



## A COVID-19 DESENVOLVE UM DANO OXIDATIVO TARDIO E APRESENTA BAIXA TAXA DE RECUPERAÇÃO PARA PACIENTES INTERNADOS NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

*Covid-19 develops late oxidative damage in those admitted to the Intensive Care Unit and presents low recovery rate when compared with individuals without the disease*

*Covid-19 desarrolla un daño oxidativo tardío en aquellos internados en la unidad de cuidados intensivos y baja tasa de recuperación en comparación con individuos sin la enfermedad*

Pietra de Vargas Minuzzi<sup>1</sup> Gêniifer Ermindia Schreiner<sup>1</sup> Laura Smolski dos Santos<sup>1</sup> Elizandra Gomes Schmitt<sup>1</sup>

Luana Tamires Maders<sup>1</sup> Marta Fioravanti Carpes<sup>2</sup> Rafael Tamborena Malheiros<sup>2</sup> Vanusa Manfredini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Pampa; <sup>2</sup>Hospital Santa Casa de Uruguaiana

Autor correspondente: Pietra de Vargas Minuzzi - [pietraminuzzi@gmail.com](mailto:pietraminuzzi@gmail.com)

### RESUMO

**Objetivo:** comparar o dano oxidativo e a defesa antioxidante de indivíduos com e sem Covid-19 internados na UTI e acompanhar o processo de internação até apresentar um desfecho clínico de alta hospitalar ou óbito. **Método:** o estudo foi composto por 95 indivíduos (42 na UTI Covid e 53 na UTI adulto), que através de amostras sanguíneas foram analisados quanto o dano a lipídeos, proteínas e DNA e quantificado o lactato desidrogenase (LDH), vitamina C, vitamina D, Status Antioxidante Total (SAT) e glutatona total (GSH). Ademais, a predição de mortalidade foi acompanhada pelos escores Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II (APACHE II), Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) e Sequential Organ Failure Assessment (SOFA). **Resultados:** através dos dados obtidos, destaca-se um maior dano à proteína na última avaliação da UTI adulto e um aumento no dano ao DNA nos indivíduos internados na UTI adulto tanto na primeira quanto na última avaliação. Ademais, houve uma redução de vitamina D na UTI Covid na primeira avaliação e um aumento de LDH na última avaliação, sendo que os indivíduos da UTI adulto apresentaram aumento significativo no SAT e Glutaciona em ambos os momentos de avaliação. **Conclusão:** através do exposto, acreditamos que a maior gravidade no momento de admissão e um maior dano à proteína pelo processo de internação de indivíduos internados na UTI adulto pode estar relacionado à seps e que o aumento na gravidade e mortalidade dos casos de indivíduos internados na UTI Covid pode sugerir que essa doença acarreta em um dano oxidativo tardio, com baixa taxa de recuperação.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2; Estresse oxidativo; Unidade de terapia intensiva; Hospitalização

### ABSTRACT

**Objective:** compare the oxidative damage and antioxidant defense of individuals with and without Covid-19 admitted to the ICU and monitor the hospitalization process until presenting a clinical outcome of hospital discharge or death. **Method:** the study consisted of 95 individuals (42 in the ICU Covid and 53 in the adult ICU), which through blood samples and using classical methodologies it was possible to analyze the levels of total glutathione (GSH), Total Antioxidant Status (TAS), vitamin C and D, Lactate Dehydrogenase (LDH) oxidative damage in biomolecules (lipids, proteins and DNA).. In addition, mortality prediction was accompanied by Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II (APACHE II), Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) and Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) scores. **Results:** through the data obtained, there is a greater damage to protein in the last evaluation of the adult ICU and an increase in DNA damage in individuals hospitalized in the adult ICU in both the first and last evaluation. In addition, there was a reduction of vitamin D in the ICU Covid in the first evaluation and an increase in LDH in the last evaluation, and the individuals of the adult ICU showed a significant increase in SAT and GSH in both moments of evaluation. **Conclusion:** through the above, we believe that the greater severity at the time of admission and greater damage to the protein due to the hospitalization process of individuals admitted to the adult ICU may be related to sepsis and that the increase in the severity and mortality of cases of individuals admitted to the Covid ICU may suggest that this disease leads to late oxidative damage, with a low recovery rate.

**Keywords:** SARS-CoV-2; Oxidative stress; Intensive care therapy; Hospitalization.

### RESUMEN

**Objetivo:** a partir de esto, nuestro objetivo es comparar el daño oxidativo y la defensa antioxidante de individuos con y sin Covid-19 ingresados en UCI y monitorear el proceso de hospitalización hasta presentar un desenlace clínico de alta hospitalaria o muerte. **Método:** el estudio estuvo compuesto por 95 individuos (42 en UCI Covid y 53 en UCI de adultos), a quienes, a través de muestras de sangre, se les analizó daño a lípidos, proteínas y ADN y se les cuantificó Lactato Deshidrogenasa (LDH), vitamina C, vitamina D, Estado Antioxidante Total (EAT) y glutatión total (GSH). Además, la predicción de la mortalidad fue monitoreada por el Sistema II de Clasificación de Enfermedades de Fisiología Aguda y Salud Crónica (APACHE II), la Puntuación Simplificada de Fisiología Aguda (SAPS II) y las puntuaciones de Evaluación Secuencial de Falla Orgánica (SOFA). **Resultados:** a través de los datos obtenidos se destaca un mayor daño proteico en la última evaluación de la UCI de adultos y un aumento del daño en el ADN en los individuos ingresados en la UCI de adultos tanto en la primera como en la última evaluación. Además, hubo una reducción de la vitamina D en la UCI de Covid en la primera evaluación y un aumento de la LDH en la última evaluación, y los individuos en la UCI de adultos mostraron un aumento significativo de SAT y glutatión en ambos momentos de la evaluación. **Conclusión:** por lo anterior, creemos que la mayor gravedad al momento del ingreso y mayor daño a la proteína debido al proceso de hospitalización de los individuos ingresados en la UCI de adultos puede estar relacionado con la sepsis y que el aumento en la gravedad y mortalidad de los casos de Los individuos ingresados en la UCI de Covid pueden sugerir que esta enfermedad conduce a un daño oxidativo tardío, con una baja tasa de recuperación.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2; Estrés oxidativo; Unidad de terapia intensiva; Hospitalización



## INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo se refere a um desequilíbrio entre as Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e o sistema antioxidante. Em condições fisiológicas há a homeostase entre ambos, porém, diante algumas situações adversas podem originar uma produção exacerbada de ERO. Em indivíduos com doença crítica, por exemplo, há um suprimento inadequado de oxigênio que pode agravar conforme a evolução do processo inflamatório, provocando um ciclo vicioso de danos, resultando em alterações degenerativas<sup>1</sup> e metabólicas,<sup>2</sup> as quais comprometem o quadro clínico daquele que está sob cuidados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI).

