de  $R^2 > 0,98$ . Para melhores resultados e controle de qualidade, foram realizadas triplicatas de cada amostra e analisadas de acordo com a concordância entre os valores.

#### **4.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS**

Os dados coletados foram analisados por média das amostras e desvio padrão e colocados em planilhas. Logo após foram passados para o software de estatística *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23.0 (IBM®, Chicago, IL, USA). No programa foi analisada a frequência em porcentagem (%) com avaliação por meio do teste Qui-quadrado com valor de significância de  $p < 0,05$ .



## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O presente estudo está em período de embargo e por essa razão os resultados não constam nessa versão.

## **6 CONCLUSÃO**

No presente estudo, foi possível observar diversas relações de características clínicas e o comprimento dos telômeros. Esse estudo buscou corroborar com pesquisas que avaliam o comprimento dos telômeros e suas complicações com a Covid-19, além disso, é necessário mais estudo para que esse assunto possa ser melhor explorado e validado.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABU-RADDAD, L. J.; CHEMAITELLY, H.; BUTT, A. A. Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants. **The New England Journal of Medicine**, 2021.
- ANDUJAR, P. et al. Smoking, telomere length and lung function decline: a longitudinal population-based study. **Thorax**, v. 73, n. 3, p. 283–285, 1 mar. 2018.
- ARMANIOS, M.; BLACKBURN, E. H. The telomere syndromes. **Nature reviews. Genetics**, v. 13, n. 10, p. 693, out. 2012.
- ALBERTS, B. *Biologia Molecular da Célula*. p. 1464, [s.d.].
- AVIV, A. Short telomeres and severe COVID-19: The connection conundrum. **eBioMedicine**, v. 70, 1 ago. 2021.
- BARBOSA, E. L. *et al.* IMMUNE AGING AND SERIOUS CLINICAL IMPLICATIONS IN THE ELDERLY IN COVID-19. **RECISATEC - REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA - ISSN 2763-8405**, v. 1, n. 5, p. e1553, 27 dez. 2021.
- Bonita R, Beaglehole R, Kjellstrom T. **Epidemiologia Básica**. 2ª ed. São Paulo: Grupo Editorial Nacional; 2010
- BEIGEL, J. H. et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 19, p. 1813–1826, 5 nov. 2020.
- BULILETE, O. *et al.* Panbio™ rapid antigen test for SARS-CoV-2 has acceptable accuracy in symptomatic patients in primary health care. **The Journal of Infection**, v. 82, n. 3, p. 391–398, mar. 2021.
- BEIGEL, J. H. et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 19, p. 1813–1826, 5 nov. 2020.
- BHUPATIRAJU, C. et al. Association of shorter telomere length with essential hypertension in Indian population. **American Journal of Human Biology**, v. 24, n. 4, p. 573–578, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Coronavírus 15 de junho de 2022.
- BIXBY, L. R. et al. Correlates of longitudinal leukocyte telomere length in the Costa Rican Longevity Study of Healthy Aging (CRELES): On the importance of DNA collection and storage procedures - PMC. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6788698/>>. Acesso em: 22 nov. 2022.
- BROUILLETTE, S. et al. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, n. 5, p. 842–846, 1 maio 2003.
- CAI, J. et al. Indirect Virus Transmission in Cluster of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 6, p. 1343–1345, jun. 2020.
- CAS, A. D. et al. Lower endothelial progenitor cell number, family history of cardiovascular disease and reduced HDL-cholesterol levels are associated with shorter leukocyte telomere length in healthy young adults. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 23, n. 3, p. 272–278, 1 mar. 2013.

CALADO, R. T.; YOUNG, N. S. Telomere Diseases. *The New England Journal of Medicine*, v. 361, n. 24, p. 2353–2365, 10 dez. 2009.

CDC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) – Symptoms. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>>. Acesso em: 6 jun. 2022.

