



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Larissa Rodrigues Pereira Santi

**Caracterização da expressão gênica do sistema renina-
angiotensina em pacientes com SARS-CoV-2 tratados ou
não com drogas anti-hipertensivas na presença e ausência
de comorbidades associadas**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em
Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Prof^o Dr^o Carlos Ferreira dos Santos

**Botucatu
2022**

Larissa Rodrigues Pereira Santi

CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA EM PACIENTES COM SARS-CoV-2 TRATADOS OU NÃO COM DROGAS ANTI-HIPERTENSIVAS NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE COMORBIDADES ASSOCIADAS

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Prof^o Dr^o Carlos Ferreira dos Santos

**Botucatu
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santi, Larissa Rodrigues Pereira.

Caracterização da expressão gênica do sistema renina-angiotensina em pacientes com SARS-CoV-2 tratados ou não com drogas anti-hipertensivas na presença e ausência de comorbidades associadas / Larissa Rodrigues Pereira Santi.
- Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Carlos Ferreira dos Santos
Capes: 40101096

1. Sistema renina-angiotensina. 2. Reação em cadeia da polimerase. 3. Expressão gênica. 4. Anti-hipertensivos. 5. COVID-19 (Doença). 6. SARS-CoV-2.

Palavras-chave: COVID-19; SARS-CoV-2; Sistema renina-angiotensina.

Larissa Rodrigues Pereira Santi

CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA EM PACIENTES COM SARS-CoV-2 TRATADOS OU NÃO COM DROGAS ANTI-HIPERTENSIVAS NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE COMORBIDADES ASSOCIADAS

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Prof^o Dr^o Carlos Ferreira dos Santos

Comissão examinadora:

Prof^a Dr^a Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) - Botucatu

Prof^a Dr^a Ana Carla Pereira Latini
Instituto Lauro de Souza Lima - Bauru

Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratórios Regionais - Bauru

Botucatu, 08 de setembro de 2022

Dedicatória

Gostaria de dedicar essa pesquisa, primeiramente, a todos os pacientes que, de alguma forma, colaboraram com o estudo, também gostaria de dedicar à todos os profissionais, professores e alunos que trabalharam intensamente na linha de frente para combater e estudar essa doença, à todos que trabalharam na coleta das amostras, nos laboratórios, nas análises, a todos que deixaram de lado o medo de contágio da doença para poder ajudar a população.

Em especial gostaria de dedicar esse trabalho a toda equipe de extração e análise da FOB-USP e do Instituto Adolfo Lutz e aos professores Virgínia Bodelão e Carlos Ferreira dos Santos, que encararam esse desafio com maestria e muita dedicação. A ajuda e união de todos fizeram com que esse trabalho árduo valesse a pena.

E por fim gostaria de dedicar a conclusão deste trabalho à minha família que esteve ao meu lado em todo momento, acreditando em mim.

Aos meus pais Luiz e Luciana e ao meu irmão Lucas, que me incentivaram e não deixaram eu desistir, à minha querida Vó Neise que esteve ao meu lado me ajudando em vários momentos, ao meu noivo Davi que me deu todo apoio para realizar esse projeto.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos que me ajudaram para que este trabalho se concretizasse, especialmente:

Ao meu coorientador, professor Drº Carlos Ferreira dos Santos (CROSP 49.884) por ter confiado essa pesquisa a mim e por ter me dado todo suporte necessário e a minha orientadora Profª Drª Virgínia Bodelão Richini Pereira (CRBIO nº 035147/01 D), que também acreditou no meu potencial e me orientou com maestria. Agradeço a eles por toda ajuda e ensinamento.

Gostaria de agradecer imensamente a toda equipe multidisciplinar que foi treinada para a realização desse projeto:

Ao especialista de Laboratório, Drº Thiago José Dionísio (CROSP 3268) e a Especialista de Laboratório, Drª Marina Morettin Zupelari (CRFa 13827), agradeço por toda disponibilidade e ensinamento na parte de análise laboratorial.

À bióloga Drª Elza Araújo Torres (CRBio 270501/01- D) que nos auxiliou muito em relação aos documentos necessários, principalmente, em relação ao CEP. Agradeço à técnica de Laboratório Viviane Aparecida Parisi (CROSP 4059) e à Bióloga e doutora Thais Francini Garbieri (CRBio 97568/01-D) por toda ajuda e aprendizado na área de extração do material genético. Agradeço também à Biomédica e doutoranda Gabriela de Moraes Oliveira (CRBM/SP: 27846), à Dentista e doutoranda Isadora Prado Cano (CROSP:116831), à especialista em laboratório do departamento de bioquímica da FOB/USP Thelma Lopes Silva, ao Alexandre Simões Garcia, técnico de laboratório no setor de radiologia e estomatologia FOB/USP e aos demais colegas que nos auxiliaram em todo esse processo. À médica pneumologista e Diretora Executiva do Hospital Estadual de Bauru, Drª Deborah Maciel Cavalcanti Rosa (CRM/SP107135 / RQE 51303) que nos auxiliou em relação aos prontuários dos pacientes.

Agradeço ao Instituto Adolfo Lutz pela parceria para realização deste trabalho.

Agradeço ao CEP por ter aprovado a análise das amostras dos pacientes.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.508433/2020-00.

Gostaria de agradecer aos professores Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf e Profº Drº Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza pelas contribuições científicas na banca da minha qualificação.

Sou imensamente grata aos meus pais que me incentivaram e apostaram em mim para realização dessa pesquisa, ao meu pai que me ajudou na elaboração das planilhas. Agradeço por conhecer cada um e por crescer tanto como pessoa e como profissional, foi uma experiência única, bem cansativa mas muito enriquecedora.

RESUMO

No início de 2020 a população mundial enfrentou um momento crítico, devido à *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19), doença que tem como agente causal o *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) que proporcionou vários desafios, afetando a saúde pública e também sistemas econômicos e padrões socioculturais. A Enzima Conversora de Angiotensina (ECA 2), um importante componente do Sistema Renina-Angiotensina (SRA), está relacionada ao processo de infecção do vírus às células do hospedeiro e diferenças em seus níveis de expressão nos diferentes tecidos podem contribuir com a capacidade de infecção do SARS-CoV-2. O objetivo do presente projeto foi caracterizar a expressão gênica, por RT-PCR em tempo real, dos componentes do SRA em pacientes: G1A: Positivos que fazem uso de fármacos anti-hipertensivos atuantes no SRA (tais como antagonistas dos receptores AT1, inibidores da ECA e da Renina) (n=47); G1B: Positivos que não fazem uso (n=49); G2A: Negativos que fazem uso (n=50); G2B: Negativos que não fazem uso (n=50), no momento do diagnóstico laboratorial e relacionar às informações dos registros clínicos como idade, sexo, desenvolvimento do quadro clínico para cura ou óbito, comorbidades associadas, em amostras que foram coletadas no Hospital Estadual de Bauru (HE). Os resultados mostraram um aumento da expressão do receptor MAS e da protease TMPRSS2 em pacientes positivos para COVID-19 que não utilizavam fármacos anti-hipertensivos e para *FURIN* a expressão foi aumentada nos pacientes sob tratamento anti-hipertensivo, não havendo diferença entre os pacientes positivos ou negativos. Em relação aos parâmetros analisados, foi possível identificar que as comorbidades, com destaque para a hipertensão arterial sistêmica, contribuem para um maior risco no agravamento do quadro clínico da infecção por COVID-19. Porém, o uso de terapia anti-hipertensiva com inibidores da ECA (iECAs) e antagonistas dos receptores (ARBs) não influenciou na expressão gênica dos componentes do SRA e desta forma foi possível uma melhor compreensão dos eventos moleculares relacionados à infecção e desenvolvimento da COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, Sistema Renina-Angiotensina, Reação em Cadeia da Polimerase, Transcrição Reversa.

ABSTRACT

At the beginning of 2020, the world population faced a critical moment, due to the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a disease that has the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as its causal agent, which has provided several challenges, affecting the public health and also economic systems and sociocultural patterns. The Angiotensin Converting Enzyme (ACE 2), an important component of the Renin-Angiotensin System (RAS), is related to the process of virus infection to host cells and differences in their expression levels in different tissues may contribute to the ability to SARS-CoV-2 infection. The objective of the present project was to characterize the gene expression, by real-time RT-PCR, of the RAS components in patients: G1A: Positives who use antihypertensive drugs acting on the RAS (such as AT1 receptor antagonists, ACE and Renin) (n=47); G1B: Positives that do not use (n=49); G2A: Negatives that make use (n=50); G2B: Negatives that do not use (n=50), at the time of laboratory diagnosis and report to information from clinical records such as age, sex, development of the clinical condition for cure or death, associated comorbidities, in samples that were collected at the State Hospital from Bauru (HE). The results showed an increase in the expression of the MAS receptor and the TMPRSS2 protease in positive patients for COVID-19 who did not use antihypertensive drugs, and for *FURIN* the expression was increased in patients under antihypertensive treatment, with no difference between positive patients. or negative. Considering the parameters analyzed, it was possible to identify that comorbidities, especially systemic arterial hypertension, contribute to a greater risk of worsening the clinical picture of COVID-19 infection. However, the use of antihypertensive therapy with ACE inhibitors (ACE inhibitors) and receptor antagonists (ARBs) did not influence the gene expression of the RAS components and, in this way, a better understanding of the molecular events related to the infection and development of COVID-19 was possible.

Key-words: COVID-19, SARS-CoV-2, Renin-Angiotensin System, Polymerase Chain Reaction, Reverse Transcription.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	16
2.1. Primário	16
2.2. Secundário	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Aspectos éticos	18
3.2. Amostras e infraestruturas laboratoriais	18
3.3. Isolamento e purificação do RNA viral	20
3.4. Reação de RT-PCR em tempo real para identificação do SARS-CoV-2	20
3.5. Separação dos pacientes em grupos	22
3.6. Reação de PCR para os componentes do SRA	23
3.7. Análise estatística	24
4. RESULTADOS	27
4.1. Caracterização das amostras de COVID-19	27
4.2. Caracterização expressão gênica do Sistema Renina-Angiotensina	31
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	43
7. INTERCORRÊNCIAS	45
8. REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	54

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Coronavírus (CoVs) são membros da família Coronaviridae e representam um grupo diversificado de vírus capazes de causar infecções respiratórias e intestinais em humanos e animais (CUI *et al.*, 2019). No entanto, nas últimas décadas, alguns coronavírus altamente patogênicos, como o SARS-CoV e o *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV), surgiram causando doenças respiratórias graves com alta taxa de mortalidade e contaminação por volta dos anos de 2002 e 2012, respectivamente (GUO *et al.*, 2020; PINTO *et al.*, 2020; GORBALENYA *et al.*, 2020; WHO Interim Guidance 2020).

Em dezembro de 2019, os primeiros casos de uma pneumonia de etiologia desconhecida foram reportados em Wuhan (Hubei, China) (GUO *et al.*, 2020; LU *et al.*, 2020). O agente causal foi nomeado pelo *Coronavírus Study Group* (CSG) do *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como SARS-CoV-2. A doença foi denominada COVID-2019 pela OMS, que rapidamente se espalhou por diversos outros países e se transformou em uma pandemia global em 2020 (GUAN *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020; WHO, 2020). A infecção pelo SARS-CoV-2 pode variar de casos assintomáticos, oligossintomáticos, até quadros moderados, graves e críticos, sendo necessária atenção especial aos sinais e sintomas que indicam piora do quadro clínico que exijam a hospitalização do paciente (LONG *et al.*, 2022).

De acordo com a OMS, a maioria dos pacientes com COVID-19 (cerca de 80%) podem ser assintomáticos ou oligossintomáticos, cerca de 20% requerem atendimento hospitalar por dificuldade respiratória e, desses, aproximadamente 5% podem apresentar a forma crítica da doença, com complicações como falência respiratória, sepse e choque séptico, tromboembolismo e/ou falência múltipla de órgãos, incluindo lesão hepática ou cardíaca aguda e requerem cuidados intensivos (WHO, 2020).

O painel interativo de rastreamento de casos de COVID-19 em tempo real do *Center for Systems Science and Engineering* (CSSE) da Johns Hopkins University (JHU) (DONG *et al.*, 2020) informou que desde o início da pandemia

até julho de 2022 mais de 580 milhões de casos foram registrados no mundo, com mais de 6 milhões de mortes. No Brasil, foram confirmados mais de 34 milhões de casos e 680 mil óbitos. No Estado de São Paulo, os casos ultrapassaram 5,9 milhões e o número de óbitos 170 mil (SEADE, 2022).

Estudos a respeito das características epidemiológicas da COVID-19 revelaram condições e fatores de risco a serem considerados para possíveis complicações, tais como: idade igual ou superior a 60 anos, tabagismo, obesidade, miocardiopatias, hipertensão arterial, doença cerebrovascular, pneumopatias graves ou descompensadas, imunodepressão e imunossupressão, doenças renais crônicas em estágio avançado, diabetes, doenças cromossômicas com estado de fragilidade imunológica, neoplasia maligna, doença hepática crônica, algumas doenças hematológicas (CDC, 2020).

Porém, em decorrência da implementação das vacinas, iniciada em 2021, esse quadro se alterou. A vacinação, além de gerar proteção contra os sintomas graves da doença, diminuiu significativamente a propagação do vírus e consequentemente reduziu a taxa de infecção (VITIELLO *et al.*, 2021). Também é necessário considerar que mutações adaptativas no genoma viral aconteceram ao longo da pandemia, com o surgimento de variantes de preocupação (VOCs), tais como a *Alpha*, *Beta*, *Gamma*, *Delta* e *Ômicron*, associadas a maior transmissibilidade ou virulência, redução na neutralização por anticorpos e desta forma, ainda há dúvidas sobre o tempo de duração da imunidade natural ou obtida por meio da vacinação (ALEEM *et al.*, 2022; ZENG *et al.*, 2022).