Além disso, condições como o contato com agentes virais, a modelo do SARS-CoV-2, pode acarretar esse desequilíbrio,<sup>3</sup> o qual pode influenciar no aparecimento e/ou progressão de diversas disfunções, podendo gerar um desfecho clínico desfavorável para esse indivíduo<sup>4</sup> ou comprometer a qualidade de vida, uma vez que o estresse oxidativo contribui para a Fraqueza Muscular Adquirida na UTI (FA-UTI). Isso pois, pela síntese de proteínas musculares ser depende de ATP e essa via estar comprometida pelo suprimento inadequado de oxigênio, aqueles que desenvolvem a forma mais grave da Covid-19 podem apresentar maiores comprometimentos.<sup>1</sup>

Analisando isso, o objetivo do presente estudo foi comparar o dano oxidativo e a defesa antioxidante de indivíduos com e sem Covid-19 internados na UTI e acompanhar o processo de internação até apresentar um desfecho clínico de alta hospitalar ou óbito.

## MÉTODO

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pampa, sob parecer de nº 5.177.577 e trata-se de um estudo observacional de coorte prospectiva. As avaliações ocorreram após anuência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), realizada pelo próprio paciente ou pelo seu responsável, sendo incluídos no estudo, na UTI Covid, indivíduos de ambos os sexos e com idade superior a 18 anos que estiveram internados na UTI com diagnóstico de Covid-19 e na UTI adulto, indivíduos com idade superior a 18 anos, apresentando Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes *mellitus* e/ou obesidade, independente do motivo da internação, sendo excluídos àqueles portadores de doenças neuromusculares prévias, limitações prévias para as realizações das atividades de vida diária, gestantes, puérperas e indivíduos que foram transferidos de unidade hospitalar, impossibilitando o acompanhamento.

O estudo acompanhou o processo de hospitalização de 53 indivíduos internados na UTI adulto geral, incluindo indivíduos clínicos, cirúrgicos e com diferentes doenças de base, exceto a Covid-19 e 42 indivíduos internados na UTI Covid do hospital Santa Casa de Uruguaiana-RS pelo período de julho de 2021 a abril de 2022.

Os participantes elegíveis foram avaliados durante a internação hospitalar obedecendo um intervalo de 5 dias entre as avaliações, sendo que a primeira avaliação ocorreu nas primeiras 24 horas de internação e o indivíduo foi acompanhado até apresentar um desfecho clínico de alta hospitalar ou de óbito.

Para a análise do dano oxidativo e da defesa antioxidante tivemos acesso às amostras sanguíneas dos indivíduos, as quais foram coletadas pelos profissionais do setor onde o indivíduo estava internado. No laboratório de análises clínicas o material foi cuidadosamente armazenado e na sequência transportado até às instalações da universidade, nas quais foram preparadas as lâminas através do esfregaço e na sequência a amostra foi homogeneizada, sendo possível a separação do plasma. Após esse processo, o plasma foi colocado em um novo *ependorf* renomeado de forma que não fosse possível identificar de forma direta o pertencente àquele material, o qual foi armazenado a uma temperatura de -20°C e manuseado apenas no

momento da análise, evitando o descongelamento e congelamento do mesmo, o que poderia comprometer os resultados das investigações.

As análises das amostras consistiram na quantificação da lactato desidrogenase (LDH), vitamina C e vitamina D no soro através do equipamento *Chem Well T da Labtest*®; do Status Antioxidante Total (SAT) em plasma, utilizando o *Kit da Randox*®; a glutatona total (GSH) foi quantificada segundo Akerboom & Sies (1981).<sup>5</sup> Para a avaliação do dano oxidativo a lipídios e proteínas foram realizadas, respectivamente, a peroxidação lipídica pela determinação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)<sup>6</sup> e a carbonilação de proteínas<sup>7</sup>. Em ambos os parâmetros utilizou-se a estufa com temperatura controlada e banho-maria com circulação de água na preparação das amostras para posterior leitura em espectrofotômetro; e por fim, analisamos o dano oxidativo no DNA através do teste de micronúcleos (MN) de acordo com Schmid (1975).<sup>8</sup> Os 95 participantes foram avaliados e acompanhados da mesma forma, sendo que as avaliações ocorrem nas unidades de internação em que o paciente estava, sem haver um local específico e adaptado para as avaliações.

Pela relação do estresse oxidativo com a mortalidade, instrumentos como *Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II* (APACHE II), *Simplified Acute Physiology Score* (SAPS II) e *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA) foram implementados às avaliações e ao final os dados foram associados com o desfecho clínico de alta hospitalar ou óbito.

Para a análise estatística foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados, os quais estão expressos em mediana e intervalo de confiança 95% por serem variáveis não paramétricas ( $p < 0,05$ ). Na sequência, para as variáveis quantitativas, independentes e não-paramétricas foi realizado o teste de Mann-Whitney, para as variáveis quantitativas, pareadas e não-paramétricas foi utilizado o teste de Wilcoxon e para variáveis qualitativas foi utilizado o teste Qui-quadrado e teste Exato de Fisher. As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS 22.0, considerando significativos os valores de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Ao todo foram avaliados 95 indivíduos entre UTI Covid ( $n=42$ ) e UTI adulto ( $n=53$ ), sendo que ao final os dados quanto ao dano oxidativo, defesa antioxidante e preditores de mortalidade foram observados dentre os grupos e comparados entre si.

Analisando o dano oxidativo isoladamente em cada grupo, através dos dados obtidos na primeira, nas primeiras 24 horas de internação, e na última avaliação, antes desse indivíduo apresentar um desfecho de alta hospitalar ou óbito, em torno de 11 dias, na UTI Covid verificou-se o aumento no número de MN na última avaliação (39 (34,60 – 50,23)) quando comparado com a primeira (28,50 (24,38 – 38,62)) ( $p = 0,004$ ), analisado na figura 1C.

**Figura 1** – Comparação dos resultados do dano oxidativo obtidos na primeira e última avaliação realizadas na UTI Covid.

