

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do
Rio Preto

Ana Beatriz Belini dos Santos

Análise de polimorfismos nos genes *Protrombina (G20210A)*, *Cistationina Beta Sintase (844ins68)* e *Fator V de Leiden (G1691A)* em adultos que contraíram COVID-19.

São José do Rio Preto
2025

Ana Beatriz Belini dos Santos

Análise de polimorfismos nos genes *Protrombina (G20210A)*, *Cistationina Beta Sintase (844ins68)* e *Fator V de Leiden (G1691A)* em adultos que contraíram COVID-19.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestra em Biociências.

Área de Concentração: Genética e Biologia Evolutiva

Orientador(a): Prof. Dr. Claudia Regina Bonini Domingos

Coorientador(a): Prof. Dr. Marcelo Rizzatti Luizon

São José do Rio Preto, SP

2025

S237a	Santos, Ana Beatriz Belini dos Análise de polimorfismos nos genes Protrombina (G20210A), Cistationina Beta Sintase (844ins68) e Fator V de Leiden (G1691A) em adultos que contraíram COVID-19. / Ana Beatriz Belini dos Santos. -- São José do Rio Preto, 2025 71 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto Orientadora: Claudia Regina Bonini Domingos Coorientador: Marcelo Rizzatti Luizon 1. Genética humana. 2. Polimorfismo genético. 3. COVID-19. 4. Trombose venosa profunda. I. Título.
-------	--

Ana Beatriz Belini dos Santos

Análise de polimorfismos nos genes *Protrombina (G20210A)*, *Cistationina Beta Sintase (844ins68)* e *Fator V de Leiden (G1691A)* em adultos que contraíram COVID-19.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestra em Biociências.

Área de Concentração: Genética e Biologia Evolutiva

Data da defesa: 07/05/2025

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Claudia Regina Bonini Domingos
UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva
UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Tiago Henrique
FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Dedico este trabalho a minha família e amigos

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Alda Aparecida Belini dos Santos e Renaldo Firmino dos Santos por todo apoio e carinho durante esses anos. Sou e sempre serei grata por toda dedicação e apoio que deram a mim.

Ao meu avô Waldomiro Belini (em memória) que sempre me apoiou e torceu muito por mim.

Agradeço à minha orientadora Prof^a Dr^a Cláudia Regina Bonini Domingos por toda paciência, aprendizado e carinho para me ensinar. Tenho muita admiração como pessoa, professora e pesquisadora.

Ao meu coorientador Marcelo Rizzatti Luizon, por todo o apoio e ensinamentos durante a construção desse projeto.

Aos meus amigos de graduação Eduardo Figueiredo, Jorge Lucas, Vanessa Resende, Danilo Donizete e Gabriela Karam pelas histórias, brincadeiras, risadas e aprendizagem durante toda a graduação.

Aos meus amigos do Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH/CEQ) Thais Fernandes, Lucas Ramos, Bruna Lima, Debora Santos, Denny Malerba, Rafaela Beatriz, Ana Carolina, Beatriz Vitória e Letícia Oliveira

Ao Laboratório de Estudos Genômicos (LEGO) por disponibilizar o uso de equipamentos, especialmente a Prof^a Dr^a Paula Rahal, Vivaldo Gomes, Ana Julia e Dayla por todo auxílio oferecido.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