CHENG, F. et al. Diabetes, metabolic disease, and telomere length. ***The Lancet Diabetes & Endocrinology***, v. 9, n. 2, p. 117–126, 1 fev. 2021.

CHARMET, T. et al. Impact of original, B.1.1.7, and B.1.351/P.1 SARS-CoV-2 lineages on vaccine effectiveness of two doses of COVID-19 mRNA vaccines: Results from a nationwide case-control study in France. *The Lancet Regional Health - Europe*, v. 8, p. 100171, 13 jul. 2021.

CHEN, N. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, v. 395, n. 10223, p. 507–513, 15 fev. 2020.

CHODICK, G. et al. The effectiveness of the TWO-DOSE BNT162b2 vaccine: analysis of real-world data. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, p. ciab438, 17 maio 2021.

**CoVariants**. Disponível em: <<https://covariants.org/>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

DAVENNE, E.; GIOT, J. B.; HUYNEN, P. [Coronavirus and COVID-19 : focus on a galloping pandemic]. *Revue Medicale De Liege*, v. 75, n. 4, p. 218–225, abr. 2020.

DIAMOND, M. et al. The SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus causes attenuated infection and disease in mice and hamsters. Disponível em: <<https://www.researchsquare.com>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

DORIA-ROSE, N. et al. Antibody Persistence through 6 Months after the Second Dose of mRNA-1273 Vaccine for Covid-19. *The New England journal of medicine*, v. 384, n. 23, p. 2259–2261, 10 jun. 2021.

DU, W. et al. Clinical characteristics of COVID-19 in children compared with adults in Shandong Province, China. *Infection*, v. 48, n. 3, p. 445–452, jun. 2020.

DHAMA, K. et al. COVID-19 in the elderly people and advances in vaccination approaches. ***Human Vaccines & Immunotherapeutics***, v. 16, n. 12, p. 2938–2943, [s.d.].

DOS SANTOS, G. A. et al. Shorter leukocyte telomere length is associated with severity of COVID-19 infection. ***Biochemistry and Biophysics Reports***, v. 27, p. 101056, 14 jun. 2021.

FRICKE-GALINDO, I.; FALFÁN-VALENCIA, R. Pharmacogenetics Approach for the Improvement of COVID-19 Treatment. ***Viruses***, v. 13, n. 3, p. 413, mar. 2021.

FIOLET, T. et al. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 28, n. 2, p. 202, fev. 2022.

GARRIDO, R. G.; GARRIDO, F. DE S. R. G. COVID-19: UM PANORAMA COM ÊNFASE EM MEDIDAS RESTRITIVAS DE CONTATO INTERPESSOAL. *Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente*, v. 8, n. 2, p. 127–141, 16 abr. 2020.

GAO, Y. et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. **Allergy**, v. 76, n. 2, p. 428–455, 2021.

GARCÍA-LLEDÓ, A. et al. Pharmacological treatment of COVID-19: an opinion paper. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 35, n. 2, p. 115–130, 2022.

GARCIA-VIDAL, C. et al. Impact of remdesivir according to the pre-admission symptom duration in patients with COVID-19. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkab321, 2 set. 2021.

GARDNER, M. et al. Gender and telomere length: Systematic review and meta-analysis. **Experimental gerontology**, v. 51, p. 15–27, mar. 2014.

GRALINSKI, L. E.; MENACHERY, V. D. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. **Viruses**, v. 12, n. 2, p. 135, fev. 2020.

GUGLIELMI, G. Rapid coronavirus tests: a guide for the perplexed. **Nature**, v. 590, n. 7845, p. 202–205, 9 fev. 2021.

HAGMAN, M. et al. Reduced telomere shortening in lifelong trained male football players compared to age-matched inactive controls. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 63, n. 6, HAAS, E. J. et al. Impact and effectiveness of mRNA BNT162b2 vaccine against SARS-CoV-2 infections and COVID-19 cases, hospitalisations, and deaths following a nationwide vaccination campaign in Israel: an observational study using national surveillance data. **Lancet (London, England)**, v. 397, n. 10287, p. 1819–1829, 2021.