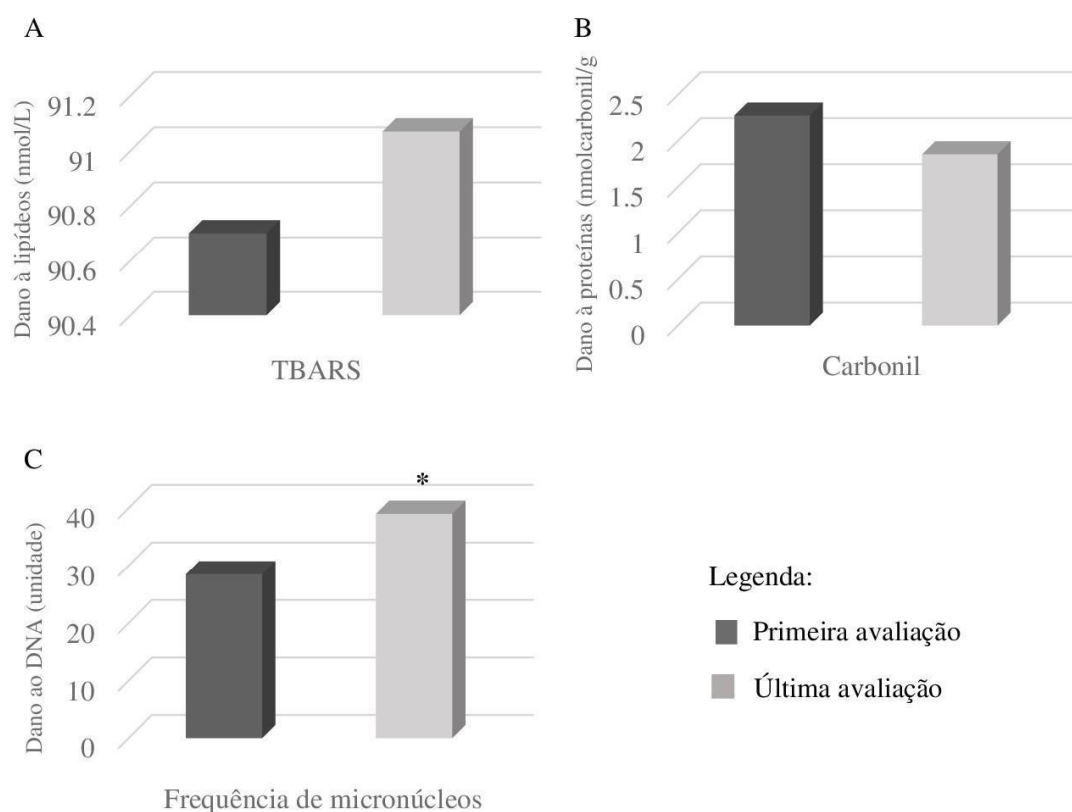


Figura 1A: Resultados da análise do dano à lipídeos realizado pelo TBARS comparando a primeira e a última avaliação; figura 1B: Análise do dano à proteína verificado pelo carbonil na primeira e última avaliação; figura 1C: Dano ao DNA mensurado pela frequência de MN existentes na análise. Dados expressos em MD(IC95%) e p-valor obtido pelo Teste de Wilcoxon, considerando uma amostra com n=40 na primeira avaliação e n=27 para as análises de TBARS e carbonil e para os MN na primeira avaliação, n=36, e na última avaliação, n=29.

Legenda: TBARS: Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico; Carbonil: Carbonilação de proteínas; MN: Micronúcleos; \*: p<0,05 quando comparado com a primeira avaliação.

Em relação a defesa antioxidante houve aumento significativo no LDH na última avaliação (660 (590,34 – 718,50)), quando comparado com a primeira avaliação (269 (276,58 – 353,85)) (p<0,0001) (Figura 2E). Ao contrário disso, houve uma redução significativa de GSH no momento da última avaliação (5,60 (5,38 – 7,06)), considerando a primeira avaliação (9 (8,24 – 9,87)) (p = 0,001), manifestado na figura 2D.

**Figura 2** – Comparação dos resultados da defesa antioxidante obtido na primeira e última avaliação realizada na UTI Covid.

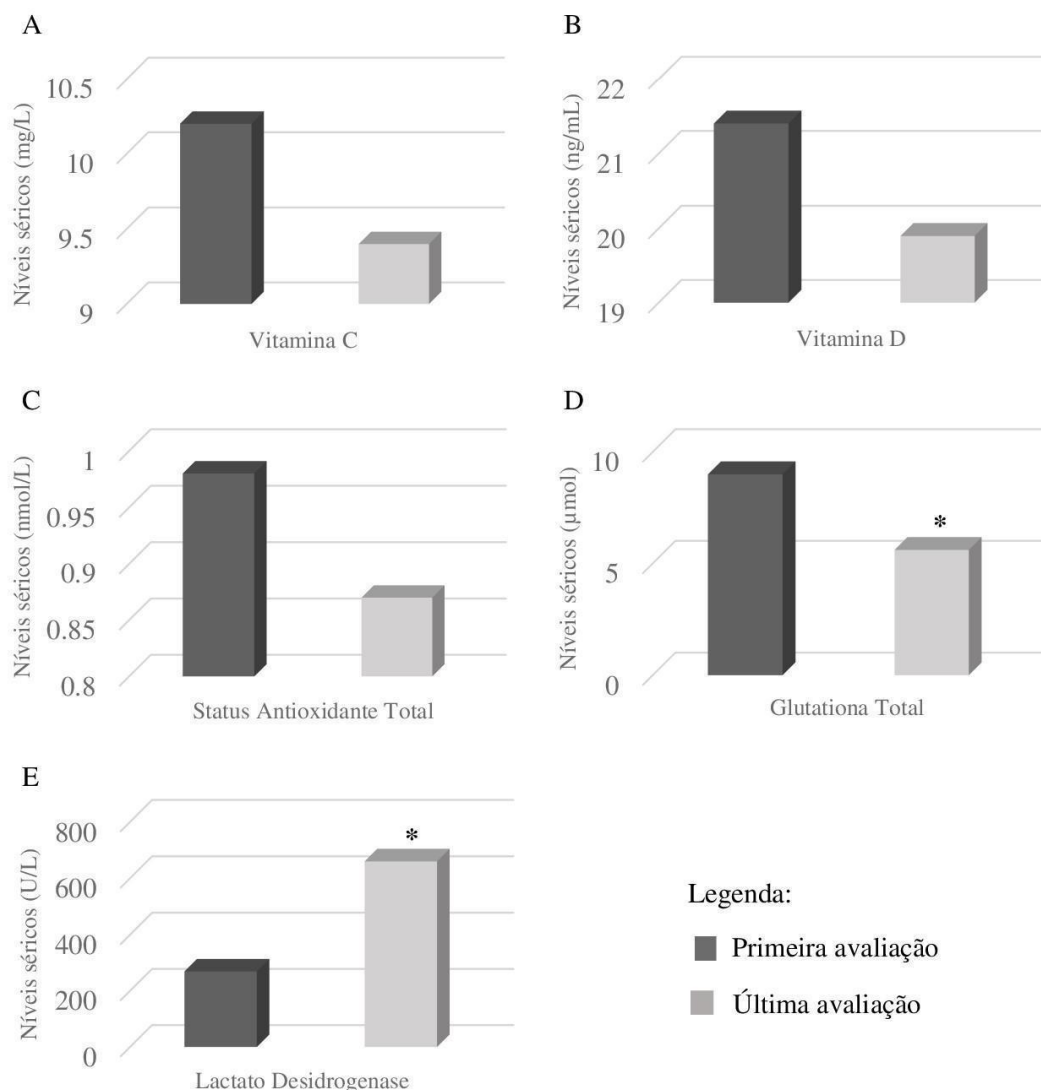


Figura 2A: Análises da vitamina C na primeira e última avaliação; figura 2B: Relação entre os níveis de vitamina D na primeira e última avaliação; figura 2C: Análise do SAT na primeira e última avaliação; figura 2D: Comparação entre os níveis de GSH na primeira e última avaliação; figura 2E: Níveis de LDH na primeira e última avaliação realizada na UTI Covid. Dados expressos em MD(IC95%) e p-valor obtido pelo Teste de Wilcoxon, considerando uma amostra com n=42 na primeira avaliação e n=19 na última avaliação para todas as variáveis.