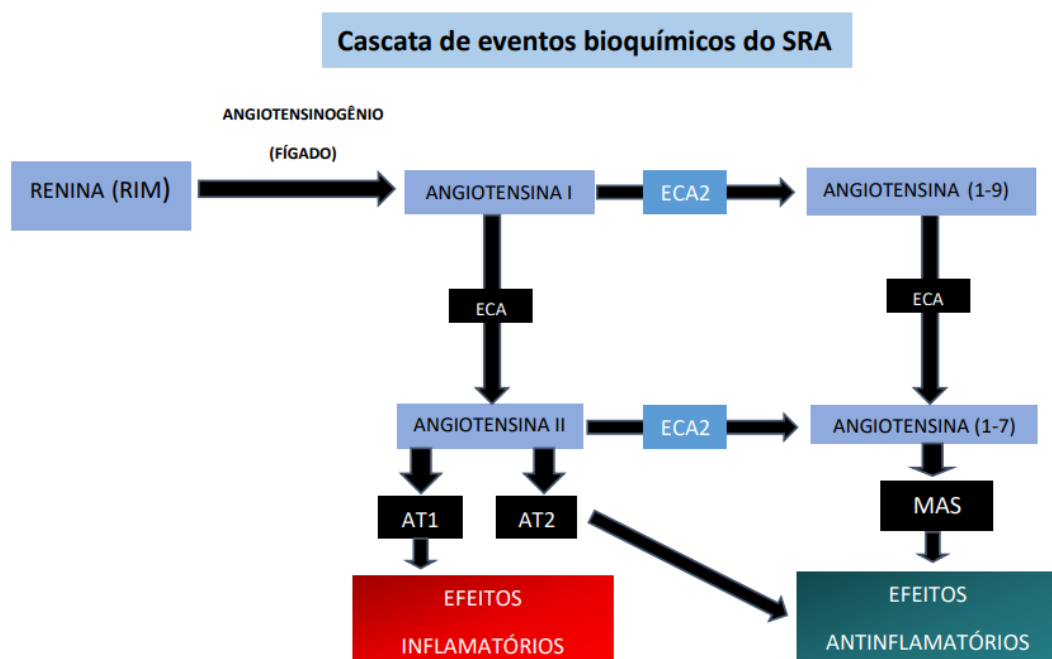
Alguns estudos demonstraram que certas comorbidades associadas contribuem para uma maior suscetibilidade a gravidade da doença e que o Sistema Renina-Angiotensina (SRA) desempenha uma participação importante, tanto na infecção pelo SARS-CoV-2, quanto na maioria das comorbidades associadas que parecem contribuir para uma evolução mais grave e intensa da doença e maior porcentagem dos casos de óbito, demonstrando seu grande envolvimento em ambas situações (INGRAHAM *et al.*, 2020; PINTO *et al.*, 2020; PATHANGEY *et al.*, 2021).

O SRA é conhecido, principalmente, por ser importante na regulação da pressão sanguínea e balanço eletrolítico. Além do SRA sistêmico, a existência

de SRA localmente em tecidos tem sido descrita, bem como, diversas outras funções vêm sendo atribuídas às moléculas deste sistema, como por exemplo na inflamação, participando de maneira endócrina, parácrina e autócrina (SANTOS *et al.*, 2015).

A cascata de eventos bioquímicos do SRA tem início com a liberação da renina (sintetizada nos rins) para a circulação, a qual atua clivando seu substrato, o angiotensinogênio (ANGT – liberado pelo fígado), no decapeptídeo Ang I ou Ang 1-10, ao qual não são atribuídas funções biológicas importantes. No entanto, quando clivado no octapeptídeo Ang II ou Ang 1-8, por meio da ação da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), torna-se uma das moléculas-chave deste sistema, e que tem sua atuação por meio da ligação em seus receptores específicos AT1 e AT2. Tanto a Ang I quanto a Ang II servem como substrato para síntese de outra molécula importante deste sistema, a Ang 1-7, por meio da atuação da ECA2, presente principalmente no endotélio dos pulmões (HAMMING *et al.*, 2004; FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008; BENIGNI; CASSIS; REMUZZI, 2010) (Figura 1). Essa mesma proteína de membrana, ECA2, que faz parte do SRA, tem sido considerada facilitadora da ligação entre o SARS-CoV-2 e a célula hospedeira, sendo crucial no processo de infecção (ZHOU *et al.*, 2020)

Figura 1- Esquema de eventos bioquímicos que ocorrem na cascata do Sistema Renina-Angiotensina.



Especificando, o SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples, de sentido positivo e envelopado de gênero *Betacoronavirus*. Ele é composto pelas proteínas estruturais: nucleocapsídeo, membrana, envelope e spike (JACKSON *et al.*, 2022).

A proteína estrutural spike realiza uma ligação com o domínio receptor da enzima conservadora de angiotensina-2 (ECA-2), facilitando dessa forma a entrada do patógeno na célula-alvo. Porém, para que ocorra a replicação viral intracelular, é necessária a coexpressão de ECA-2 e de uma outra protease, denominada TMPRSS2, na superfície da célula hospedeira. Essas duas proteases que participam da entrada do vírus na célula hospedeira, além de estarem presentes no trato respiratório, também estão nas células miocárdicas, células renais, gastrointestinais, hepatobiliares, pancreáticas e até em células neurológicas, ou seja, isso pode explicar a lesão múltipla dos órgãos e consequentemente a presença de sintomas variados (GONZALES; SOUZA, 2020).

Há, ainda, outras proteases celulares sendo consideradas importantes na infecção da célula hospedeira, como a *Furin* (codificada pelo gene *FURIN*) (MILLET; WHITTAKER, 2015; KLEINE-WEBER *et al.*, 2018; HOFFMANN *et al.*, 2020).

Existem diversas classes de medicamentos que atuam em diferentes pontos da cascata do SRA, sejam inibidores da ECA (por exemplo o Captopril e Enalapril) ou antagonistas dos receptores da angiotensina (por exemplo Losartan e Olmesartan) (RIBEIRO; FLORÊNCIO, 2000). Muitas dúvidas têm sido levantadas sobre a utilização destes fármacos nos pacientes durante a infecção pelo SARS-CoV-2, se elas podem diminuir o processo de infecção das células hospedeiras ou até mesmo piorar esse processo de infecção, uma vez que podem aumentar a expressão de ECA2, como é o caso dos bloqueadores dos receptores da angiotensina II, ou até mesmo aumentar as lesões no epitélio pulmonar por conta de uma maior disponibilidade de Ang II que, ligada ao receptor AT1, exerce atividades pró-inflamatórias. É evidente essa divergência

na comunidade científica, onde alguns defendem o uso de bloqueadores do receptor da angiotensina II como terapêutica para reduzir a gravidade dos casos de COVID-19 e outros argumentam que o uso destes fármacos pode ser potencialmente prejudicial e sugerem até mesmo que estes fármacos sejam substituídas por outras classes (ESLER; ESLER, 2020; GURWITZ, 2020). Diante desse impasse científico, essa avaliação dos aspectos moleculares associados ao SRA relacionados aos dados clínicos dos pacientes diagnosticados com COVID-19 é de extrema valia.

Uma revisão sistemática com meta-análise, demonstrou que a expressão de ECA2 é aumentada em pulmões de pacientes com comorbidades associadas, infectados pelo SARS-CoV-2 e considerados casos mais graves em comparação aos casos controle. Esse estudo verificou, ainda, que os alvos IL-6 e INS (gene que codifica o hormônio insulina) estavam associados a todas as doenças pesquisadas (PINTO *et al.*, 2020). Neste mesmo trabalho, os autores também verificaram aumento da expressão de *NAD-dependent histone deacetylase Sirtuin 1* (SIRT1) em mais da metade dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise. Além de estar envolvido na sinalização de insulina (LIANG; KUME; KOYA, 2009) o SIRT1 também pode regular epigeneticamente a ECA2, sob condições de estresse de energia celular (CLARKE *et al.*, 2014), o que demonstra a ligação entre fatores moleculares relacionados ao diabetes, uma doença de acometimento importante na população mundial atual, e a expressão de componentes do SRA que parecem interferir na infecção pelo SARS-CoV-2 e no desenvolvimento dos casos mais graves de COVID-19.

Assim, ponderando todo o exposto e considerando que a pandemia de COVID-19 está em curso, destaca-se a necessidade de cooperação científica global no avanço da compreensão dos mecanismos envolvidos no SRA e o comportamento da expressão gênica dos componentes do SRA nestas células onde o vírus se encontra e associar ao desenvolvimento do quadro clínico dos pacientes acometidos ou não pelo SARS-CoV-2 e que fazem uso crônico ou não de fármacos que atuam no SRA. Vale salientar que a enzima ECA2, além dos outros componentes do SRA, foi encontrada em glândulas salivares em trabalho publicado pelo nosso grupo de pesquisa (CANO *et al.*, 2019), bem como em células epiteliais orais (XU *et al.*, 2020) e nasais humanas (SUNGNAK *et al.*,

2020).

Portanto, as hipóteses do presente estudo foram que, a expressão gênica dos componentes do SRA é modulada de maneira diferente em sujeitos positivos ou negativos para a COVID-19, diferindo ainda quanto às comorbidades associadas e medicamentos atuantes na cascata de eventos bioquímicos do SRA utilizados previamente o diagnóstico.

E pacientes que fazem uso de bloqueadores do receptor AT1 da Ang II ou inibidores da ECA, previamente ao diagnóstico da COVID-19, possuem desenvolvimento clínico menos favorável dos sintomas relacionados à COVID-19 em comparação àqueles que não fazem o uso, devido à maior disponibilidade de ECA2 nos pacientes em tratamento com estas drogas, colaborando dessa forma com a tomada de decisões médicas, se esses pacientes, que fazem uso de medicamentos atuantes no SRA, devem parar ou não de tomar esses medicamentos uma vez que positivaram para o SARS-CoV 2.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Primário

Caracterizar a expressão gênica dos componentes do SRA em pacientes positivos e negativos ao SARS-CoV-2, em células epiteliais da mucosa oral e nasal, relacionando essa expressão a informações dos registros clínicos como idade, sexo, desenvolvimento do quadro clínico para cura ou óbito, fármacos anti-hipertensivos, tais como antagonistas do receptor AT1 e inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina, utilizados previamente ao diagnóstico e durante o tratamento da COVID-19 e comorbidades associadas.

2.2. Secundário

(1) Verificar se há diferenças no padrão de expressão gênica dos componentes do SRA entre pacientes positivos e negativos para o SARS-CoV-2; **(2)** Determinar a porcentagem dos casos positivos e negativos, bem como severidade do desenvolvimento da COVID-19 em relação a: idade, sexo, período de internação, desenvolvimento do quadro clínico para cura ou óbito, uso de suporte ventilatório e comorbidades associadas. **(3)** Verificar a expressão gênica de outros alvos considerados importantes no processo de infecção por SARS-CoV-2, tais como *TMPRSS2*, *FURIN* e *SIRT1*.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo CAAE:32658720.4.0000.5417, número do parecer: 5.552.483 (Anexo 1).

3.2. Amostras e infraestruturas laboratoriais

O Instituto Adolfo Lutz, Centro de Laboratórios Regionais II Bauru (CLR II Bauru), constitui a rede regional de laboratórios para vigilância de vírus respiratórios e atende 38 municípios da região de Bauru (Figura 2), realizando o diagnóstico de SARS-CoV-2 para todos os casos suspeitos sintomáticos para síndrome gripal, casos graves, óbitos e surto em comunidade fechada ou semifechada. As amostras biológicas do trato respiratório superior foram coletadas pelos profissionais capacitados das unidades requisitantes, por meio de *swab* de nasofaringe e de orofaringe, colocados em tubo de tampa de rosca com 3 mL de solução fisiológica estéril ou meio de transporte viral. As amostras foram cadastradas no Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) e encaminhadas ao CLR II Bauru, juntamente com as fichas de notificação.

Figura 2 - Mapa com a localização dos 38 municípios do Centro-Oeste do estado de São Paulo atendidas pelo Instituto Adolfo Lutz de Bauru.



Em maio de 2020, com a habilitação do Instituto Lauro de Souza Lima (ILSL) e Laboratório de Farmacologia e Genética da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP), foi estabelecida na região a Plataforma de Laboratórios para o diagnóstico por RT-PCR (*Transcriptase Reverse – Polymerase Chain Reaction – transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase*) em tempo real, composta pelo CLR II Bauru, ILSL e FOB-USP, com uma logística bem definida para o recebimento, distribuição e processamento dos exames em tempo oportuno.

As amostras biológicas selecionadas para as análises correspondem ao período de coleta dos meses abril a setembro de 2020 e são provenientes do Hospital Estadual de Bauru (HEB), que é um dos principais centros de atendimento e tratamento da COVID-19 na região e desta forma foi possível obter as informações dos registros clínicos dos pacientes (Figura 3).

Figura 3 - Fluxograma com a caracterização das amostras de Covid-19, no período de abril a setembro de 2020.



3.3. Isolamento e purificação do RNA viral

O isolamento e purificação do RNA para fins de diagnóstico das amostras biológicas foi realizada utilizando o extrator e purificador de DNA e RNA (Extracta 96 – Locus) com o kit EXTRACTA KIT FAST – DNA e RNA Viral (MVXA-P096 FAST). Para a análise da quantidade e qualidade do RNA foi utilizado o espectrofotômetro Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). As leituras foram realizadas em comprimento de onda entre 260nm (A260) e 280nm (A280) e a concentração das amostras foi fornecida pelo equipamento em ng/μL. As amostras selecionadas foram as que apresentaram a qualidade de RNA total com a relação A260/280 entre 1,9 e 2,1.