HUANG, P. et al. Use of Chest CT in Combination with Negative RT-PCR Assay for the 2019 Novel Coronavirus but High Clinical Suspicion. **Radiology**, p. 200330, 12 fev. 2020. p. 738–749, 1 nov. 2020.

KAHL, V. F. S.; SILVA, J. DA. **Telomere Length and Its Relation to Human Health**. [s.l.] IntechOpen, 2016.

KANNAN, S. et al. COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) - recent trends. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 24, n. 4, p. 2006–2011, fev. 2020.

KEEHNER, J. et al. Resurgence of SARS-CoV-2 Infection in a Highly Vaccinated Health System Workforce. **The New England Journal of Medicine**, p. NEJMc2112981, 1 set. 2021.

JERONIMO, C. M. P. et al. Methylprednisolone as Adjunctive Therapy for Patients Hospitalized With COVID-19 (Metcovid): A Randomised, Double-Blind, Phase IIb, Placebo-Controlled Trial. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Di**

LAI, C. C et al. **Clinical efficacy and safety of remdesivir in patients with COVID-19: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials | Journal of Antimicrobial Chemotherapy | Oxford Academic**. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article/76/8/1962/6184581>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

LAMPROKOSTOPOULOU, A. et al. **Childhood obesity and leucocyte telomere length**. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 49, n. 12, p. e13178, dez. 2019.

LEE, J.-H. et al. A novel rapid detection for SARS-CoV-2 spike 1 antigens using human angiotensin converting enzyme 2 (ACE2). **Biosensors & Bioelectronics**, v. 171, p. 112715, 1 jan. 2021. seases Society of America, p. ciaa1177, 12 ago. 2020.

LÓPEZ-OTÍN, C. et al. The Hallmarks of Aging. **Cell**, v. 153, n. 6, p. 1194–1217, 6 jun. 2013.

LULKIEWICZ, M. et al. Telomere length: how the length makes a difference. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 9, p. 7181–7188, 2020.

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

MCGRODER, C. F. et al. Pulmonary fibrosis 4 months after COVID-19 is associated with severity of illness and blood leucocyte telomere length. **Thorax**, v. 76, n. 12, p. 1242–1245, dez. 2021.

MENNI, C. et al. Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study. **The Lancet**, v. 399, n. 10335, p. 1618–1624, 23 abr. 2022.

MCLEAN, G. et al. The Impact of Evolving SARS-CoV-2 Mutations and Variants on COVID-19 Vaccines. **mBio**, v. 13, n. 2, p. e02979-21, [s.d.].

**MonitoraCovid-19**. Disponível em: <<https://bigdata-covid19.icict.fiocruz.br/>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

MONGELLI, A. et al. Evidence for Biological Age Acceleration and Telomere Shortening in COVID-19 Survivors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 6151, jan. 2021.

NAABER, P. et al. Dynamics of antibody response to BNT162b2 vaccine after six months: a longitudinal prospective study. **The Lancet Regional Health - Europe**, v. 10, nov. 2021.

NAWROT, T. S. et al. Telomere length and possible link to X chromosome. **Lancet (London, England)**, v. 363, n. 9408, p. 507–510, 14 fev. 2004.

ONDER, G.; REZZA, G.; BRUSAFERRO, S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. **JAMA**, v. 323, n. 18, p. 1775–1776, 12 maio 2020.

OPAS, Detrizes laboratoriais para detecção e diagnóstico de infecção pelo vírus da Covid-19. 8 de julho de 2020.

OVSYANNIKOVA, I. G. et al. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. **Immunological Reviews**, v. 296, n. 1, p. 205–219, jul. 2020.

PARANJAPE, N. et al. Early Use of Remdesivir in Patients Hospitalized With COVID-19 Improves Clinical Outcomes. **Infectious Diseases in Clinical Practice (Baltimore, Md.)**, v. 29, n. 5, p. e282–e286, set. 2021.