Legenda: SAT: Status Antioxidante Total; GSH: Glutathiona Total; LDH: Lactato Desidrogenase; \*: p<0,05 quando comparado com a primeira avaliação.

Ponderando os achados relacionados ao estresse oxidativo encontrado na primeira avaliação e na última avaliação na UTI adulto, através da figura 3 identificou-se um aumento no dano a proteína verificado pelo carbonil na última avaliação ( $2,511 \times 10^{-9}$  ( $2,084 \times 10^{-9}$  –  $3,307 \times 10^{-9}$ )) quando comparado a primeira avaliação ( $2,113 \times 10^{-9}$  ( $1,720 \times 10^{-9}$  –  $2,324 \times 10^{-9}$ )) (p = 0,033) (Figura 3B) e de maneira oposta, encontramos uma redução na contagem de MN na última avaliação (54 (50,13 – 59,44)) quando comparada com a primeira (57 (50,44 – 57,33)) (p = 0,001) (Figura 3C).

**Figura 3** – Comparação dos resultados do dano oxidativo obtido na primeira e última avaliação realizada na UTI adulto.

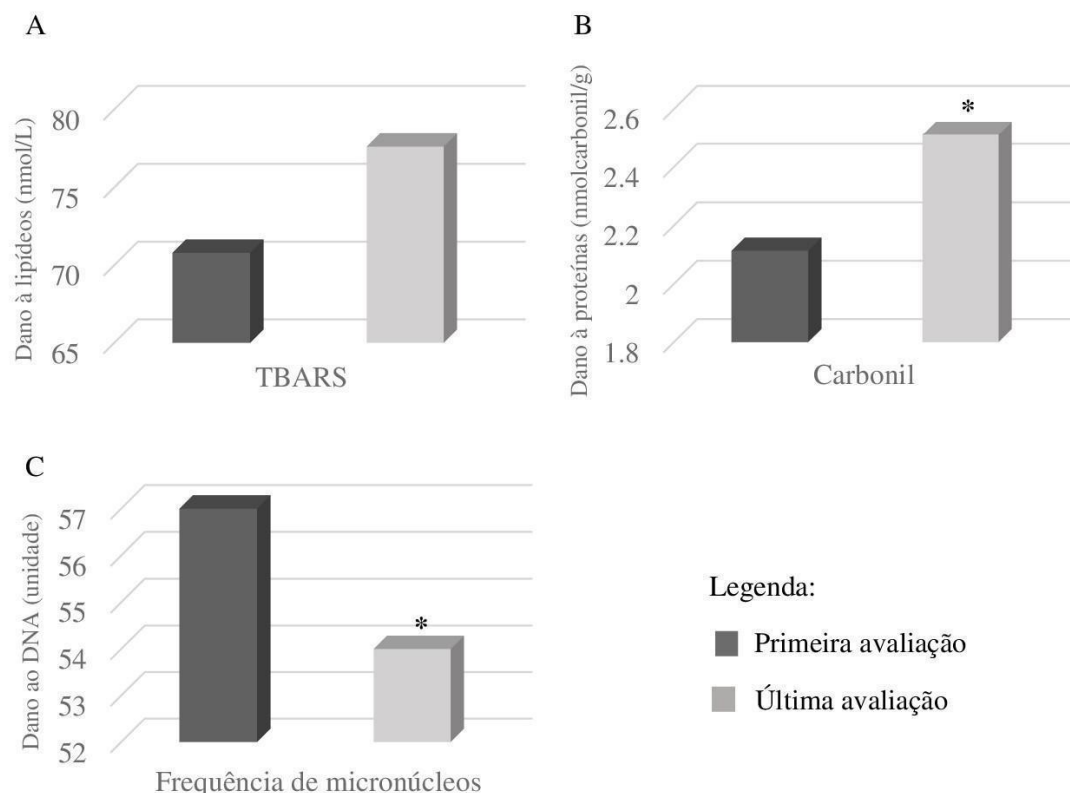


Figura 3A: Comparação do dano à lipídeos na primeira e última avaliação; figura 3B: Análise do dano à proteína encontrado na primeira e última avaliação; figura 3C: Relação da frequência de MN obtida na primeira e última avaliação na UTI adulto. Dados expressos em MD(IC95%) e p-valor obtido pelo Teste de Wilcoxon, houve variação no n amostral entre as variáveis na primeira avaliação/última avaliação identificadas a seguir conforme o teste: TBARS: 52/34; carbonil: 50/33; MN: 53/33.

Legenda: TBARS: Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico; Carbonil: Carbonilação de proteínas; MN: Micronúcleos; \*:  $p < 0,05$  quando comparado com a primeira avaliação.

Na resposta antioxidante daqueles internados na UTI adulto, houve um aumento nos níveis de LDH na última avaliação (551 (449,86 – 590,04)) quando comparado a primeira avaliação (258 (261,64 – 328,17)) ( $p < 0,0001$ ) (Figura 4E) e uma redução na vitamina C na última avaliação (8,30 (5,80 – 10,44)) comparada com a primeira (11,50 (10,29 – 13,86)) ( $p = 0,026$ ) (Figura 4A), assim como com a vitamina D, comparando a última avaliação (20,55 (17,21 – 24,11)) com a primeira avaliação (23,90 (22,69 – 25,94)) ( $p = 0,030$ ) (Figura 4B) e também ocorreu uma redução de SAT na última avaliação (1 (0,96 – 1,14)) contrastante com os valores encontrados na primeira avaliação (1,36 (1,22 – 1,39)) ( $p = 0,001$ ), conforme visualizado na figura 4C.

**Figura 4** – Comparação dos resultados da defesa antioxidante obtido na primeira e última avaliação realizadas na UTI adulto.