3.4. Reação de RT-PCR em tempo real para identificação do SARS-CoV-2

A reação de RT-PCR em tempo real para o diagnóstico do SARS-CoV-2 foi realizada com o kit GeneFinder™-COVID-19-Plus-RealAmp (OSang Healthcare Co., Ltd.), que utiliza *primers* e sondas para a detecção do material genético do envelope viral (E), nucleocapsídeo viral (N) e gene da RNA polimerase (RdRp) e a RNase P humana utilizada como controle da extração do RNA. As reações foram realizadas no equipamento ViiA7 (Thermo Fisher Scientific, USA) e as condições de ciclagem foram: 50°C por 20 minutos para a transcrição reversa, 95°C por 5 minutos de desnaturação, seguido por 45 ciclos

de 95°C por 15 segundos de desnaturação, anelamento e extensão a 58°C por 1 minuto. Os resultados foram analisados no software QuantStudio™ Real-Time PCR v1.3 (Thermo Fisher Scientific, USA). A interpretação dos resultados está descrita no quadro 1.

Quadro 1 - Interpretação dos resultados da RT-PCR, realizado por meio do kit GeneFinder™-COVID-19-Plus-RealAmp (OSang Healthcare Co., Ltd.), adaptado da bula do kit.

SAR S- CoV -2 RdR p	SARS-CoV-2 N	SARS-CoV-2 E	RNase P	Interpretação do resultado	Relatório	Ações
+	+	+	+/-	SARS-CoV-2 detectado	POSITIVO	Relatar o resultado ao remetente e às autoridades de saúde apropriadas.
Se apenas um ou ambos os alvos forem positivos.		+/-	+/-	SARS-CoV-2 detectado	POSITIVO	Relatar o resultado ao remetente e às autoridades de saúde apropriadas.
-	-	+	+/-	SARS-CoV-2 é presumidamente positivo.	POSITIVO PRESUMIDO	A amostra é repetida a partir de RT-PCR. Se um resultado repetido permanecer “presumivelmente positivo”, informe o resultado ao remetente e às autoridades de saúde apropriadas.
-	-	-	+	SARS-CoV-2 não detectável.	NEGATIVO	Relatar o resultado ao remetente e às autoridades

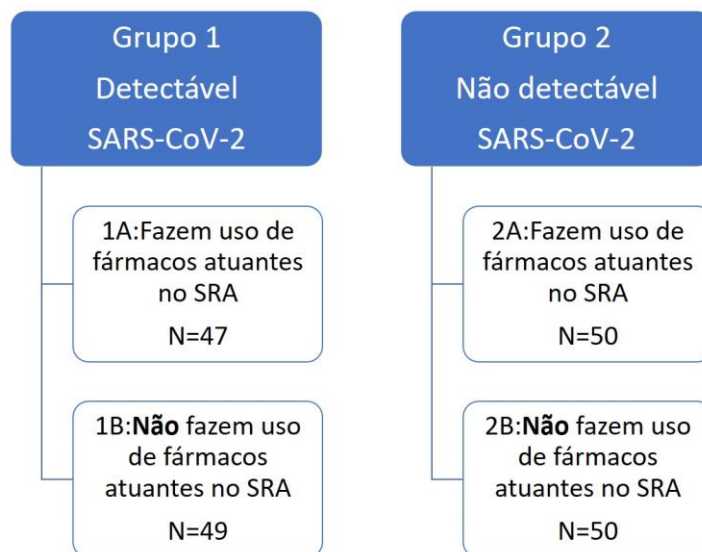
						de saúde apropriadas.
-	-	-	-	Resultado inválido	INVÁLIDO	Repetir a extração e RT-PCR. Se a amostra clínica adicional não estiver disponível, informe aos resultados inválidos que solicitarão a coleta de uma nova amostra, se clinicamente indicado.

Fonte: GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit - Instructions for Use

3.5. Separação dos pacientes em grupos

Após a identificação molecular da presença ou ausência do SARS-CoV-2, foi realizada a análise dos registros clínicos dos pacientes com a divisão dos grupos de casos **(1)** positivos e **(2)** negativos para SARS-CoV-2 conforme a figura 4, com a subdivisão daqueles que fizeram e fazem uso de medicamentos atuantes no SRA (tais como antagonistas dos receptores AT1, inibidores da ECA e da Renina) e os que não fazem uso destes medicamentos.

Figura 4 - Esquema de divisão dos grupos e subgrupos de casos do projeto.



Comorbidades associadas, tais como Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), enfisema, bronquite crônica, fibrose pulmonar idiopática, fibrose cística, diabetes (tipo 1, tipo 2 ou diabetes gestacional), insuficiência cardíaca, doença arterial coronariana, doenças cardíacas congênitas, cardiomiopatias, hipertensão pulmonar e casos de doenças renais crônicas, foram consideradas na interpretação dos resultados obtidos.

3.6. Reação de PCR para os componentes do SRA

O isolamento e a purificação do RNA foram realizados como demonstrado no item 3.3. Um estudo piloto foi realizado para identificar as concentrações de RNA total necessárias para as análises. O DNA complementar (cDNA) foi transcrito com o uso do kit *HighCapacity Reverse Transcription* (Thermo Fisher Scientific, USA) de acordo com as instruções do fabricante. A expressão quantitativa do RNAm para os componentes do SRA foi analisada por meio de PCR quantitativa, utilizando o sistema *TaqMan®* (Thermo Fisher Scientific, USA) em um equipamento ViiA7 (Thermo Fisher Scientific, USA). Para tanto, foram utilizados ensaios pré-fabricados e validados (Thermo Fisher Scientific, USA) para cada molécula da SRA, conforme listado no quadro 2.

Quadro 2 - Identificação dos ensaios inventariados dos genes alvo para análise de expressão gênica.

Ensaio	Número de catálogo
Beta-actina (gene de referência)	Hs99999903_m1
Angiotensinogênio	Hs01586213_m1
Renina	Hs01586213_m1
ECA	Hs01104604_m1
ECA-2	Hs01085333_m1
Receptor AT-1	Hs00258938_m1
Receptor AT-2	Hs02621316_s1
Receptor MAS	Hs01936726_s1
Renina	Hs01586213_m1
TMPRSS2	Hs01122329_m1
FURIN	Hs00965485_g1
SIRT1	Hs01009005_m1

Foram utilizados 2 µL de cDNA adicionado dos reagentes *Taqman™ Fast Advanced Master Mix* (Thermo Fisher Scientific, USA), com os *primers* e sondas determinados pelo fabricante, com volume final de reação de 5 µL. A reação de amplificação compreendeu 2 minutos a 50°C, 10 minutos a 95°C, quarenta e cinco ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C, conforme recomendado pelo fabricante. Os resultados foram analisados com base no valor de Ct (Cycle threshold), sendo este o ponto correspondente ao número de ciclos a partir do qual a amplificação atinge um dado limiar, permitindo a análise quantitativa da expressão gênica. Foi realizada a normalização em relação ao controle interno e então comparados os grupos, obtendo-se assim o cálculo do aumento da expressão, com a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

3.7. Análise Estatística

Para as análises estatísticas dos registros clínicos dos pacientes, tais como: as proporções de pacientes que precisaram ser internados, que usaram suporte ventilatório e risco de óbito, foi aplicado o teste de qui-quadrado, odds ratio e intervalo de confiança.

Para os resultados de expressão gênica foi utilizado o teste de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn's, uma vez que o teste de Shapiro Wilk revelou que os grupos não apresentaram distribuição normal. O nível de significância adotado foi de 5%.

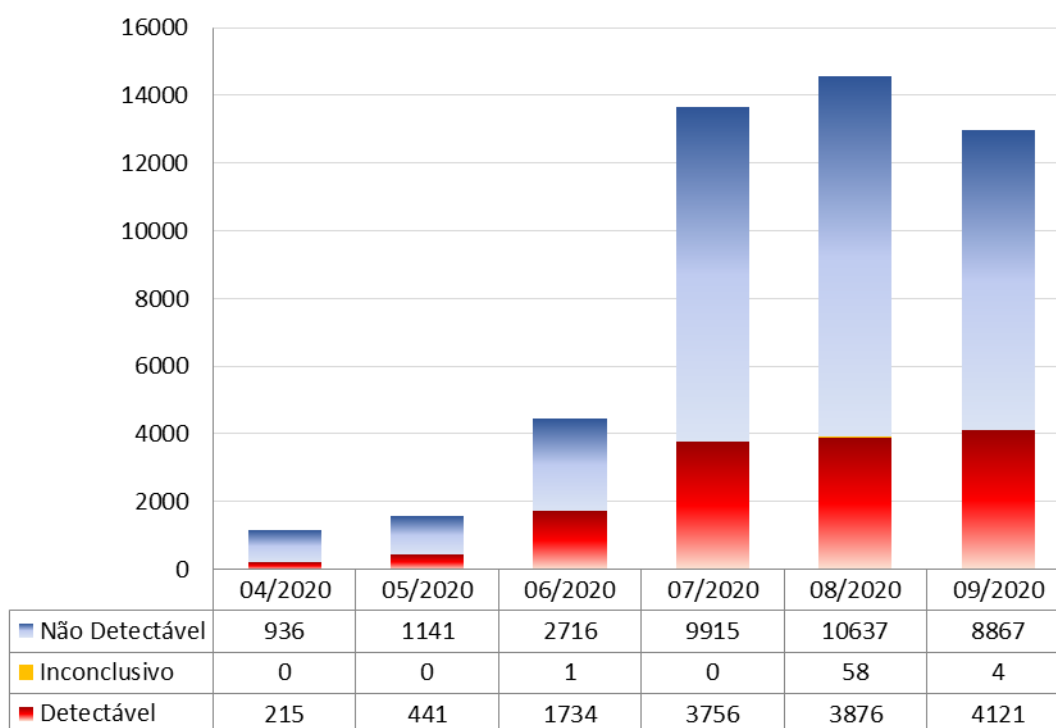
RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização das amostras de COVID-19

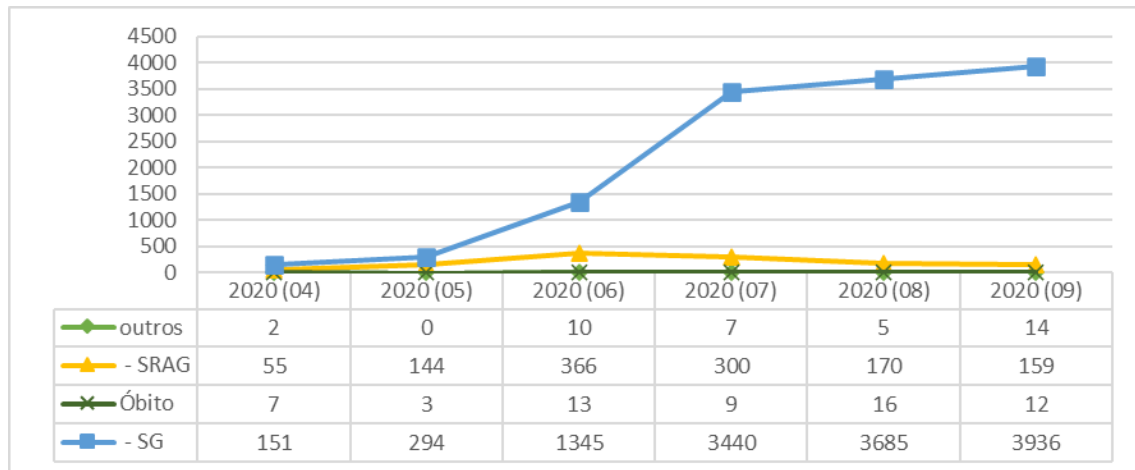
De abril de 2020 a setembro de 2020 foram analisadas 48.418 amostras de casos suspeitos de COVID-19. O material genético de SARS-CoV-2 foi detectado em 29,21% das amostras conforme demonstrado na figura 5.

Figura 5 - Distribuição das amostras analisadas no CLR II Bauru para o diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 no período de abril a setembro de 2020.



A figura 6 demonstra os resultados positivos por período, identificando os casos de SRAG, óbito, SG e outros (vigilância sentinela para vírus respiratórios, confirmação de inquérito e surtos em comunidade fechada ou semifechada).

Figura 6 - Distribuição dos casos positivos no período de abril a setembro de 2020 em relação à Síndrome Gripal, Síndrome Respiratória Aguda Grave, óbito e outros (vigilância sentinela para vírus respiratórios, confirmação de inquérito e surtos em comunidade fechada ou semifechada).



Na tabela 1, é possível observar a distribuição dos 196 pacientes da pesquisa, de acordo com o sexo e média de idade, em cada grupo de estudo: G1A- positivos que fazem uso de anti-hipertensivo com drogas atuantes no SRA, tais como inibidores da ECA (iECA) e antagonistas dos receptores AT1-ARBs (n = 47); G1B- positivos que não fazem uso de tratamento anti-hipertensivo (n = 49); G2A- Negativos com tratamento anti-hipertensivo (n = 50) e G2B- Negativos sem tratamento anti-hipertensivo (n = 50). Nos anexos 2 e 3, estão detalhados os pacientes individualmente.

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes participantes da pesquisa de acordo com o sexo e a média de idade em cada grupo de estudo. G1A: detectável para SARS-CoV-2 que fazem uso de fármacos atuantes no SRA; G1B- detectável para SARS-CoV-2 que não fazem tratamento com anti-hipertensivo (n = 49); G2A- Negativos com tratamento anti-hipertensivo (n = 50) e G2B- Negativos sem tratamento anti-hipertensivo (n = 50).