PACHETTI, M. et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *Journal of Translational Medicine*, v. 18, n. 1, p. 179, 22 abr. 2020.

PASCARELLA, G. et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *Journal of Internal Medicine*, p. 10.1111/joim.13091, 13 maio 2020.

PEGU, A. et al. Durability of mRNA-1273 vaccine-induced antibodies against SARS-CoV-2 variants. *Science (New York, N.Y.)*, v. 373, n. 6561, p. 1372–1377, 17 set. 2021.

PÉREZ-ABELEDÓ, M.; SANZ MORENO, J. C. Variantes de SARS-CoV-2, una historia todavía inacabada. *Vacunas*, v. 22, n. 3, p. 173–179, 2021.

**Pfizer's Novel COVID-19 Oral Antiviral Treatment Candidate Reduced Risk of Hospitalization or Death by 89% in Interim Analysis of Phase 2/3 EPIC-HR Study | Pfizer.** Disponível em: <<https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizers-novel-covid-19-oral-antiviral-treatment-candidate>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

RE3DATA.ORG. GISAID. 2012.

RIZVI, S.; RAZA, S. T.; MAHDI, F. Telomere Length Variations in Aging and Age-Related Diseases. *Current Aging Science*, v. 7, n. 3, p. 161–167, [s.d.].

SARETZKI, G. Telomeres, Telomerase and Ageing. *Sub-Cellular Biochemistry*, v. 90, p. 221–308, 2018.

SETTE, A.; CROTTY, S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*, v. 184, n. 4, p. 861–880, 18 fev. 2021.

SHARMA, A. et al. COVID-19 Diagnosis: Current and Future Techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 193, p. 1835–1844, 15 dez. 2021.

SHEIKH, A. et al. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. *Lancet (London, England)*, v. 397, n. 10293, p. 2461–2462, 2021.

SUN, B. et al. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerging Microbes & Infections*, v. 9, n. 1, p. 940–948, [s.d.].

SANCHEZ-VAZQUEZ, R. et al. Shorter telomere lengths in patients with severe COVID-19 disease. *Aging (Albany NY)*, v. 13, n. 1, p. 1–15, 11 jan. 2021.

SASSENROTH, D. et al. Sports and Exercise at Different Ages and Leukocyte Telomere Length in Later Life – Data from the Berlin Aging Study II (BASE-II). *PLoS ONE*, v. 10, n. 12, p. e0142131, 2 dez. 2015.

TEICH, V. D. et al. Características epidemiológicas e clínicas dos pacientes com COVID-19 no Brasil. *Einstein (Sao Paulo)*, v. 18, 12 ago. 2020.

TEGALLY, H. et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa | *Nature*. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41586-021-03402-9>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

THE RECOVERY COLLABORATIVE GROUP. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *The New England Journal of Medicine*, p. NEJMoa2021436, 17 jul. 2020.

TSILINGIRIS, D. et al. Telomere length, epidemiology and pathogenesis of severe COVID-19. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 50, n. 10, p. e13376, 2020.

TENFORDE, M. W. et al. Association Between mRNA Vaccination and COVID-19 Hospitalization and Disease Severity. *JAMA*, v. 326, n. 20, p. 1, 11 nov. 2021.

TURNER, K. J.; VASU, V.; GRIFFIN, D. K. Telomere Biology and Human Phenotype. *Cells*, v. 8, n. 1, p. 73, jan. 2019.

VELAVAN, T. P.; MEYER, C. G. The COVID-19 epidemic. *Tropical Medicine & International Health*, v. 25, n. 3, p. 278–280, 2020.

WANG, Q. et al. Shorter leukocyte telomere length is associated with adverse COVID-19 outcomes: A cohort study in UK Biobank. *eBioMedicine*, v. 70, 1 ago. 2021.

WU, D. et al. The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, v. 94, p. 44–48, maio 2020.