A *COVID-19* é causada pelo vírus de RNA *SARS-CoV-2*, notificado primeiramente em uma região da China no segundo semestre de 2019. Esse vírus tem como um de seus receptores celulares a *Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II)*, que é expressa em órgãos como coração e endotélio vascular. Uma parcela da população não se recupera totalmente da doença, manifesta sintomas por meses depois do aparecimento dos primeiros indicativos da infecção, expressando assim a *COVID longa*. Devido a *COVID-19* causar uma cascata de inflamação e reações, e seu receptor celular estar presente no endotélio vascular, os pacientes têm potencial de apresentar distúrbios de coagulação que predispõem a trombose venosa profunda (TVP). Polimorfismos do gene da *Protrombina (G20210A)*, do *Fator V de Leiden (G1691A)* e da *Cistationina beta-sintase (844ins68)* são fatores complementares ao risco do desenvolvimento de TVP. Este último polimorfismo está associado à síntese de Sulfeto de Hidrogênio (H_2S), fator importante no desenvolvimento da doença causada pelo *SARS-CoV-2*, pois o H_2S apresenta efeito inibitório contra vírus de RNA. O objetivo do estudo foi investigar a relação entre polimorfismos que predispõem à trombose e o aumento de gravidade em *COVID-19* realizando um estudo caso/controle pareado por idade e sexo. O grupo caso foi composto por 70 pacientes que estiveram em contato com o vírus *SARS-CoV-2* e o grupo controle por 70 indivíduos que não tiveram contato com o vírus, pois os dados foram coletados antes da pandemia. O DNA genômico foi extraído de leucócitos de sangue periférico por precipitação salina. Os polimorfismos genéticos foram avaliados por PCR. Os participantes responderam a um questionário após a coleta das amostras, cujos dados foram usados para testar correlações entre as variáveis. Nas análises estatísticas foram realizados teste de normalidade, homocedasticidade, *Kruskal Wallis*, *Qui-quadrado* e correlação de *Spearman*, além da aderência ao Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* e diferenças alélicas e genotípicas pelo teste exato de *Fisher* no *software Genepop*. Os resultados obtidos foram a frequência dos polimorfismo de cada gene, no qual o genótipo mais frequente, para os três genes, foi o homozigoto selvagem (N/N), seguido pelo heterozigoto (N/M). Com relação aos alelos do gene *CBS*, no grupo caso foi observado maior frequência do alelo mutado (M) sendo 19 alelos *M* e 140 alelos *N* do que no grupo controle. No teste de correlação de *Spearman* houve diferença significativa entre os polimorfismo do *Fator V de Leiden* e a gravidade da *COVID-19* ($r_s = -0,210$; $p = 0,027$) ($p < 0,05$). Concluímos que há correlação entre o polimorfismo do gene *Fator V de Leiden* e a gravidade da *COVID-19*, existe

correlação entre as variáveis sexo biológico, gravidade, etnia e uso de medicação ($p < 0,05$). Há associação entre o polimorfismo da *CBS* e a COVID-19 ($p < 0,05$), visto que o Teste Exato de Fisher apresentou $p < 0,05$ e a frequência do alelo mutado foi maior no grupo caso do que no controle.

Palavras-chave: COVID-19, polimorfismos genéticos, Trombose venosa profunda, genes

ABSTRACT

COVID-19 is caused by the SARS-CoV-2 RNA virus, first reported in a region of China in the second half of 2019. One of the cellular receptors of this virus is Angiotensin Converting Enzyme II (ACE II), which is expressed in organs such as the heart and endothelium of blood vessels. A part of the population does not fully recover from the disease, manifesting symptoms for months after the first signs of infection appear, thus expressing long COVID. The COVID-19 causes a cascade of inflammation and reactions, and its cellular receptor is present in the endothelium of blood vessels, patients have the potential to develop coagulation disorders that predispose to deep vein thrombosis (DVT). Polymorphisms in the Prothrombin (G20210A), Factor V Leiden (G1691A) and Cystathionine beta-synthase (844ins68) genes are additional risk factors for developing DVT. This last polymorphism is associated with the synthesis of hydrogen sulfide (H_2S), an important factor in the development of the disease caused by SARS-CoV-2, since H_2S has an inhibitory effect against RNA virus. The objective of the study was to investigate the relationship between polymorphisms that predispose to thrombosis and increased severity in COVID-19. This study was a case/control study matched by age and sex. The case group was composed of individuals who had been in contact with the SARS-CoV-2 virus, while the control group consisted of patients who had no contact with the virus, since the data were collected before the pandemic. For this purpose, data from 70 adults in each group were analyzed. The analyses of the case group were obtained through DNA extracted from peripheral blood leukocytes by saline precipitation. The polymorphisms were evaluated by PCR. In addition, the participants answered a questionnaire after collection and these data were used to test the correlation of the variables. In the statistical analyses, normality, homoscedasticity, *Kruskal Wallis*, *Chi-square* and *Spearman* correlation tests were performed. In addition, *Hardy-Weinberg* equilibrium and differential population with *Fisher's* exact test were tested in the *Genepop* population genetics software. The results obtained were the frequency of polymorphisms of each gene, in which the most frequent genotype for the three genes was the wild homozygous (N/N), followed by the heterozygous (N/M). Regarding the alleles, in the case group, a higher frequency of the mutated allele (M) was observed, with 19 M alleles and 140 N alleles, than in the control group. In the *Spearman* correlation test, there was a significant difference between the *Factor V Leiden* polymorphisms and the severity of COVID-19 ($r_s = -0.210$; $p = 0.027$) ($p < 0.05$). In conclusion there is a correlation between the