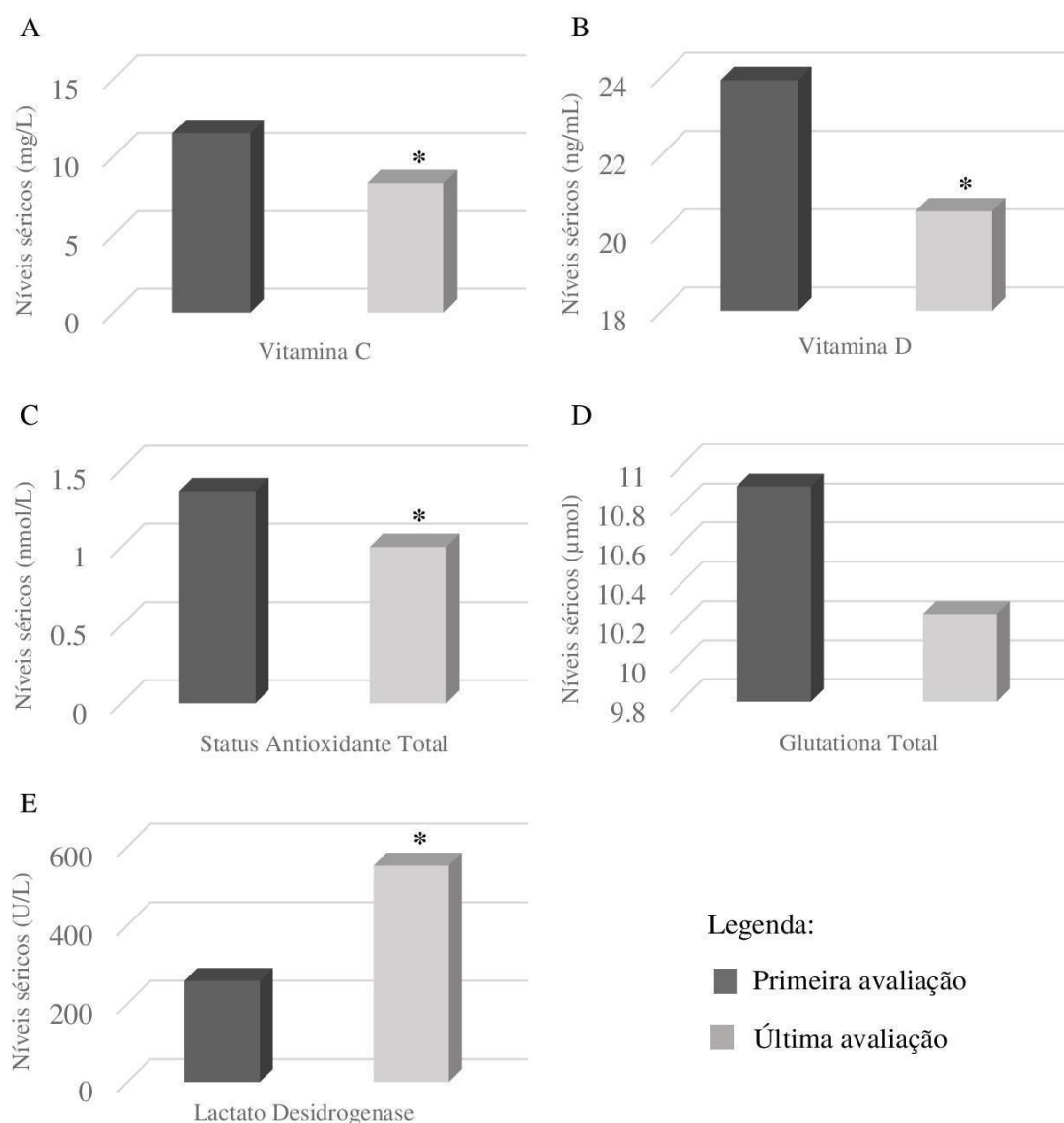


Figura 4A: Análises da vitamina C na primeira e última avaliação; figura 4B: Relação entre os níveis de vitamina D na primeira e última avaliação; figura 4C: Análise do SAT na primeira e última avaliação; figura 4D: Comparação entre os níveis de GSH na primeira e última avaliação; figura 4E: Níveis de LDH na primeira e última avaliação realizada na UTI adulto. Dados expressos em MD(IC95%) e p-valor obtido pelo Teste de Wilcoxon, considerando uma amostra com n=42 na primeira avaliação e n=19 na última avaliação para todas as variáveis.

Legenda: SAT: Status Antioxidante Total; GSH: Glutathiona Total; LDH: Lactato Desidrogenase; \*: p<0,05 quando comparado com a primeira avaliação.

Relacionado ao dano oxidativo e a comparação entre as duas UTIs foi possível analisar que na última avaliação se manteve um maior dano a proteína nos indivíduos internados na UTI adulto ( $2,511 \times 10^{-9}$  ( $2,084 \times 10^{-9}$  –  $3,307 \times 10^{-9}$ )) do que naqueles internados na UTI Covid ( $1,856 \times 10^{-9}$  ( $1,736 \times 10^{-9}$  –  $2,381 \times 10^{-9}$ )) (p = 0,043), identificado pela figura 5B. Ainda, ocorreu um aumento na contagem de MN na primeira avaliação (57 (50,44 – 57,53)) e na última avaliação (54 (50,13 – 59,44)) daqueles internados na UTI adulto, quando comparado com a primeira (28,50 (24,38 – 38,62)) e a última avaliação (39 (34,60 – 50,23)) dos indivíduos internados na UTI Covid (p < 0,0001 e p = 0,015, respectivamente), figura 5C.

**Figura 5** – Comparação dos resultados do dano oxidativo obtido na primeira e última avaliação realizadas na UTI Covid e na UTI adulto.

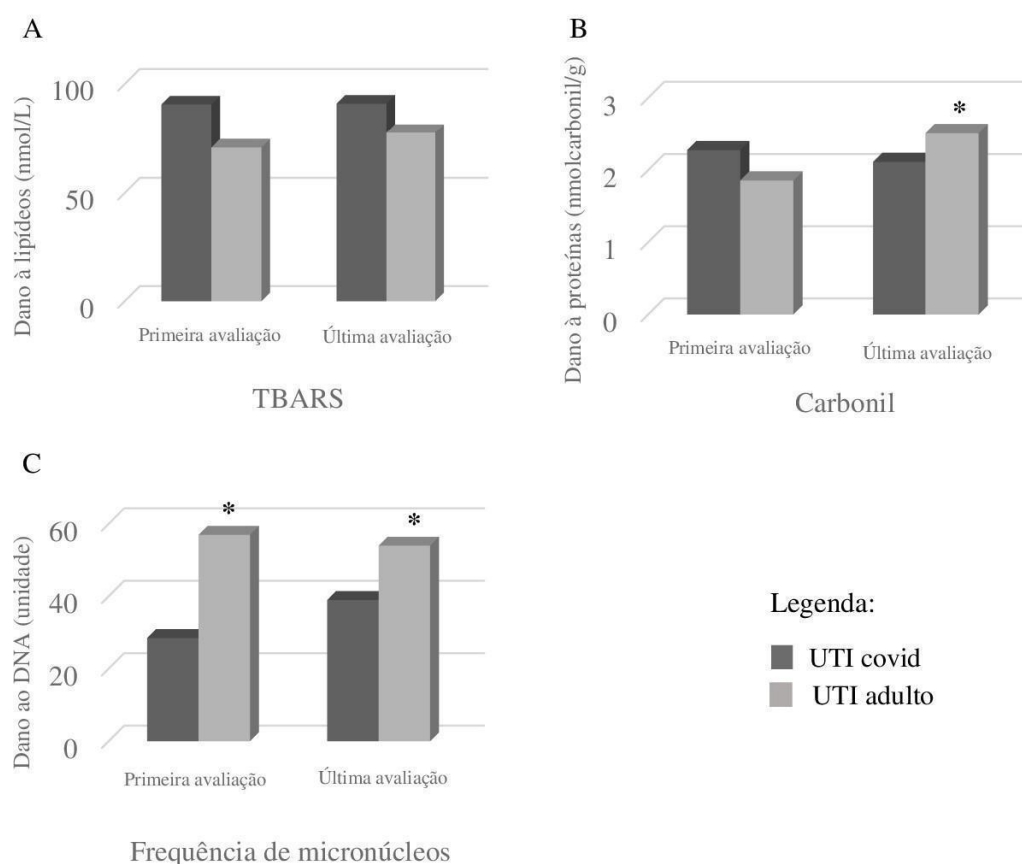


Figura 5A: Comparação do dano à lipídeos na primeira e última avaliação; figura 5B: Análise do dano à proteína encontrado na primeira e última avaliação; figura 5C: Relação da frequência de MN obtida na primeira e última avaliação na UTI Covid e na UTI adulto. Dados expressos em MD(IC95%) e p-valor obtido pelo Teste de Mann-Whitney.