YANG, N. et al. Clinical and Pulmonary CT Characteristics of Patients Infected With the SARS-CoV-2 Omicron Variant Compared With Those of Patients Infected With the Alpha Viral Strain. *Frontiers in Public Health*, v. 10, p. 931480, 12 jul. 2022.

ZHAO, Y. et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease in complex with protease inhibitor PF-07321332. *Protein & Cell*, v. 13, n. 9, p. 689–693, set. 2022.

ZHANG, J.-J. et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*, v. 75, n. 7, p. 1730–1741, jul. 2020.

ZOU, L. et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *The New England Journal of Medicine*, v. 382, n. 12, p. 1177–1179, 19 mar. 2020.

## 8 ANEXOS

### ANEXO A- parecer de aprovação do cep



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DOS SINTOMAS EM PACIENTES COM SARS-COV-2 E DE SUA RELAÇÃO COM O COMPRIMENTO DOS TELÔMEROS

**Pesquisador:** Andreia Rosane de Moura Valim

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 63581522.8.0000.5343

**Instituição Proponente:** Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

**Patrocinador Principal:** Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.746.800

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se da apresentação do projeto de pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DOS SINTOMAS EM PACIENTES COM SARS-COV-2 E DE SUA RELAÇÃO COM O COMPRIMENTO DOS TELÔMEROS" cujo/a pesquisador/a responsável é Andreia Rosane de Moura Valim.

As informações foram retiradas do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1977982.pdf 22/09/2022).

##### Objetivo da Pesquisa:

Objetivos presentes, claros e exequíveis. Quais sejam:

##### OBJETIVO PRIMÁRIO

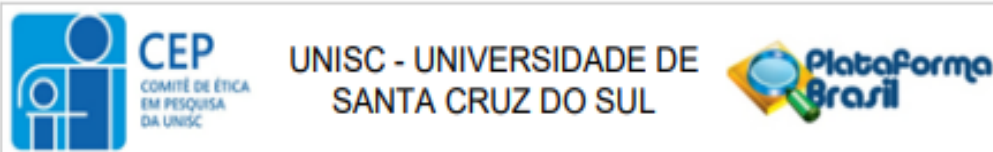
Avaliar a severidade dos sintomas em pacientes que foram contaminados pelo vírus SARS-COV-2 e a relação com o comprimento dos telômeros.

##### OBJETIVOS SECUNDÁRIOS:

- Identificar os sintomas apresentados por pessoas com diagnósticos de Covid-19 e variáveis sociodemográficas;
- Avaliar o comprimento dos telômeros em pessoas que tiveram Covid-19;
- Relacionar as características sociodemográficas e sintomas de Covid-19 com o comprimento dos telômeros.

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 13, sala 1306  
**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br





Continuação do Parecer: 5.746.800

As informações foram retiradas do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1977982.pdf 22/09/2022).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**RISCOS:**

Pode haver algum risco de divulgação de dados individuais dos participantes, porém serão observados todos os aspectos previstos na Resolução 466/2012 quanto a divulgação dos dados, preservando o sigilo.

**BENEFÍCIOS:**

A pesquisa permitirá entender a relação dos telômeros com o agravamento do Covid-19, o que poderá auxiliar na explicação de aspectos epidemiológicos únicos da pandemia causada pelo SARS-COV-2.

As informações foram retiradas do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1977982.pdf 22/09/2022).

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O presente trabalho é caracterizado como estudo observacional e transversal. Será realizado com pessoas que tiveram diagnóstico de Covid-19 entre fevereiro de 2020 e novembro de 2021.

A coleta das amostras e os dados dos pacientes que serão utilizados nesta pesquisa foram realizadas em estudo prévio denominado "Caracterização Clínica Epidemiológica e Genética de Pacientes com Covid-19 em uma região do Sul do Brasil".

Será utilizado o banco de dados já existente e então realizadas as análises de acordo com a classificação dada pela academia da presente pesquisa. Para a extração de DNA foi utilizado o método Snting Out (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988), que sofreu adaptações para melhor extração da amostra.