	G1A		G1B		G2A		G2B	
	N	MÉDIA IDADE S	N	MÉDIA IDADE S	N	MÉDIA IDADES	N	MÉDIA IDADES
	47	63	49	45	50	65	50	57
Masculino	21 (47%)	64	20 (41%)	50	20 (40%)	65	26 (52%)	56
Feminino	26 (53%)	63	29 (59%)	43	30 (60%)	65	24 (48%)	58

Chama a atenção o fato dos grupos sob tratamento anti-hipertensivo apresentarem percentuais maiores de pacientes com outras comorbidades, tais como diabetes mellitus, doença cardiovascular e pulmonar crônica, obesidade e tabagismo. Na tabela 2, é possível observar as comorbidades associadas aos pacientes dos quatro grupos do presente estudo.

Tabela 2 - Comorbidades associadas aos pacientes em pacientes positivos e negativos para COVID-19 sob tratamento ou não para hipertensão, em cada grupo de estudo. G1A: detectável para SARS-CoV-2 que fazem uso de fármacos atuantes no SRA; G1B- detectável para SARS-CoV-2 que não fazem tratamento com anti-hipertensivo (n=49); G2A- Negativos com tratamento anti-hipertensivo (n=50) e G2B- Negativos sem tratamento anti-hipertensivo (n= 50).

	G1A	G1B	G2A	G2B
HIPERTENSÃO	47 (100%)	2 (4%)	50 (100%)	4 (8%)
DIABETES MELLITUS	23 (49%)	2 (4%)	21 (42%)	5 (10%)
CARDIOPATA	2 (4%)	2 (4%)	7 (14%)	2 (4%)
DOENÇA CARDIOVASCULAR CRÔNICA	10 (21%)	2 (4%)	9 (18%)	7 (14%)
DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA (DPOC)	4 (8%)	0	5 (10%)	1 (2%)
PNEUMOPATIA CRÔNICA	1 (2%)	1 (2%)	2 (4%)	2 (4%)
OBESIDADE	11 (23%)	7 (14%)	9 (18%)	3 (6%)
ASMA	2 (4%)	0	1 (2%)	0
ARRITMIA CARDÍACA	1 (2%)	0	2 (4%)	0
TABAGISMO	5 (11%)	2 (4%)	11 (22%)	3
ETILISMO	1 (2%)	1 (2%)	2 (4%)	1 (2%)
IMUNODEFICIÊNCIA	0	3 (6%)	0	2
NEFROPATIA	1 (2%)	0	3 (6%)	1 (2%)
DOENÇA RENAL CRÔNICA	1 (2%)	1 (2%)	1 (2%)	1 (2%)
ANEMIA	2 (4%)	0	0	0

A tabela 3 demonstra que o risco de internação é significativa ($p = 0,017$) e três vezes maior (Odds ratio = 3,015 e intervalo de confiança de 1,24 a 7,72) nos casos positivos para COVID-19 com tratamento anti-hipertensivo, comparada aos pacientes positivos que não fazem o tratamento com os iECA e ARBs. A mesma situação quase se repete para os casos negativos para COVID-19, uma vez que a chance de internação para aqueles que fazem tratamento é de 2,85 vezes maior ($p = 0,07$ e intervalo de confiança de 1 a 8,25).

Tabela 3 - Risco de internação em pacientes positivos e negativos para COVID-19 sob tratamento ou não para hipertensão, em cada grupo de estudo. G1A: detectável para SARS-CoV-2 que fazem uso de fármacos atuantes no SRA; G1B- detectável para SARS-CoV-2 que não fazem tratamento com anti-hipertensivo (n = 49); G2A- Negativos com tratamento anti-hipertensivo (n = 50) e G2B- Negativos sem tratamento anti-hipertensivo (n = 50).

	INTERNAÇÃO		p	ODDS RATIO	INTERVALO DE CONFIANÇA
	SIM	NÃO			
G1A	37 (79%)	10 (11%)	0,02	3,015	1,24 a 7,72
G1B	27 (55%)	22 (45%)			
G2A	44 (88%)	6 (12%)	0,07	2,85	1 a 8,25
G2B	36 (72%)	14 (18%)			

A necessidade de suporte ventilatório durante o período de internação também é maior dentre os pacientes que fazem uso das medicações anti-hipertensivas, independentemente de estarem positivos ou não para COVID-19. Nota-se na Tabela 4, que a chance do uso de suporte ventilatório durante a internação é significativamente três vezes maior nos pacientes hipertensos, estando eles positivos ou negativos para COVID-19.

Tabela 4 - Necessidade de suporte ventilatório durante o período de internação em pacientes positivos e negativos para COVID-19 sob tratamento ou não para hipertensão, em cada grupo de estudo. G1A: detectável para SARS-CoV-2 que fazem uso de fármacos atuantes no SRA; G1B- detectável para SARS-CoV-2 que não fazem tratamento com anti-hipertensivo (n = 49); G2A- Negativos com tratamento anti-hipertensivo (n = 50) e G2B- Negativos sem tratamento anti-hipertensivo (n = 50).

	INVASIVO	USO DE SUPORTE VENTILATÓRIO		p	ODDS RATIO	INTERVALO DE CONFIANÇA
		NÃO INVASIVO	NÃO USOU			
G1A	3 (6%)	29 (62%)	15 (32%)	0,02	2,61	1,09 a 6,18
G1B	2 (4%)	20 (41%)	27 (55%)			
G2A	3 (6%)	36 (72%)	11 (22%)	0,01	3,02	1,30 a 7,14
G2B	2 (4%)	25 (50%)	23 (46%)			

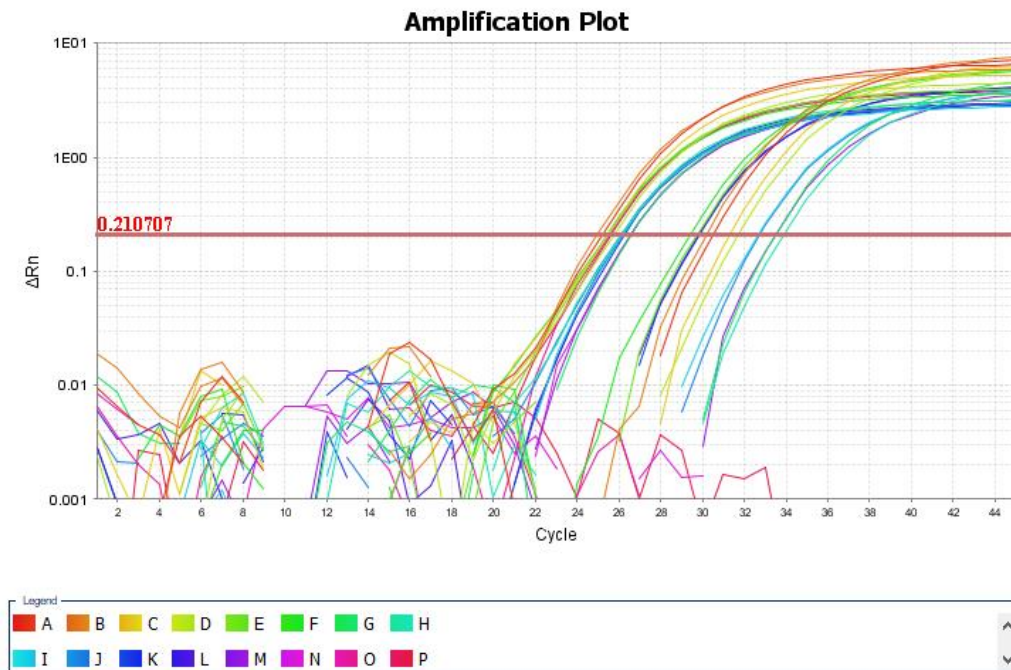
A chance de óbito dos pacientes é semelhante entre os grupos avaliados, ou seja, nenhuma diferença significativa foi encontrada independentemente de estarem positivos ou negativos para COVID-19 e/ou sob tratamento com os fármacos iECA e ARBs. Houve 23% de óbitos no grupo positivo para COVID-19 sob tratamento anti-hipertensivo e 14% para o grupo positivo sem tratamento. Já para o grupo de pacientes negativos para COVID-19 e sob tratamento ocorreu 12% de óbitos e para aqueles sem tratamento 14%.

O percentual de pacientes, sob tratamento, que fizeram uso dos inibidores da ECA (Captopril ou Enalapril) foi de 23% no grupo positivo e 28% no grupo negativo para COVID-19. Já o percentual de pacientes que fizeram o uso dos antagonistas dos receptores AT1 (Losartana ou Valsartana) foi de 77% no grupo positivo e 72% no grupo negativo para COVID-19.

4.2. Caracterização expressão gênica do Sistema Renina-Angiotensina

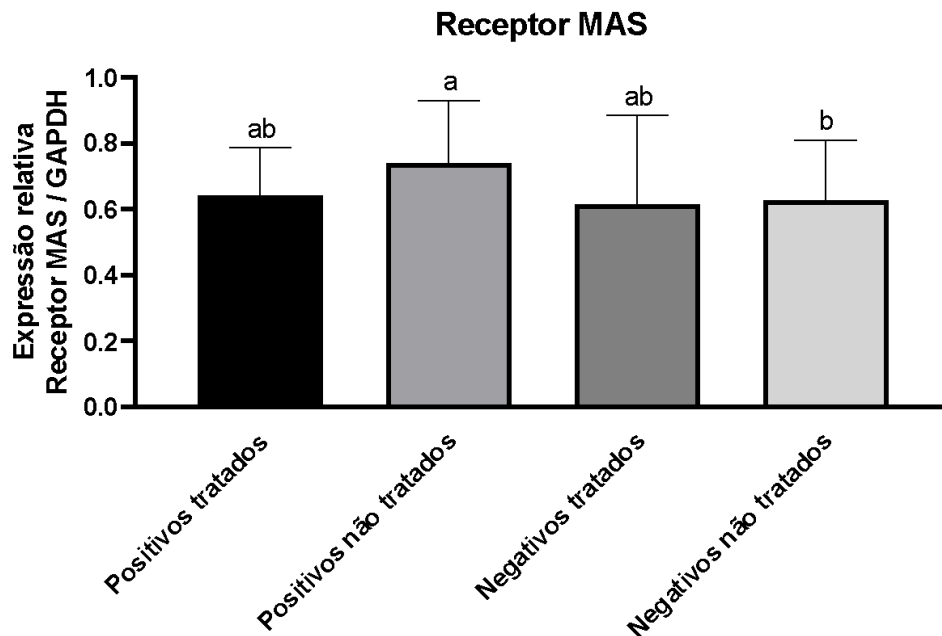
Um estudo piloto foi realizado para validar as concentrações de RNA viáveis para as análises de expressão gênica. Foram consideradas adequadas as concentrações entre 2 ng/μL e 20 ng/μL. A figura 7 demonstra a amplificação do receptor MAS em 7 amostras com baixa quantidade de RNA e 8 com concentrações próximas a 20 ng/μL.

Figura 7 - Análise de amplificação do gene alvo-receptor MAS, após a RT-PCR, na qual apresentou uma amplificação adequada nas amostras utilizadas.



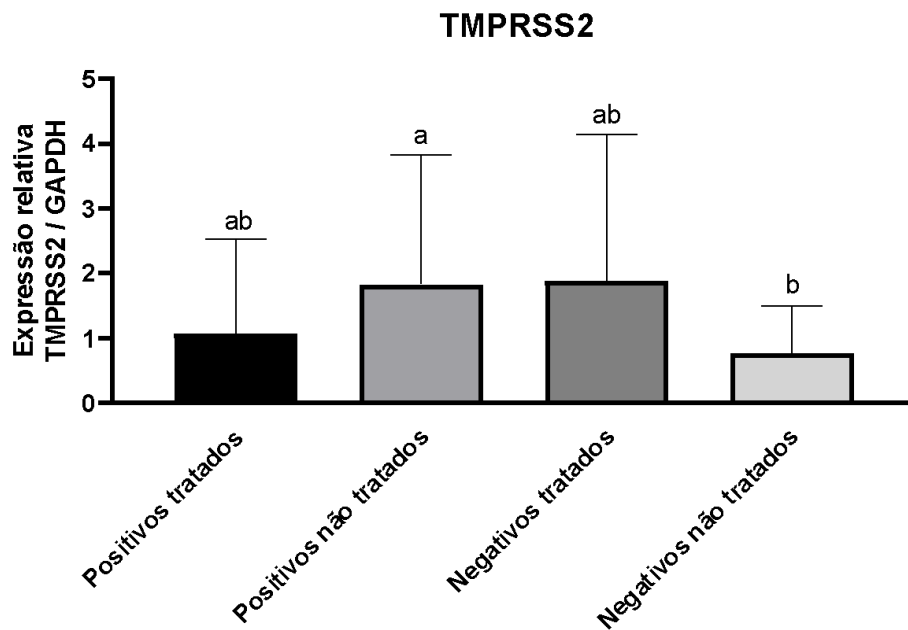
Os ensaios de expressão gênica foram realizados para todos os componentes do SRA, sendo o Angiotensinogênio, Renina, ECA, ECA-2 e Receptores AT1, AT2 e MAS. Contudo, houve a amplificação consistente somente para o receptor MAS, que revelou maiores expressões nos pacientes positivos para COVID-19 comparados aos negativos, ambos sem tratamento anti-hipertensivo. O uso dos iECAs e ARBs não influenciou na expressão gênica dos receptores MAS (Figura 8).

Figura 8 - Representação gráfica da expressão gênica do Receptor MAS nos diferentes grupos. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significantes.