Legenda: TBARS: Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico; Carbonil: Carbonilação de proteínas; MN: Micronúcleos; \*:  $p < 0,05$  quando comparado entre as unidades.

Em relação aos marcadores antioxidantes SAT e GSH, houve um aumento de ambos na primeira (1,36 (1,22 – 1,39) e 10,90 (10,85 – 12,55), respectivamente, com  $p < 0,0001$  para ambas as variáveis) e na última avaliação (1 (0,96 – 1,14),  $p = 0,002$  e 10,25 (9,67 – 11,95),  $p < 0,0001$ , respectivamente) nos indivíduos internados na UTI adulto, quando comparados com a primeira (0,98 (0,87 – 1,02) e 9 (8,24 – 9,87), respectivamente) e última avaliação (0,87 (0,76 – 0,92) e 5,60 (5,38 – 7,06), respectivamente) realizada com os indivíduos internados na UTI Covid. E por fim, houve uma redução significativa em relação aos níveis séricos de vitamina D na UTI Covid na primeira avaliação (21,40 (21,48 – 24,16)) quando comparado com aqueles internados na UTI adulto (23,90 (23,36 – 26,05)) e também em relação ao LDH em relação a UTI adulto (551 (449,86 – 590,04)) quando comparado com a UTI Covid (660 (590,22 – 718,31)) na última avaliação ( $p = 0,002$ ). Dados demonstrados na figura 6.

**Figura 6** – Comparação da defesa antioxidante demonstrada na primeira e na última avaliação dos pacientes internados na UTI Covid e na UTI adulto.

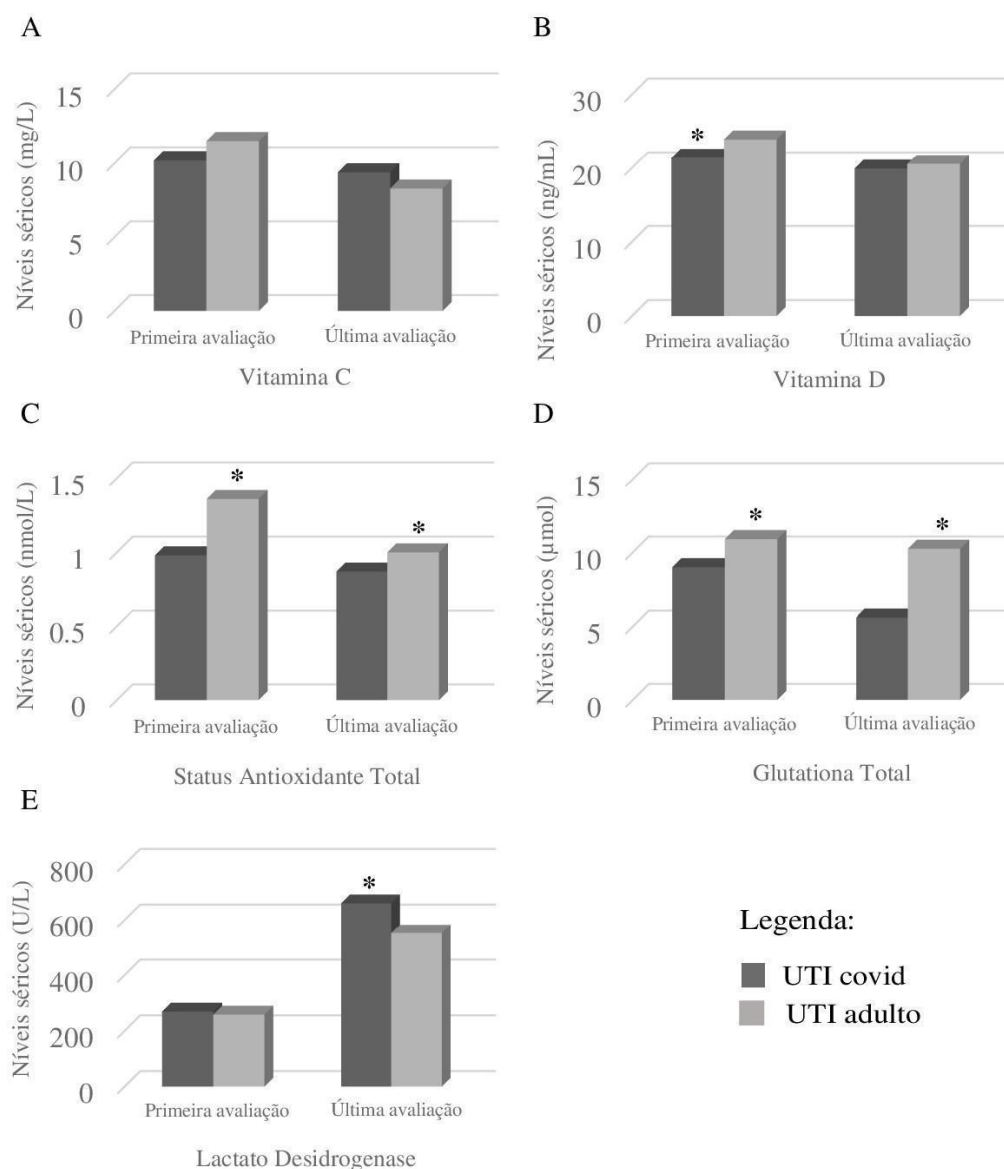


Figura 6A: Análises da vitamina C na primeira e última avaliação; figura 6B: Relação entre os níveis de vitamina D na primeira e última avaliação; figura 6C: Análise do SAT na primeira e última avaliação; figura 6D: Comparação entre os níveis de GSH na primeira e última avaliação; figura 6E: Níveis de LDH na primeira e última avaliação realizadas na UTI Covid e na UTI adulto. Dados expressos em MD(IC95%) e p-valor obtido pelo Teste de Mann-Whitney.

Legenda: SAT: Status Antioxidante Total; GSH: Glutathiona total; LDH: Lactato Desidrogenase; \*:  $p < 0,05$  quando comparado entre as unidades.

Considerando os instrumentos utilizados para a predição de mortalidade, o risco de apresentar um desfecho desfavorável através da primeira e última avaliação na UTI Covid foram de, respectivamente: APACHE II (8 e 24%), SAPS II (15,30 e 53%) e SOFA (0 e 21,50%), sendo que na UTI adulto foram, respectivamente: APACHE II (15 e 8%), SAPS II (32,60 e 6,15%) e SOFA (20,2 e 3,20%). Discorrendo dos achados conforme o processo de hospitalização, na UTI Covid, 57,1% apresentaram disfunções orgânicas em algum momento da internação, uma vez que a porcentagem na UTI adulto foi de 45,3%. Além disso, ao analisar

o desfecho clínico dos indivíduos avaliados, 60,4% dos internados na UTI Covid evoluíram a óbito, sendo que na UTI adulto a mortalidade foi de 39,6%.