O comprimento dos telômeros será medido utilizando a técnica de qPCR com o instrumento Step One Plus (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

Os dados coletados serão analisados por média das amostras e desvio padrão e será empregado o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 23.0. Será analisada média aritmética com desvio padrão e frequência com avaliação por meio do teste Qui-quadrado com valor de significância de  $p < 0,05$ .

As informações foram retiradas do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1977982.pdf 22/09/2022).

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 13, sala 1306  
**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



**CEP**  
COMITÊ DE ÉTICA  
EM PESQUISA  
DA UNISC

**UNISC - UNIVERSIDADE DE  
SANTA CRUZ DO SUL**



Continuação do Parecer: 5.746.800

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os documentos de apresentação obrigatória estão presentes, sendo claros e objetivos.

São documentos obrigatórios:

- Folha de rosto;
- Projeto de pesquisa;
- Informações Básicas (PB);
- Orçamento;
- TCUD;
- Carta de apresentação do projeto;
- Carta de instituição parceira.

**Recomendações:**

-

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto APROVADO e em condições de ser executado conforme documentos anexados à Plataforma Brasil e validados pelo CEP-UNISC.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

PROJETO APROVADO e em condições de ser executado conforme documentos anexados à Plataforma Brasil e validados pelo CEP-UNISC.

Alerta-se o pesquisador responsável para a necessidade de realizar e encaminhar ao CEP-UNISC, via Plataforma Brasil, os Relatórios Parciais de Acompanhamento da Pesquisa e o Relatório Final de Acompanhamento da Pesquisa. Os formulários para os relatórios estão disponíveis no link do CEP-UNISC (<https://www.unisc.br/pt/pesquisa/comite-de-etica>), aba Documentação, Arquivo "Modelo de Relatório Parcial ou Final de Pesquisa". É o mesmo formulário para ambos os relatórios (as marcações no próprio formulário é que diferem, a depender da natureza do projeto).

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Recurso do Parecer	recurso.pdf	15/10/2022 13:02:17		Aceito
Outros	metodologia.pdf	15/10/2022	DYOVANA	Aceito

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 13, sala 1306

**Bairro:** Universitario

**CEP:** 96.815-900

**UF:** RS

**Município:** SANTA CRUZ DO SUL

**Telefone:** (51)3717-7680

**E-mail:** cep@unisc.br



UNISC - UNIVERSIDADE DE  
SANTA CRUZ DO SUL



Continuação do Parecer: 5.746.800

Outros	metodologia.pdf	12:59:55	PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Cronograma	cronogramarec.pdf	15/10/2022 12:59:23	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	recurso.pdf	15/10/2022 12:58:20	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartadeaceite.pdf	15/10/2022 12:58:09	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	tcversaofinal.pdf	15/10/2022 12:57:35	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P ROJETO_1977982.pdf	22/09/2022 19:14:02		Aceito
Orçamento	orcamentocop.pdf	22/09/2022 19:13:48	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Outros	tcudprof.pdf	21/09/2022 20:05:06	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoedit.pdf	21/09/2022 20:00:32	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Outros	tcudcop.pdf	21/09/2022 19:51:10	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito
Outros	20220823140223784.pdf	24/08/2022 20:36:34	DYOVANA PASTORIZA GONCALVES	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SANTA CRUZ DO SUL, 08 de Novembro de 2022

---

**Assinado por:**  
**Renato Nunes**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 13, sala 1306  
**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br

Anexo B- questionário do projeto já executado

## Questionário clínico e epidemiológico

\*Obrigatório

1. NUMERO DE IDENTIFICACAO

---

2. Nome completo \*

---

3. Data de nascimento \*

*Exemplo: 7 de janeiro de 2019*

---

4. Idade

---

5. Sexo \*

*Marcar apenas uma oval.*

Femenino

Masculino

---