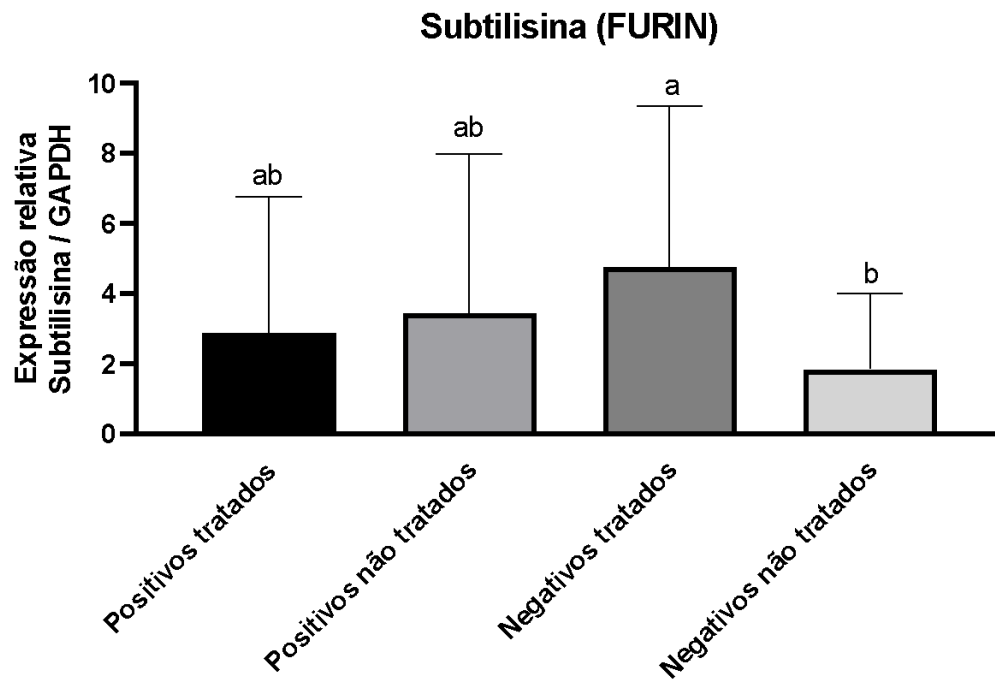
Em relação a SIRT1, não foi possível avaliar a expressão nas amostras analisadas. Os resultados moleculares em relação à protease transmembrana serina 2 (TMPRSS2) revelam que a expressão de RNAm dessas moléculas transportadoras de membrana, em células orofaríngeas, é maior nos pacientes positivos para COVID-19 sem tratamento anti-hipertensivo comparados aos negativos também não tratados. A comparação entre os grupos sob tratamento não demonstrou diferença significativa (Figura 9).

Figura 9 - Representação gráfica da expressão gênica do TMPRSS2 nos diferentes grupos. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significantes.



Outra protease importante para a invasão do SARS-CoV-2 é a Subtilisina, enzima codificada pelo gene chamado *Furin* em humanos. A expressão de RNAm para esta molécula está aumentada nos pacientes sob tratamento anti-hipertensivo comparada àqueles sem tratamento, porém nos pacientes negativos para COVID-19. O fato dos pacientes estarem positivos ou não para COVID-19 não influenciou na expressão deste gene (Figura 10).

Figura 10 - Representação gráfica da expressão gênica da *FURIN* nos diferentes grupos. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significantes.



DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A distribuição dos casos e óbitos por COVID-19 ao longo dos meses de abril a setembro de 2020 identificou o cenário epidemiológico inicial da pandemia na região de Bauru. Estudos anteriores já consolidaram esses padrões de distribuição espacial e a influência regional na dinâmica da COVID-19 no Estado de São Paulo (ALCANTARA *et al.*, 2020; DE ALMEIDA *et al.*, 2020; FORTALEZA *et al.*, 2021).

Em um estudo descritivo no estado de São Paulo, onde foram considerados somente os casos graves e óbitos confirmados para COVID-19, verificou-se a ocorrência de um pico epidêmico entre maio e julho de 2020 no Estado de São Paulo (LORENZ *et al.*, 2021). O diagnóstico molecular para SARS-CoV-2 era realizado até meados de maio de 2020, apenas em profissionais de saúde sintomáticos ou pacientes com Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) e óbitos. A ampliação do diagnóstico ocorreu posteriormente para população de sintomáticos para Síndrome Gripal (SG) com condições de risco para exposição e desenvolvimento de complicações nas infecções por COVID-19 e somente em julho de 2020 que houve a ampliação da testagem em todos os suspeitos sintomáticos, refletindo também o aumento de casos positivos na região de Bauru.

Com os resultados obtidos em relação ao sexo, das amostras selecionadas para as análises de expressão gênica, nota-se que, exceto o grupo de negativos que não fazem uso de medicamentos atuantes no SRA, todos os demais tiveram o número de pacientes femininos maior, em comparação aos masculinos. No estudo realizado pela UFMG, em 2020, foi relatado que 56% dos infectados no país são mulheres (NASCIMENTO *et al.*, 2020) e Martin *et al.* (2021) enfatizam que a taxa de infecção por COVID-19 foi maior em mulheres nas três ondas da pandemia, chegando a 65% das infecções durante abril e maio de 2020. Porém, Peckham *et al.* (2020) demonstram que não há diferença na proporção de homens e mulheres infectados, mas indicam que a idade é um fator importante no sistema imunológico entre os sexos.

Nos nossos estudos, verificamos que os pacientes de maior idade estão presentes nos grupos que fazem tratamento com medicamentos anti-

hipertensivos, tanto positivos quanto negativos, existindo assim uma correlação entre idade mais avançada e casos de hipertensão. Como foi relatada em uma revisão integrativa, realizada em 2021, há uma prevalência de HAS na faixa etária de 50 a 59 anos, tanto para o sexo masculino quanto para o sexo feminino, concluindo assim que a prevalência de HAS cresce com o aumento da idade (DOS SANTOS DIAS *et al.*, 2021). Lorenz *et al.* (2021), relataram que a população idosa representou um dos grupos mais propensos aos casos graves e óbitos por COVID-19 no estado de São Paulo, ocorrendo em pacientes acima de 80 anos (53%), situação semelhante aos dados da China e dos Estados Unidos. A presença de comorbidades e o status imunológico fisiologicamente mais debilitado dessa população são apontados como fatores associados.

Os pacientes positivos que fizeram ou fazem uso de medicamentos atuantes no SRA possuem três vezes mais risco de internação comparada aos positivos que não fazem tratamento, ou seja, a hipertensão é um fator de risco importante para a internação. Vários estudos demonstram que a hipertensão está fortemente associada à gravidade da doença COVID-19 e até à mortalidade (DU *et al.*, 2021; DENG *et al.*, 2021; MAHAMAT-SALEH *et al.*, 2021; TADIC *et al.*, 2021).

A necessidade de suporte ventilatório durante o período de internação também foi três vezes maior dentre os pacientes que fazem uso das medicações anti-hipertensivas, independentemente de estarem positivos ou não para COVID-19. Em uma revisão realizada sobre hipertensão e COVID-19, após a análise de 13 estudos, três deles demonstraram que os pacientes que desenvolveram um quadro mais grave da doença correspondiam ao grupo de hipertensos e quatro estudos indicaram que os pacientes que necessitaram de unidade de terapia intensiva como o uso de ventilação mecânica invasiva e não invasiva foram os pacientes que tinham hipertensão (RIBEIRO *et al.*, 2022).

Sobre os medicamentos utilizados, os resultados mostraram que em comparação com inibidores da ECA (IECA) (Captopril ou Enalapril) e os antagonistas dos receptores (ARBs) (Losartan, Valsartana, Olmesartana) há um percentual muito maior de uso dos ARBs, principalmente o Losartan, que possui um perfil de tolerabilidade e boa eficácia, principalmente em pacientes idosos (SIMPSON; McCLELLAN, 2000).

Outra correlação importante é que os pacientes que faziam o tratamento com anti-hipertensivo são os que mais possuem outras comorbidades, tais como diabetes mellitus, doença cardiovascular e pulmonar crônica, obesidade e tabagismo. A junção dessas diferentes comorbidades em um mesmo indivíduo ocasiona uma amplificação da resposta inflamatória e provoca o agravamento do quadro clínico (CODO *et al.*, 2020; GASMI *et al.*, 2021).

A chance de óbito dos pacientes foi semelhante entre os grupos avaliados, ou seja, não houve diferença significativa encontrada, independentemente de estarem positivos ou negativos para COVID-19 e/ou sob tratamento com os fármacos iECA e ARBs. Desta forma, mesmo com os estudos demonstrando o impacto da pandemia em relação à mortalidade diretamente relacionada à COVID-19, pode-se sugerir que os óbitos em pacientes negativos estejam relacionados a outras doenças respiratórias, cardiovasculares, diabetes, câncer, entre outras (KONTOPANTELIS *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2022). Além disso, estudos demonstram que a mortalidade intra-hospitalar não está associada diretamente ao uso de medicamentos para tratamento de hipertensão, mas está relacionada a: idade >65 anos, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, arritmia cardíaca, doença pulmonar obstrutiva crônica e tabagismo (MEHRA *et al.*, 2020).

A entrada do coronavírus na célula ocorre por meio de dois eventos de clivagem da proteína spike (S): A primeira etapa se dá pela ligação da proteína ECA2 (enzima conversora de angiotensina 2), encontrada, em níveis mais altos, nas vias aéreas superiores; essa ligação induz alterações conformacionais na subunidade S1 expondo assim o sítio de clivagem S2', encontrada na S2. A segunda etapa da entrada do vírus nas células acontece por meio da ligação do S2' com a proteína transmembrana TMPRSS2; essa clivagem expõe o peptídeo, fazendo com que ocorra a sua fusão para dentro da membrana alvo (JACKSON *et al.*, 2022).

A entrada do SARS-CoV-2 na célula humana promove o esgotamento da ECA2, porém como essa enzima é essencial nas cascatas de eventos do SRA, sua diminuição consequentemente provoca uma diminuição da produção de angiotensina (1-7 e 1-9) e, portanto, há uma estimulação diminuída do receptor MAS (STECKELINGS *et al.*, 2020).

Em decorrência disso, há um favorecimento da concentração de angiotensina II livre que causa injúrias nos tecidos, efeitos adversos e potencializa a lesão pulmonar. Por outro lado, estudos apontam que o receptor AT2, similar ao AT1, também faz ligação com angiotensina II. Porém, ao contrário do receptor AT1, quando a angiotensina II se liga ao AT2 causa efeitos anti-inflamatórios, ou seja, o receptor AT2 tem participação no SRA protetor, equivalente ao receptor MAS (VERDECCHIA *et al.*, 2020; HALLOW; DAVE, 2021).

Há relatos que a estimulação do AT2 faz com que ocorra um aumento da expressão de outros componentes do SRA, ou seja, como se houvesse um *feedback* positivo dentro do SRA protetor. Como por exemplo, a estimulação de AT2 leva a um aumento de ECA2 e consequentemente um aumento de Ang (1-7 e 1-9), aumentando dessa forma ações anti-inflamatórias e protetoras. Se há um aumento de Ang (1-7), desse modo ocorre um aumento do estímulo do receptor MAS no organismo (STECKELINGS *et al.*, 2020), podendo isso ser a explicação dos nossos resultados que mostraram que a expressão do receptor MAS foi superior nos pacientes positivos para COVID-19 em relação aos negativos não tratados. Porém não houve diferença em relação ao uso dos iECAs e ARBs.

A TMPRSS2 é uma protease, encontrada principalmente nos epitélios gastrointestinal, respiratório e urogenital (SZABO; BUGGE, 2008). Muitas células das vias aéreas que expressam ECA2 expressam também a TMPRSS2 (LUKASSEN *et al.*, 2020). Dados na literatura já demonstram que a expressão de TMPRSS2 está relacionada à sua participação efetiva na entrada do vírus na célula (HOFFMAN *et al.*, 2020; LUKASSEN *et al.*, 2020). Nossos resultados demonstraram uma maior expressão dessa protease nos pacientes positivos que não faziam uso de fármacos anti-hipertensivos e reforçam os achados de estudos recentes que indicam que o prognóstico de pacientes hipertensos com COVID-19 não é alterado naqueles que fizeram o uso de fármacos iECAs e ARBs em comparação com os pacientes que não fizeram uso dessas medicações (LOPES *et al.*, 2020; BARAL *et al.*, 2021; SEMENZATO *et al.*, 2021; SOUSA *et al.*, 2022).

Outra proteína transmembrana que tem participação importante na entrada do vírus na célula é a *FURIN*. Ela colabora com a clivagem da proteína S pela TMPRSS2, facilitando a ligação ao ECA2 e consequentemente contribui indiretamente para que o vírus realize a fusão na membrana (PEACOCK *et al.*, 2021; TORRES-FUENTES *et al.*, 2021; TAKEDA, 2022).

Nossos resultados indicaram que a expressão da *FURIN* foi aumentada nos pacientes negativos, sob tratamento anti-hipertensivo em relação aos negativos sem tratamento, mas não houve diferença entre os pacientes positivos ou negativos para COVID-19. Singh *et al.* (2021) relataram que o aumento da expressão de *FURIN* pode estar relacionada a comorbidades associadas à COVID-19, porém não chegaram a uma conclusão definitiva. Alguns polimorfismos funcionais podem levar a furina a não realizar alterações estruturais diretamente na proteína S, não sendo absolutamente essencial para a infecção por SARS-CoV-2 (PAPA *et al.*, 2021). Por outro lado, variações genéticas no gene *FURIN* podem estar envolvidas na hipertensão humana (LI *et al.*, 2010).

Portanto, nossos dados mostraram a importância da caracterização da expressão gênica dos componentes do SRA para o melhor entendimento da COVID-19 em relação aos eventos moleculares relacionados à infecção e desenvolvimento da doença.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que houve diferença na expressão gênica do receptor MAS entre os pacientes positivos e negativos, sendo mais expressa nos positivos, porém o uso de terapia anti-hipertensiva com inibidores da ECA (iECAs) e antagonistas dos receptores (ARBs) não influenciou na expressão gênica dos componentes do SRA. Então, de maneira geral, a expressão de RNA mensageiro para os componentes do SRA parece não mediar o curso da doença, pelo fato dos outros componentes do SRA não terem apresentado uma expressão do RNA mensageiro significativa.