## DISCUSSÃO

Através das análises obtidas dos 95 indivíduos, considerando o dano oxidativo da primeira e última avaliação, foi possível observar um aumento significativo no dano à proteína na última avaliação da UTI adulto e aumento na frequência de MN também nos indivíduos internados na UTI adulto tanto na primeira quanto na última avaliação. Em relação a defesa antioxidante houve uma redução de vitamina D na UTI Covid na primeira avaliação e um aumento de LDH na última avaliação, sendo que os indivíduos da UTI adulto apresentaram aumento significativo no SAT e Glutathione em ambos os momentos de avaliação.

Durante a análise do dano oxidativo, não era esperado um maior dano à proteína na última avaliação dos indivíduos internados na UTI adulto (Figura 3), contudo, isso indica que provavelmente o primeiro fator a ser alterado na Covid-19 é a cascata inflamatória e não o dano oxidativo e por isso esse dado não foi replicado na unidade Covid. Além disso, há grande relação entre o aumento na concentração de proteínas carboniladas e a sepse,<sup>9</sup> o que condiz com nossos achados, sendo que 45,3% dos avaliados na UTI adulto apresentaram quadro de sepse em algum momento da internação hospitalar, o que provavelmente contribuiu para esse dano.

Contribuindo com as análises do estresse oxidativo, a frequência de MN apresenta relação direta com a gravidade da disfunção, bem como com o desbalanço redox.<sup>10</sup> Conforme visualizado na Figura 5, houve um aumento significativo na contagem de MN na UTI adulto tanto na primeira quanto na última avaliação quando comparado com a UTI Covid. Levando em consideração que os MN estão diretamente relacionados com a gravidade do quadro e que indivíduos da UTI adulto apresentavam maior predição para quadro séptico no momento da internação, bem como elevado índice de mortalidade, acreditamos que essa seja a principal justificativa para esse dado.

Ademais, um dos mecanismos responsáveis pela formação dos MN é um defeito ou alteração em uma ou mais proteínas do aparelho mitótico<sup>11</sup> e provavelmente seja essa a justificativa para a relação entre o dano à proteína e a frequência de MN.<sup>10</sup> Presumindo isso e que houve um aumento no dano à proteína na última avaliação, era esperado que houvesse também um aumento significativo na contagem de MN nos indivíduos internados na UTI adulto, o que foi identificado ao compararmos os achados das duas UTIs (Figura 6). De forma contraditória, quando realizada uma comparação apenas na UTI adulto encontramos uma redução na frequência de MN na última avaliação (Figura 3), acredita-se que isso tenha ocorrido pela relação dos MN com o sistema imune, bem como pelo tratamento intensivo que os indivíduos receberam e confirmamos a hipótese ao analisarmos uma menor taxa de mortalidade na UTI adulto.

Um maior número de MN pode influenciar o sistema imunológico e resultar em uma resposta imune ineficaz, favorecendo a proliferação de vírus de RNA, além de amplificar a tempestade de citocinas induzindo células imunes a uma resposta exacerbada, fazendo com que órgãos infectados sejam ainda mais exigidos, podendo os levar a falência.<sup>11</sup> Esse cenário foi reproduzido na UTI Covid, onde foi possível visualizar um aumento na frequência de MN na última avaliação (Figura 1), correspondendo ao aumento da gravidade, o qual pode ser visualizado através do aumento na pontuação dos escores preditores de mortalidade. O presente achado reforça a relevância da avaliação e do acompanhamento rotineiro dos indivíduos através desses instrumentos, os quais podem identificar essas alterações e mensurar o risco de apresentarem um desfecho desfavorável, além de permitir com que uma intervenção possa auxiliar na correção dessa disfunção antes que a mesma agrave ainda mais.

A vitamina D apresenta efeitos antioxidantes, o que pode ser útil na atenuação dos sintomas da Covid-19, entretanto uma deficiência dessa vitamina está associada a

suscetibilidade e risco de mortalidade.<sup>12</sup> Nosso estudo encontrou uma redução significativa nas concentrações de vitamina D na UTI Covid na primeira avaliação, com uma mediana de 21,40, contra 23,90 da UTI adulto (Figura 6), o que pode ter contribuído para o desfecho clínico desfavorável dos indivíduos infectados pela doença. Há relação entre a redução nos níveis séricos de vitamina D com presença recorrente de processos infecciosos,<sup>13</sup> o que justifica a redução dessa vitamina encontrada na UTI adulto na última avaliação (Figura 4), visto que esse público foi aquele que apresentou maior índice de mortalidade na primeira avaliação, possivelmente em decorrência de diversos casos de disfunção orgânica. Isso se sustenta quando verificamos uma redução da vitamina C na última avaliação desses indivíduos, uma vez que há relação entre essa redução em pacientes que apresentaram quadro séptico.<sup>14</sup> Essa relação não foi visualizada na UTI Covid, pois a sepse ocorreu em maior parte durante o processo de internação e a alteração nos níveis séricos ocorrem após um período da disfunção e não de forma momentânea. Se outras análises fossem realizadas após a alta hospitalar, possivelmente encontraríamos essa mesma relação.

Apresentar um Status Antioxidante Total (SAT) mais elevado sugere uma resposta mais eficaz em relação a disfunções sistêmicas, tanto é que muitos estudam e sugerem a suplementação de antioxidantes para indivíduos que possuem doenças crônicas ou que há predisposição de evoluir de forma negativa.<sup>15,16</sup> Contribuindo ao achado, quando comparado os níveis de SAT entre as UTIs Covid e adulto, essa apresentou níveis mais elevados e apoiou um desfecho clínico mais favorável que aquela. Ao serem analisados os dados apenas da UTI adulto, houve um efeito contrário em relação a primeira e última avaliação, onde se observou uma queda nos níveis de SAT (Figura 4). Cabe ressaltar que nem sempre uma redução nos níveis séricos desse antioxidante significa um dano oxidativo, por vezes pode significar que o mecanismo de defesa executou sua função de forma eficaz<sup>17</sup> e acreditamos nessa resposta, em razão de obtermos um bom índice de recuperação, principalmente se relacionarmos com a UTI Covid.

A glutatona (GSH) é um antioxidante fisiológico com correlação positiva em alterações metabólicas, devido a sua importante função na recuperação celular e na eliminação de toxinas pela sua importância na manutenção do equilíbrio redox<sup>18</sup> e encontramos altos níveis de GSH na UTI adulto tanto na primeira, quanto na última avaliação (Figura 6). Níveis elevados no momento da internação são esperados pela gravidade desses pacientes e a permanência desses níveis pode ser pelo comprometimento celular e danos decorrente do processo de internação. Ainda, a vitamina D possui grande função reguladora sobre os níveis de GSH, podendo interferir em sua atividade e evitar complicações geradas pela sua desregulação,<sup>19</sup> sendo mais um fator que indica a suplementação como uma possível estratégia para amenizar as consequências geradas pelo estresse oxidativo. Contudo, embora haja grande associação entre elevados níveis de GSH e o estresse oxidativo, há condições patológicas que se manifestam com níveis reduzidos de GSH, como a DM e o câncer. Isso ocorre, pois níveis reduzidos de GSH estão relacionados a disfunção mitocondrial e de forma respectiva haverá o aumento de ERO e dessa forma haverá também o estresse oxidativo.<sup>18</sup>

Relacionado às lesões celulares, há associação com a gravidade da doença e elevadas concentrações de lactato desidrogenase (LDH), além deste ser um preditor de insuficiência respiratória em pacientes com Covid-19<sup>20</sup> e por isso, muitos estudos associaram altos níveis de LDH ao óbito<sup>21</sup>. Porém, não encontramos relação entre o aumento de LDH e o desfecho clínico, isso pode ser justificado pelo estágio da doença em que os níveis de LDH foram analisados, posto que, tanto indivíduos que sobreviveram, quanto aqueles que não sobreviveram à doença, apresentaram um aumento de LDH no estágio inicial e uma redução nesses níveis somente a partir do 13º dia de infecção.<sup>22</sup> Ainda assim, indivíduos com Covid-19 apresentaram maiores níveis de LDH na última avaliação do que pacientes internados na UTI adulto.

## CONCLUSÃO

Através do exposto, acreditamos que a maior gravidade no momento de admissão e um maior dano à proteína pelo processo de internação de indivíduos internados na UTI adulto pode estar relacionado à sepse e que o aumento na gravidade e mortalidade dos casos de indivíduos internados na UTI Covid pode sugerir que essa doença acarreta em um dano oxidativo tardio, com baixa taxa de recuperação.

## REFERÊNCIAS

1. Vanhorebeek I, Latronico N, Berghe GVD. ICU-acquired weakness. *Intensive Care Medicine*. 2020; 46(4):637–653. doi: <http://doi.org/10.1007/s00134-020-05944-4>
2. Pileggi CA, Hedges CP, D’Souza RF, Durainayagam BR, Markworth JF, Hickey, et al. Exercise recovery increases skeletal muscle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission and mitochondrial respiratory capacity following two-weeks of limb immobilization. *Free Radic Biol Med*. 2018; 124:241–248. doi: <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.012>
3. Romero-Cordero S, Noguera-Julian A, Cardellach F, Fortuny C, Morén C. Mitochondrial changes associated with viral infectious diseases in the paediatric population. *Review Med Virol* 2021; 31(6):e2232. doi: <http://doi.org/10.1002/rmv.2232>
4. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017:1-13. doi: <http://doi.org/10.1155/2017/8416763>
5. Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in enzymology* 1981; 77:373-382. doi: [http://doi.org/10.1016/s0076-6879\(81\)77050-2](http://doi.org/10.1016/s0076-6879(81)77050-2)
6. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analyt Biochemist* 1979; 95(2):351-358. doi: [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](http://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
7. Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* 2002; 32(9):790–796. doi: [http://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00765-7](http://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00765-7)
8. Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975; 31(1):9-15. doi: [http://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](http://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
9. Carr AC, Spencer E, Mackle D, Hunt A, Judd H, Mehrtens J, et al. The effect of conservative oxygen therapy on systemic biomarkers of oxidative stress in critically ill patients. *Free Radic Biol Med* 2020; 160:13–18. doi: <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.018>
10. Deo P, Fenech M, Dhillon VS. Association between glycation biomarkers, hyperglycemia, and micronucleus frequency: A meta-analysis. *Mutat Res* 2021; 787:108369. doi: <http://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108369>
11. Kirsch-Volders M, Fenech M. Inflammatory cytokine storms severity may be fueled by interactions of micronuclei and RNA viruses such as COVID-19 virus SARS-CoV-2. A hypothesis. *Mutat Res* 2021; 788:108395. doi: <http://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108395>

12. Las Heras N, Giménez VMM, Ferder L, Manucha W, Lahera V. Implications of Oxidative Stress and Potential Role of Mitochondrial Dysfunction in COVID-19: Therapeutic Effects of Vitamin D. *Antioxidants* 2020;9(9):897. doi: <http://doi.org/10.3390/antiox9090897>
13. Muntean C, Săsăran M. Vitamin D Status and Its Role in First-Time and Recurrent Urinary Tract Infections in Children: A Case-Control Study. *Children* 2021;8(5):419. doi: <http://doi.org/10.3390/children8050419>
14. Spencer E, Rosengrave P, Williman J, Shaw G, Carr AC. Circulating protein carbonyls are specifically elevated in critically ill patients with pneumonia relative to other sources of sepsis. *Free Radic Biol Med* 2022; 179:208–212. doi: <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.11.029>
15. Zhong, O., Hu, J., Wang, J., Tan, Y., Hu, L., & Lei, X. (2022). Antioxidant for treatment of diabetic complications: A meta-analysis and systematic review. *J Biochem Mol Toxicol* 2022; 36(6):e23038. doi: <http://doi.org/10.1002/jbt.23038>
16. Hertiš Petek T, Petek T, Močnik M, Marčun Varda N. Systemic Inflammation, Oxidative Stress and Cardiovascular Health in Children and Adolescents: A Systematic Review. *Antioxidants* 2022; 11(5):894. doi: <http://doi.org/10.3390/antiox11050894>
17. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova*. 2007; 30(5):1323–1338. doi: <http://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500046>
18. Teskey G, Abraham R, Cao R, Gyurjian K, Islamoglu H, Lucero M, et al. Chapter Five - Glutathione as a Marker for Human Disease. *Adv Clin Chem* 2018; 87:141–159. doi: <http://doi.org/10.1016/bs.acc.2018.07.004>
19. Gu J, Wu Y, Huang W, Fan X, Chen X, Zhou B, et al. Effect of vitamin D on oxidative stress and serum inflammatory factors in the patients with type 2 diabetes. *J Clin Lab Anal* 2022; 36(5):e24430. doi: <http://doi.org/10.1002/jcla.24430>
20. Poggiali E, Zaino D, Immovilli P, Rovero L, Losi G, Dacrema A, et al. Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in COVID-19 patients. *Clin Chim Acta* 2020; 509:135–138. doi: <http://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.012>
21. Wang L, Yang LM, Pei SF, Chong YZ, Guo Y, Gao XL, et al. CRP, SAA, LDH, and DD predict poor prognosis of coronavirus disease (COVID-19): a meta-analysis from 7739 patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2021; 81(8):679–686. doi: <http://doi.org/10.1080/00365513.2021.2000635>
22. Zou X, Li S, Fang M, Hu M, Bian Y, Ling J, et al. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II Score as a Predictor of Hospital Mortality in Patients of Coronavirus Disease 2019. *Critical Care Med* 2020; 48(8):e657–e665. doi: <http://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004411>.

Recebido em: 02/04/2024.

Aceito em: 14/02/2025.