A hipertensão arterial sistêmica e outras comorbidades associadas são fatores de risco para internação e uso de suporte ventilatório.

Em relação aos outros alvos importantes no processo de infecção, houve aumento da expressão gênica de *TMPRSS2* em pacientes positivos que não utilizavam fármacos anti-hipertensivos e para *FURIN* a expressão foi aumentada nos pacientes negativos, sob tratamento anti-hipertensivo, não havendo diferença entre os pacientes positivos ou negativos, ou seja, a expressão aumentada desses alvos estão de acordo com os achados na literatura, uma vez que estas moléculas participam do processo de invasão viral.

INTERCORRÊNCIAS

7. INTERCORRÊNCIAS

Houve um atraso para iniciarmos a pesquisa, pois no início da pandemia todos os esforços foram concentrados para atender à demanda de diagnósticos, que até a finalização da dissertação, ultrapassou 250 mil análises. Desta forma, a equipe reduzida acabou utilizando todo tempo hábil para realizar o isolamento e a purificação do RNA e identificar a presença ou a ausência do SARS-CoV 2. A extração do RNA foi realizada no período de Junho de 2020 a Dezembro de 2021; nesse tempo conseguimos tabular 1000 amostras positivas e 1000 amostras negativas e separá-las a fim de utilizá-las no projeto. Em Janeiro de 2022, a FOB finalizou as atividades do laboratório de diagnóstico e neste período também houve uma nova onda de SARS-CoV-2 com a introdução da variante Ômicron, e novamente as análises dos prontuários no Hospital Estadual de Bauru ficaram prejudicadas, pois houve muita dificuldade na busca de algumas informações, principalmente em relação aos medicamentos que os paciente tomam ou tomavam na época. Conseguimos acelerar esse processo graças a uma planilha confeccionada pela Prof^a Dr^a Marília Buzalaf e a doutoranda Daniele Di Flora, que gentilmente nos cederam para facilitar a busca.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, Enner et al. Investigating spatiotemporal patterns of the COVID-19 in São Paulo State, Brazil. **medRxiv**, 2020.

ALEEM, Abdul; SAMAD, Abdul Bari Akbar; SLENKER, Amy K. Emerging variants of SARS-CoV-2 and novel therapeutics against coronavirus (COVID-19). In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2022.

BARAL, Ranu et al. Association between renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and clinical outcomes in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **JAMA network open**, v. 4, n. 3, p. e213594-e213594, 2021.

BENIGNI, Ariela; CASSIS, Paola; REMUZZI, Giuseppe. Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. **EMBO molecular medicine**, v. 2, n. 7, p. 247-257, 2010.

CANO, Isadora Prado et al. Losartan and isoproterenol promote alterations in the local renin-angiotensin system of rat salivary glands. **PLoS One**, v. 14, n. 5, p. e0217030, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (US). Science Brief: Evidence Used to Update the List of Underlying Medical Conditions Associated with Higher Risk for Severe COVID-19

CLARKE, Nicola E. et al. Epigenetic regulation of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) by SIRT1 under conditions of cell energy stress. **Clinical Science**, v. 126, n. 7, p. 507-516, 2014.

COVID-19 Investigation Team. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. **Nat Med**. 2020.

CODO, Ana Campos et al. Elevated glucose levels favor SARS-CoV-2 infection and monocyte response through a HIF-1 α /glycolysis-dependent axis. **Cell metabolism**, v. 32, n. 3, p. 437-446. e5, 2020.

CUI, Jie; LI, Fang; SHI, Zheng-Li. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature reviews microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181-192, 2019.

DE ALMEIDA, Gabriel Berg et al. Two hundred days of Covid-19 in São Paulo state, Brazil. **Epidemiology & Infection**, v. 148, 2020.

DE SOUSA, Jemilly Ferreira et al. Os efeitos da COVID-19 em pacientes com hipertensão arterial sistêmica: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e33711427282-e33711427282, 2022.

DE SOUZA, Dilma do Socorro Moraes et al. NA COVID-19 É REAL A NÃO

SUSPENSÃO DOS INIBIDORES DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA?. **Rev Bras Hipertens**, v. 28, n. 1, p. 20-6, 2021.

DENG, You-ping et al. Association of Hypertension with Severity and Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China: a single-centered, retrospective study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 117, p. 911-921, 2021.

DONG, Ensheng; DU, Hongru; GARDNER, Lauren. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. **The Lancet infectious diseases**, v. 20, n. 5, p. 533-534, 2020.

DOS SANTOS DIAS, Giselle et al. Fatores de risco associados à Hipertensão Arterial entre adultos no Brasil: uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 962-977, 2021.

DU, Yanbin et al. Hypertension is a clinically important risk factor for critical illness and mortality in COVID-19: A meta-analysis. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 31, n. 3, p. 745-755, 2021.

ESLER, Murray; ESLER, Danielle. Can angiotensin receptor-blocking drugs perhaps be harmful in the COVID-19 pandemic?. **Journal of hypertension**, v. 38, n. 5, p. 781-782, 2020.

FORTALEZA, Carlos Magno Castelo Branco et al. The use of health geography modeling to understand early dispersion of COVID-19 in São Paulo, Brazil. **PloS one**, v. 16, n. 1, p. e0245051, 2021.

FYHRQUIST, Frej; SAIJONMAA, Outi. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of internal medicine**, v. 264, n. 3, p. 224-236, 2008.

GASMI, Amin et al. Interrelations between COVID-19 and other disorders. **Clinical Immunology**, v. 224, p. 108651, 2021.

GONZALES, Pedro Luiz da Veiga; SOUZA, Edvaldo da Silva. Principais complicações relacionadas à infecção por Sars-CoV-2. 2020.

GORBALENYA, Alexander E. et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. **BioRxiv**, 2020.

GUAN, W. J.; NI, Z. Y.; HU, Y. Hui DSC, Du B, Li LJ, Zeng G, Yuen KY, Chen RC, Tang CL, Wang T, Chen PY, Xiang J, Li SY, Wang JJ, Liang ZJ, Peng YX, Wei L, Liu Y, Hu YH, Peng P, Wang JM, Liu JY, Cheng Z, Li G, Zheng ZJ, Qiu SQ, Luo J, Ye CJ, Zhu SY, Zhong NS. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. **N Engl J Med**, 2020.

GUO, Yan-Rong et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status.

Military medical research, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2020.

GURWITZ, David. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. **Drug development research**, v. 81, n. 5, p. 537-540, 2020.

HALLOW, K. M.; DAVE, I. RAAS blockade and COVID-19: Mechanistic Modeling of mas and AT1 Receptor Occupancy as Indicators of Pro-and Anti-Inflammatory Balance. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, 2021.

HAMMING, Inge et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 203, n. 2, p. 631-637, 2004.

KLEINE-WEBER, Hannah et al. Functional analysis of potential cleavage sites in the MERS-coronavirus spike protein. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

KONTOPANTELIS, Evangelos et al. Excess deaths from COVID-19 and other causes by region, neighbourhood deprivation level and place of death during the first 30 weeks of the pandemic in England and Wales: A retrospective registry study. **The Lancet Regional Health-Europe**, v. 7, p. 100144, 2021.

HOFFMANN, Markus et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, 2020.

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

INGRAHAM, Nicholas E. et al. Understanding the renin–angiotensin–aldosterone–SARS-CoV axis: a comprehensive review. **European Respiratory Journal**, v. 56, n. 1, 2020.

JACKSON, Cody B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 23, n. 1, p. 3-20, 2022.

LI, Nanfang et al. Associations between genetic variations in the *FURIN* gene and hypertension. **BMC Medical Genetics**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2010.

LIANG, Fengxia; KUME, Shinji; KOYA, Daisuke. SIRT1 and insulin resistance. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 367-373, 2009.

LONG, Brit et al. Clinical update on COVID-19 for the emergency clinician: Presentation and evaluation. **The American Journal of Emergency Medicine**, 2022.

LOPES, Renato. D., et al. Continuing versus suspending angiotensin-converting

enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: Impact on adverse outcomes in hospitalized patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)-The BRACE CORONA Trial. **American Heart Journal**, v. 226, p.49-59, 2020.

LORENZ, Camila et al. COVID-19 no estado de São Paulo: a evolução de uma pandemia. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 24, 2021.

LU, Hongzhou; STRATTON, Charles W.; TANG, Yi-Wei. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 401, 2020.

LUKASSEN, Soeren et al. SARS-CoV-2 receptor ACE 2 and TMPRSS 2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. **The EMBO journal**, v. 39, n. 10, p. e105114, 2020.

MARTÍN, Unai; BACIGALUPE, Amaia; JIMÉNEZ CARRILLO, M. J. COVID-19 y género: certezas e incertidumbres en la monitorización de la pandemia. **Rev Esp Salud Publica [Internet]**, v. 95, p. 1-11, 2021.

MAHAMAT-SALEH, Yahya et al. Diabetes, hypertension, body mass index, smoking and COVID-19-related mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **BMJ open**, v. 11, n. 10, p. e052777, 2021.

MILLET, Jean Kaoru; WHITTAKER, Gary R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. **Virus research**, v. 202, p. 120-134, 2015.

NASCIMENTO, Israel Júnior Borges do et al. Clinical characteristics and outcomes among Brazilian patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: an observational retrospective study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 138, p. 490-497, 2020.

PAPA, Guido et al. Furin cleavage of SARS-CoV-2 Spike promotes but is not essential for infection and cell-cell fusion. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 1, p. e1009246, 2021.

PATHANGEY, Girish et al. Angiotensin-converting enzyme 2 and COVID-19: patients, comorbidities, and therapies. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 320, n. 3, p. L301-L330, 2021.

PEACOCK, Thomas P. et al. The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. **Nature microbiology**, v. 6, n. 7, p. 899-909, 2021.

PECKHAM, Hannah et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2020.

PINTO, Bruna GG et al. ACE2 expression is increased in the lungs of patients

with comorbidities associated with severe COVID-19. **The Journal of infectious diseases**, v. 222, n. 4, p. 556-563, 2020.

RIBEIRO, Ana Cristina; UEHARA, Sílvia Carla da Silva André. Hipertensão arterial sistêmica como fator de risco para a forma grave de covid-19: scoping review. **Revista de Saúde Pública**, v. 56, 2022.

RIBEIRO, José Márcio; FLORÊNCIO, Leonardo P. Bloqueio farmacológico do sistema renina-angiotensina-aldosterona: inibição da enzima de conversão e antagonismo do receptor AT1. **Rev Bras Hipertens**, v. 7, n. 3, p. 293-302, 2000.

SANTOS, Carlos F. et al. Functional local renin-angiotensin system in human and rat periodontal tissue. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0134601, 2015.

SEADE. Boletim Completo do Novo Coronavírus no Estado de São Paulo. Disponível em: <https://www.seade.gov.br/coronavirus/#>. Acesso em: 31 jul. 2022.

SEMENZATO, Laura et al. Antihypertensive drugs and COVID-19 risk: a cohort study of 2 million hypertensive patients. **Hypertension**, v. 77, n. 3, p. 833-842, 2021.

SIMPSON, Kerry L.; MCCLELLAN, Karen J. Losartan. **Drugs & aging**, v. 16, n. 3, p. 227-250, 2000.

SINGH, Manoj Kumar et al. A meta-analysis of comorbidities in COVID-19: Which diseases increase the susceptibility of SARS-CoV-2 infection?. **Computers in biology and medicine**, v. 130, p. 104219, 2021.

SUNGNACK, Waradon et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. **Nature medicine**, v. 26, n. 5, p. 681-687, 2020.

STECKELINGS, U. Muscha; SUMNERS, Colin. Correcting the imbalanced protective RAS in COVID-19 with angiotensin AT2-receptor agonists. **Clinical Science**, v. 134, n. 22, p. 2987-3006, 2020.

SZABO, Romano; BUGGE, Thomas H. Proteases de serina transmembrana tipo II no desenvolvimento e na doença. **A revista internacional de bioquímica e biologia celular**, v. 40, n. 6-7, pág. 1297-1316, 2008.

Takeda, M. Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein. **Microbiology and Immunology**, v. 66(1), p.15-23, 2022.

TADIC, Marijana et al. Hypertension and COVID-19: ongoing controversies. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, p. 639222, 2021.

TORRE-FUENTES, Laura et al. ACE2, TMPRSS2, and Furin variants and

SARS-CoV-2 infection in Madrid, Spain. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 2, p. 863-869, 2021.

VERDECCHIA, Paolo et al. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. **European journal of internal medicine**, v. 76, p. 14-20, 2020.

VITIELLO, A. et al. COVID-19 vaccines and decreased transmission of SARS-CoV-2. **Inflammopharmacology**, v. 29, n. 5, p. 1357-1360, 2021.

WANG, Haidong et al. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020–21. **The Lancet**, v. 399, n. 10334, p. 1513-1536, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020**. World Health Organization, 2020.

XU, Hao et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. **International journal of oral science**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2020.

YAMADA, Willian Hideo Miashiro et al. Complicações da COVID-19 em portadores de hipertensão arterial sistêmica: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e52911528646-e52911528646, 2022.

ZENG, Baoqi et al. Effectiveness of COVID-19 vaccines against SARS-CoV-2 variants of concern: a systematic review and meta-analysis. **BMC medicine**, v. 20, n. 1, p. 1-15, 2022.

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

ZHU, Na et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **N Engl J Med**, v. 382, p. 727-733, 2020.

ANEXOS

Anexo 1: Parecer consubstanciado do CEP com aprovação do relatório final.

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA EM PACIENTES COM SARS-COV-2 TRATADOS OU NÃO COM DROGAS ANTI-HIPERTENSIVAS NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE

Pesquisador: CARLOS FERREIRA DOS SANTOS

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 32658720.4.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Final

Detalhe:

Justificativa: Enviamos para apreciação o Relatório Final da Pesquisa supracitada,

Data do Envio: 27/07/2022

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.552.483

Apresentação da Notificação:

Relatório final da pesquisa que teve por objetivo caracterizar a expressão gênica dos componentes do SRA em pacientes positivos e negativos ao SARS-CoV-2, em células epiteliais da mucosa oral e nasal, relacionando essa expressão a informações dos registros clínicos como idade, sexo, sintomas apresentados, desenvolvimento do quadro clínico para cura ou óbito, exames clínicos relacionados ao quadro, drogas antihipertensivas, tais como antagonistas do receptor AT1 e inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina, utilizadas previamente ao diagnóstico e durante o tratamento da COVID-19 e comorbidades associadas.

Objetivo da Notificação:

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP



Continuação do Parecer: 5.552.483

Apresentação de Relatório Final.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estão adequados.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Relatório final adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo com os pesquisadores o Consentimento Livre e Esclarecido dos participantes foi realizado verbalmente pela equipe do Hospital Estadual onde os mesmos estavam internados, em função da situação de Pandemia, conforme declarações anexas do pesquisador responsável e do médico infectologista Coordenador da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar. Justifica-se assim a proibição de contato dos pesquisadores com os participantes e o trâmite de papel impresso para o TCLE, durante situação crítica e atípica que o hospital enfrentava.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Relatório final aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP aprova ad referendum, nesta data, o relatório final da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Final	10_Formulario_Relatorio_Final_27_07_22.pdf	27/07/2022 23:10:06	CARLOS FERREIRA DOS SANTOS	Postado
Envio de Relatório Final	2_Justificativa_ausencia_TCLE.pdf	27/07/2022 23:11:12	CARLOS FERREIRA DOS SANTOS	Postado
Envio de Relatório Final	1_DECLARACAO_HEB_PESQUISAS_DURANTE_A_PANDEMIA_COVID19.pdf	27/07/2022 23:13:18	CARLOS FERREIRA DOS SANTOS	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP



Continuação do Parecer: 5.552.483

BAURU, 29 de Julho de 2022

Assinado por:
Juliana Fraga Soares Bombonatti
(Coordenador(a))

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

Página 03 de 03

Anexo 2: Tabulação de dados dos 96 pacientes positivos para SARS-CoV-2, sendo que os 47 primeiros fazem uso de medicamentos atuantes no SRA e os restantes, 49, não fazem uso de medicamentos.

										RT-PCR- Valor de CT		
Grupo G1 Detectável	Início dos sintomas	Recebimento da amostra	Município de residência	Idade	Comorbidades associadas	Fármacos atuantes no SRA	Uso de suporte ventilatório	Período de internação (dias)	Alta / Óbito	N	E	RdRp
1	01/07/2020	06/07/2020	Bauru	80	O, HAS, DCC	E	NÃO	10	OBITO	23	21,9	27,74
2	20/09/2020	25/09/2020	Bauru	72	DM, HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	10	OBITO	24,04	21,4	35,61
3	17/07/2020	20/07/2020	Bauru	49	HAS, DM, DCC	L	NÃO INTERNOU	0	0	25	22,86	27,45
4	24/07/2020	30/07/2020	Bauru	45	HAS, O	L	SIM, NÃO INVASIVO	8	ALTA	26	24,43	27,63
5	05/06/2020	10/06/2020	Presidente Alves	36	HAS, O, AVC	L	NÃO INTERNOU	0	0	20,5	24,27	24,09
6	04/05/2020	11/05/2020	Bauru	60	AN, HAS, DM	E	SIM, NÃO INVASIVO	19	ALTA	21,1	22,92	24,29
7	06/10/2020	SEM INF	Bauru	84	HAS, A	L	SIM, NÃO INVASIVO	3	ALTA	22,4	20,81	27,67
8	01/06/2020	14/06/2020	Bauru	65	HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	33	OBITO	21,1	22,75	21,99
9	13/07/2020	16/07/2020	Bauru	75	HAS, DM, AC, O	L	SIM, NÃO INVASIVO	40	ALTA	23,9	24,66	29,22
10	22/06/2020	24/06/2020	Bauru	80	HAS, O, C	L	SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA	23,3	21,81	28,12

11	20/07/2020	23/07/2020	Bauru	57	HAS, DM	L	NÃO INTERNOU	0	0	21,6	19,47	22,03
12	04/09/2020	08/09/2020	Bauru	87	HAS, AVC	L	SIM, NÃO INVASIVO	16	ALTA	22,8	15,87	22,24
13	05/06/2020	09/06/2020	Bauru	84	DM, HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	22	ALTA	20,4	21,,37	25,3
14	26/05/2020	29/05/2020	Piratinga	52	HAS	L	NÃO	6	OBITO	35,4	38,78	26,97
15	06/06/2020	10/07/2020	Bauru	40	HAS, T	L	NÃO INTERNOU	0	0	23,1	21,93	26,6
16	24/12/2020	08/01/2021	Bauru	73	HAS, DCC, DRC	E	SIM, NÃO INVASIVO	21	ALTA	17,2	15,86	20,06
17	20/01/2021	25/01/2021	Bauru	72	HAS, T	L	SIM, INVASIVO	45	ALTA	25,1	22,96	27,38
18	02/10/2020	05/10/2020	Bauru	82	HAS, DM	L	SIM, NÃO INVASIVO	3	ALTA	23,7	23,91	44,31
19	10/12/2020	14/12/2020	Bauru	25	HAS	L	NÃO INTERNOU	0	0	17,7	16,4	22,92
20	27/06/2020	06/07/2020	Bauru	56	HAS, O	L	SIM, NÃO INVASIVO	9	ALTA	38,57		
21	12/06/2020	20/06/2020	Bauru	57	DCC, HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	31	ALTA	23,4	22,95	33,52
22	21/06/2020	24/06/2020	Bauru	37	HAS, DM, DCC	E	NÃO INTERNOU	0	0	19,6	19,06	21,41
23	29/05/2021	30/05/2021	Bauru	79	HAS, T, DPOC	L	NÃO	30	OBITO	38,3	38,82	25,81
24	27/06/2020	29/06/2020	Agudos	60	DM, HAS, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	5	ALTA	23,4	22,76	27,85

25	29/07/2020	11/08/2020	Bauru	64	HAS, O, DM	C	SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA	25,68	24,46	-
26	14/07/2020	20/07/2020	Bauru	49	HAS, T, DPOC, DCC	E	NÃO INTERNOU	0	0	24,1	22,54	27,01
27	11/11/2020	16/11/2020	Bauru	61	HAS, T, O, DM.	L	SIM, NÃO INVASIVO	46	ALTA	22,2	20,74	31,53
28	16/09/2021	19/08/2020	Agudos	49	HAS, DM	L	NÃO INTERNOU	0	0	24,3	22,95	-
29	30/08/2020	29/09/2020	Bauru	80	HAS, DM , DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	9	ALTA	25,89	23,9	34,66
30	20/07/2020	23/07/2020	Bauru	53	HAS	E	NÃO INTERNOU	0	0	20,6	17,62	21,1
31	07/06/2020	17/06/2020	Bauru	67	A, DM, DPOC	L	SIM, NÃO INVASIVO	6	ALTA	23,4	-	-
32	SEM INF	SEM INF		85	DM, HAS, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	11	OBITO	13,9	15,62	24,95
33	05/06/2020	13/06/2020	Agudos	55	HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	15	ALTA	22,7	25,16	25,28
34	15/06/2020	20/06/2020	Bauru	64	HAS, O, DM	L	SIM, NÃO INVASIVO	13	OBITO	27,1	26,88	29,74
35	05/07/2020	10/07/2020	Bauru	49	HAS, DCC	L	NÃO INTERNOU	0	0	25,1	22,69	28,69
36	21/08/2020	25/08/2020	Agudos	61	HAS, DM	L	SIM, NÃO INVASIVO	8	ALTA	24,8	22,6	-
37	13/05/2020	21/05/2020	Bauru	64	HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	11	ALTA	32,5	35,67	25,62
38	04/06/2020	14/06/2020	Bauru	41	HAS, O	L	SIM. NÃO INVASIVO	8	ALTA	24,2	24,8	28,11

39	24/06/2020	25/06/2020	Bauru	81	DM, HAS	C	SIM, NÃO INVASIVO	9	OBITO	18,9	17,96	23,65
40	19/05/2020	29/05/2020	Bauru	59	DM, HAS	E	SIM, NÃO INVASIVO	5	ALTA	22,7	23,22	26,24
41	06/06/2020	11/06/2020	Bauru	53	HAS, DM, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	8	ALTA	24,5	28,03	27,52
42	14/08/2020	18/08/2020	Bauru	68	HAS, DM2, C	L	SIM, NÃO INVASIVO	19	ALTA	25,6	24,6	-
43	16/05/2020	18/05/2020	Bauru	76	HAS, N, E, T, DPOC, C	L	SIM, INVASIVO	6	OBITO	17,6	22,28	24,12
44	16/11/2020	23/11/2020	Bauru	70	HAS, DM, NA	C	SIM, NÃO INVASIVO	62	ALTA	24,4	22,15	34,73
45	20/07/2020	22/07/2020	Bauru	66	T, HAS, DPOC, DM	L	NÃO	48	OBITO	17,3	15,13	19,12
46	28/05/2020	31/05/2020	Bauru	88	HAS	L	NÃO	6	ALTA	34,8	40,77	24,22
47	03/08/2020	22/08/2020	Bauru	65	HAS, O, DM, DCC	E	SIM, INVASIVO	19	OBITO	17,34	15,13	19,12
48	31/07/2020	03/08/2020	Bauru	48	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	17,3	15,5	-
49	08/07/2020	11/10/2020 *	Bauru	73	PC, O		SIM, NÃO INVASIVO	5	ALTA	20,9	19,41	29,84
50	24/06/2020	29/06/2020	Bauru	81	DM, T, O		SIM, NÃO INVASIVO	5	ALTA	33,7	-	-
51	04/01/2021	11/01/2021*	Bauru	88	NÃO POSSUI		SEM INF	0	0	24,5	22,8	-
52	24/09/2020	29/09/2020	Bauru	32	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	17,5	15,86	25,78

53	22/06/2020	25/06/2020	Bauru	45	O, E		SIM, NÃO INVASIVO	6	ALTA	32,7	-	-
54	07/06/2020	16/06/2020	Piratinga	34	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA	29,5	30,16	-
55	19/05/2020	28/05/2020	Bauru	33	O		NÃO INTERNOU	0	0	32,6	34,38	25,72
56	10/06/2020	14/06/2020	Borebi	56	DRC		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA	33,9	35,68	27,49
57	19/07/2020	22/07/2020	Bauru	37	I		SIM, INVASIVO	19	OBITO	21,7	24,66	24,97
58	10/11/2020	20/11/2020	Bauru	62	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA	25,7	24,22	-
59	19/08/2020	26/08/2020	Bauru	29	DPOC		NÃO INTERNOU	0	0	22,1	20,28	37,23
60	23/08/2020	26/08/2020	Bauru	30	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	23,4	20,7	-
61	20/06/2020	26/06/2020	Bauru	32	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	24,7	23,75	26,23
62	08/10/2020	13/10/2020	Bauru	27	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	19,1	16,82	29,51
63	19/06/2020	02/07/2020	Bauru	42	HAS		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA	25,9	27,91	36,65
64	25/05/2020	03/06/2020	Agudos	57	NÃO POSSUI		NÃO	1	ALTA	29,6	31,98	25,39
65	18/07/2020	21/07/2020	Bauru	51	DCC		NÃO INTERNOU	0	0	21,4	19,18	33,11
66	10/07/2020	14/07/2020	Bauru	45	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	17,3	14,77	19,98

67	28/05/2020	31/05/2020	Bauru	29	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	2	OBITO	35,7	41,12	26,74
68	15/08/2020	20/08/2020	Bauru	63	I		SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA	24,7	26,17	39,95
69	22/06/2020	26/06/2020	Bauru	58	DM		NÃO INTERNOU	0	0	32,2	-	-
70	01/08/2020	05/08/2020	Bauru	44	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	25,1	23,72	30,4
71	15/07/2020	20/07/2020	Bauru	38	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	24,2	22,47	28,17
72	31/05/2020	10/06/2020	Bauru	51	I		SIM, NÃO INVASIVO	10	ALTA	27,5	29,87	22,18
73	20/04/2020	22/04/2020	Bauru	41	NÃO POSSUI		NÃO	2	ALTA	24,2	22,31	-
74	28/05/2020	10/06/2020	Pirajui	32	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA	36,4	38,36	25,51
75	29/06/2020	01/07/2020	Bauru	51	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	20,7	20,29	24,09
76	21/06/2020	29/06/2020	Bauru	73	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	8	ALTA	27,3	-	-
77	25/05/2020	31/05/2020	Bauru	72	O		SIM, NÃO INVASIVO	12	ALTA	30,8	32,26	25,42
78	18/07/2020	21/06/2020	Bauru	23	NÃO POSSUI		SIM, INVASIVO	3	OBITO	25,7	22,88	39,78
79	06/06/2020	09/06/2020	Agudos	60	C		SIM, NÃO INVASIVO	5	OBITO	24,1	25,18	27,19
80	30/05/2020	05/06/2020	Bauru	42	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	22	OBITO	23,3	25,12	25,62

81	03/07/2020	06/07/2020	Bauru	35	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	21,9	20,08	24,78
82	07/06/2020	11/06/2020	Bauru	29	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	20,4	23,06	29,16
83	27/07/2020	31/06/2020	Bauru	27	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	25,8	24,59	33,77
84	07/06/2020	08/06/2020	Bauru	46	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	21,7	24,35	25,99
85	18/05/2020	20/05/2020*	Bauru	60	O, T , HAS		SIM. NÃO INVASIVO	6	ALTA	20,1	22,15	27,26
86	03/06/2020	30/05/2020	Agudos	59	C		NÃO	5	ALTA	30	33,01	26,17
87	02/08/2020	05/08/2020	Bauru	34	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	23,1	20,12	-
88	09/07/2020	12/07/2020	Bauru	83	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	6	OBITO	24,1	21,43	-
89	12/05/2020	21/05/2020	Bauru	31	NÃO POSSUI		NÃO	7	ALTA	19,2	21,33	25,56
90	06/07/2020	06/07/2020	Bauru	30	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	17,5	15,52	21,35
91	21/09/2020	25/09/2020	Bauru	32	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	24,2	22,49	27,46
92	25/07/2020	30/07/2020	Bauru	60	CEC ESOFAGO		SIM, NÃO INVASIVO	9	OBITO	14,2	12,57	25,85
93	21/07/2020	24/07/2020	Bauru	41	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0	24,3	22,65	30,05
94	07/06/2020	13/06/2020	Bauru	30	O		SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA	25,7	26,99	23,88

95	09/05/2020	20/05/2020	Bauru	39	NÃO POSSUI		NÃO	7	ALTA	37,6	38,85	26,18
96	19/06/2020	22/06/2020*	Bauru	66	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA	30,6	-	-

Legenda das comorbidades: Asma (A); Arritmia Cardíaca (AC); Anemia (AN); Cardiopata (C); Doença Cardiovascular Crônica (DCC); Diabetes Mellitus (DM); Diabetes tipo 2 (DM2); Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC); Doença Renal Crônica (DRC); Etilista (E); Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS); Imunodeficiência (I); Nefropata (N); Pneumopatia Crônica (PC); Obesidade (O); Tabagista (T).

Legenda dos medicamentos: Losartan (L); Valsartana (V); Olmersatana(OL); Enalapril (E); Captopril (C).

Anexo 3: Tabulação de dados dos 100 pacientes negativos para SARS-CoV-2, sendo que os 50 primeiros fazem uso de medicamentos atuantes no SRA e os outros 50 não fazem uso de medicamentos.

Grupo G2 Não Detectável	Início dos sintomas	Recebimento da amostra	Município de residência	Idade	Comorbidades associadas	Fármacos atuantes no SRA	Uso de suporte ventilatório	Período de internação (dias)	Alta / Óbito
1	19/08/2020	24/08/2020	Bauru	54	HAS	L	NÃO	4	ALTA
2	08/08/2020	24/05/2020	Bauru	82	DM, HAS, O	L	SIM, NÃO INVASIVO	20	ALTA
3	14/08/2020	26/08/2020	Bauru	70	HAS, O, Ex T,	L	NÃO INTERNOU	0	0
4	30/08/2020	03/09/2020	Bauru	87	HAS, DM, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	24	ALTA
5	31/05/2020	04/06/2020	Bauru	52	DM, HAS	E	SIM, INVASIVO	30	ALTA
6	SEM INF	SEM INF	Pirajui	47	HAS, O,	L	SIM, NÃO INVASIVO	17	ALTA
7	07/08/2020	SEM INF	Bauru	67	HAS, T, E	E	SIM, INVASIVO	5	OBITO
8	30/05/2020	02/06/2020	Bauru	45	HAS, O	E	SIM, NÃO INVASIVO	3	ALTA
9	16/08/2020	19/08/2020	Bauru	70	HAS, DM	E	SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
10	28/05/2020	01/06/2020	Bauru	87	HAS, N, C	L	SIM, NÃO INVASIVO	2	OBITO

11	30/07/2020	05/06/2020	Bauru	65	HAS	E	SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
12	SEM INF	07/06/2020	Bauru	49	HAS	E	SIM, NÃO INVASIVO	25	ALTA
13	09/06/2020	12/06/2020	Bauru	79	HAS, O	L	SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
14	03/06/2020	06/06/2020	Bauru	60	DM, HAS, DCC	L	SIM, INVASIVO	4	ALTA
15	24/08/2020	03/09/2020	Bauru	67	HAS, DM	E	SIM, NÃO INVASIVO	10	ALTA
16	23/06/2020	26/06/2020	Bauru	51	HAS, E	L	NÃO	14	ALTA
17	09/09/2020	12/09/2020	Bauru	37	HAS, O, DM	L	SIM, NÃO INVASIVO	10	ALTA
18	23/09/2020	28/09/2020	Bauru	51	HAS, A.C	L	NÃO	20	OBITO
19	21/09/2020	23/09/2020	Bauru	60	HAS, O, DM, Ex-T	L	SIM, NÃO INVASIVO	10	ALTA
20	29/05/2020	01/06/2020	Iacanga	63	HAS, DM, O	L	SIM, NÃO INVASIVO	16	ALTA
21	20/08/2020	25/08/2020	Bauru	64	HAS, C, DM, DPOC	L	SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
22	20/09/2020	25/09/2020	Bauru	65	HAS, DM, DCC	C	SIM, NÃO INVASIVO	5	OBITO
23	09/09/2020	12/09/2020	Pirajui	82	HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	3	OBITO
24	02/09/2020	04/09/2020	Bauru	31	HAS	L	NÃO	5	ALTA

25	26/05/2020	01/06/2020	Arealva	71	HAS, N, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	6	ALTA
26	23/09/2020	28/09/2020	Bauru	58	HAS, T	V	NÃO INTERNOU	0	0
27	SEM INF	30/06/2020 *	Bauru	69	DM, HAS, C	E	SIM, NÃO INVASIVO	12	ALTA
28	21/09/2020	29/09/2020	Bauru	47	HAS, DRC	E	SIM, NÃO INVASIVO	17	ALTA
29	01/06/2020	04/06/2020	Bauru	86	DPOC,HAS,T	L	SIM, NÃO INVASIVO	11	ALTA
30	SEM INF	12/06/2020	Bauru	63	HAS	OL	SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
31	SEM INF	23/06/2020*	Macatuba	85	DM, HAS, C	L	SIM, NÃO INVASIVO	11	ALTA
32	SEM INF	21/09/2020	Bauru	71	HAS, DPOC, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	7	OBITO
33	18/08/2020	24/08/2020	Bauru	58	HAS, DCC	L	NÃO	5	ALTA
34	11/09/2020	16/09/2020	Macatuba	45	HAS	L	NÃO INTERNOU	0	0
35	06/06/2020	08/06/2020	Arealva	82	HAS, T, bronquite	L	SIM, NÃO INVASIVO	17	ALTA
36	10/08/2020	18/08/2020	Bauru	52	HAS, DM	L	NÃO INTERNOU	0	0
37	07/09/2020	10/09/2020	Bauru	80	HAS, DM, E	L	SIM, NÃO INVASIVO	16	ALTA
38	24/06/2020	27/06/2020	Bauru	77	DM, C, O	C	SIM, NÃO INVASIVO	3	ALTA

39	10/08/2020	22/08/2020	Bauru	69	HAS, DPOC, A, T, DM	L	SIM, NÃO INVASIVO	1	ALTA
40	16/08/2020	24/08/2020	Bauru	85	HAS, DM	L	SIM, NÃO INVASIVO	11	ALTA
41	25/08/2020	10/09/2020	Bauru	60	HAS, Ex T	E	SIM, NÃO INVASIVO	23	ALTA
42	18/09/2020	21/09/2020	Bauru	69	HAS, DCC	C	SIM, NÃO INVASIVO	2	ALTA
43	01/08/2020	26/08/2020	Bauru	54	HAS, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	12	ALTA
44	06/06/2020	10/06/2020	Iacanga	39	HAS, B	L	NÃO INTERNOU	0	0
45	25/05/2020	28/05/2020	SEM INF	49	DM, HAS, T, DCC	L	SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
46	21/06/2020	24/06/2020	Bauru	79	DM, HAS, DPOC, T	E	NÃO INTERNOU	0	0
47	SEM INF	07/06/2020	Bauru	72	HAS	L	SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
48	01/11/2020	04/11/2020	SEM INF	86	HAS, DM, C	L	SIM, NÃO INVASIVO	8	ALTA
49	SEM INF	01/06/2020	SEM INF	65	DM, HAS, N	L	SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
50	25/05/2020	05/06/2020	SEM INF	89	DM, HAS, C	L	SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
51	01/06/2020	14/06/2020	Pirajui	67	DM, O, HAS		SIM, INVASIVO	13	OBITO
52	21/05/2020	27/05/2020	Bauru	40	NÃO POSSUI		NÃO	9	ALTA

53	09/06/2020	01/07/2020	Bauru	19	O		SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
54	SEM INF	27/06/2020	Bauru	33	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	18	ALTA
55	31/07/2020	02/06/2020	Pirajui	27	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
56	30/05/2020	10/06/2020	Bauru	60	T		NÃO	3	ALTA
57	26/05/2020	31/05/2020	Bauru	82	C		SIM, NÃO INVASIVO	4	ALTA
58	19/09/2020	22/09/2020	Bauru	57	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	5	ALTA
59	19/06/2020	22/06/2020	Bauru	64	NÃO POSSUI		NÃO	5	ALTA
60	25/08/2020	27/05/2020***	Bauru	71	HAS		SIM, NÃO INVASIVO	6	ALTA
61	01/06/2020	09/06/2020	Bauru	53	DM, DCC		SIM, NÃO INVASIVO	2	ALTA
62	SEM INF	27/05/2020	Bauru	78	HAS, DCC, PC		SIM, NÃO INVASIVO	3	ALTA
63	14/09/2020	18/09/2020	Bauru	22	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
64	21/09/2020	28/09/2020	Bauru	38	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
65	SEM INF	16/06/2020	Brotas	73	NÃO POSSUI		NÃO	30	ALTA
66	20/09/2020	24/09/2020	Bauru	49	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0

67	20/06/2020	23/06/2020	Iacanga	71	DCC, DRC, I		NÃO INTERNOU	0	0
68	18/09/2020	21/09/2020	Bauru	39	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
69	27/05/2020	04/06/2020	Bauru	41	N		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
70	17/06/2020	20/06/2020	Bauru	68	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
71	SEM INF	30/06/2020	Bauru	43	O		NÃO	7	ALTA
72	SEM INF	01/07/2020	Bauru	53	T		SIM, NÃO INVASIVO	6	ALTA
73	SEM INF	13/06/2020	Bauru	65	DPOC		SIM, NÃO INVASIVO	17	ALTA
74	SEM INF	17/09/2020	Bauru	83	HAS, DM		SIM, NÃO INVASIVO	7	ALTA
75	SEM INF	17/06/2020	Bauru	67	T, E, DCC		SIM, NÃO INVASIVO	9	ALTA
76	SEM INF	15/06/2020	Bauru	47	DM		NÃO INTERNOU	0	0
77	SEM INF	26/02/2021	Bauru	39	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
78	SEM INF	28/06/2020	Macatuba	86	AVC		NÃO INTERNOU	0	0
79	SEM INF	16/07/2020	Bauru	94	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	11	ALTA
80	SEM INF	29/09/2020	Bauru	55	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0

81	SEM INF	02/07/2020	Bauru	63	DCC		SIM, NÃO INVASIVO	16	ALTA
82	SEM INF	19/06/2020	Bauru	72	NÃO POSSUI		NÃO	7	ALTA
83	19/09/2020	22/09/2020	São Paulo	55	I		SIM, NÃO INVASIVO	8	ALTA
84	11/06/2020	14/06/2020	Agudos	86	DM		SIM, NÃO INVASIVO	12	ALTA
85	08/06/2020	14/06/2020	SEM INF	90	ALZHEIMER		SIM, NÃO INVASIVO	4	OBITO
86	06/09/2020	09/09/2020	Bauru	36	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
87	15/06/2020	30/06/2020	Bauru	75	AVC		SIM, NÃO INVASIVO	16	ALTA
88	08/06/2020	12/06/2020	Bauru	42	NÃO POSSUI		SIM. NÃO INVASIVO	6	ALTA
89	28/05/2020	01/06/2020	Bauru	21	I		SIM, INVASIVO	18	ALTA
90		05/06/2020	Bauru	54	NÃO POSSUI		NÃO	7	ALTA
91	27/08/2020	31/08/2020	Bauru	29	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
92	20/05/2020	27/05/2020	Bauru	37	NÃO POSSUI		SIM, NÃO INVASIVO	13	OBITO
93	21/09/2020	26/09/2020	Bauru	54	DCC		SIM, NÃO INVASIVO	19	OBITO
94	30/05/2020	13/06/2020	SEM INF	75	DCC		SIM, NÃO INVASIVO	63	OBITO

95	12/09/2020	15/09/2020	SEM INF	44	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
96	13/05/2020	15/05/2020	SEM INF	43	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0
97	SEM INF	01/06/2020	SEM INF	93	C		NÃO	16	OBITO
98	08/06/2020	11/06/2020	SEM INF	75	PC		SIM, NÃO INVASIVO	24	OBITO
99	13/09/2020	16/09/2020	SEM INF	50	NÃO POSSUI		NÃO	5	ALTA
100	SEM INF	10/06/2020	SEM INF	81	NÃO POSSUI		NÃO INTERNOU	0	0

Legenda das comorbidades: Asma (A); Arritmia Cardíaca (AC); Anemia (AN); Cardiopata (C); Doença Cardiovascular Crônica (DCC); Diabetes Mellitus (DM); Diabetes tipo 2 (DM2); Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC); Doença Renal Crônica (DRC); Etilista (E); Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS); Imunodeficiência (I); Nefropata (N); Pneumopatia Crônica (PC); Obesidade (O); Tabagista (T).

Legenda dos medicamentos: Losartan (L); Valsartana (V); Olmersatana(OL); Enalapril (E); Captopril (C).