Factor V Leiden gene polymorphism and the different severities of COVID-19, there is a correlation between the variables biological sex, severity, ethnicity and use of medication ($p<0.05$). There is an association between the *CBS* polymorphism and COVID-19, since Fisher's Exact Test showed $p<0.05$ and the frequency of the mutated allele was higher in the case group than in the control group.

Keywords: COVID-19; Genetic Polymorphisms; Deep Vein Thrombosis, genes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Estrutura genômica do SARS-CoV-2	16
Figura 2:	Representação esquemática da entrada do vírus na célula hospedeira.	17
Figura 3:	Representação esquemática do ciclo de replicação do SARS-CoV-2.	18
Figura 4:	Representação esquemática de Trombose Venosa Profunda (TVP)	20
Figura 5:	Fluxograma de Tromboembolismo Venoso (TEV).	23
Figura 6:	Fluxograma das amostras coletadas.	29
Figura 7:	Representação esquemática dos possíveis genótipos do gene Cistationina beta-sintase (CBS)	34
Figura 8:	Representação esquemática dos possíveis genótipos do gene Fator V de Leiden.	37
Figura 9:	Representação esquemática dos possíveis genótipos do gene Protrombina.	39

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1:	Reagentes utilizados para composição do mix para a PCR do gene CBS.	32
Quadro 2:	Primers utilizados no mix para a PCR do gene CBS	32
Quadro 3:	Reagentes utilizados para composição do mix para a PCR para o gene FV	35
Quadro 4:	Sequência de primers utilizados no mix para a PCR do gene FV	35
Quadro 5:	Reagentes utilizados para composição do mix para a PCR para o gene Protrombina.	37
Quadro 6:	Sequência de primers utilizados no mix para a PCR do gene Protrombina	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Caracterização do grupo que caso	42
Tabela 2:	Resultados do teste de Correlação de Spearman.	44
Tabela 3:	Polimorfismos do gene CBS em pessoas que tiveram COVID-19	46
Tabela 4:	Polimorfismos do gene FV de Leiden em pessoas que tiveram COVID-19	47
Tabela 5:	Polimorfismos do gene Protrombina em pessoas que tiveram COVID-19	48
Tabela 6:	Resultados do teste de Correlação de Spearman	48

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBS	Cistationina Beta Sintase
ECA I	Enzima Conversora de Angiotensina I
ECA II	Enzima Conversora de Angiotensina II
EW	Escore de Wells
FVL	Fator V de Leiden
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
mRNA	microRNA
NSPs	Proteínas Não Estruturais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RNA	Ácido Ribonucleico
TEV	Tromboembolismo venoso
TMPRSS2	Serina Protease Transmembranar 2
TVP	Trombose venosa profunda

LISTAS DE SÍMBOLOS

H ₂ O	Água
kb	Kilobase
kDa	Kilodalton
M	Molar
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
ml	mililitros
ng/μL	Nanograma por microlitros
nm	Nanômetros
rpm	Rotação por minuto
μL	Microlitros

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1	COVID-19	15
1.2	SÍNDROME DA COVID LONGA	19
1.3	TROMBOSE VENOSA PROFUNDA	20
1.4	GENE PROTROMBINA (rs1799963)	22
1.5	GENE DA ENZIMA CISTATIONINA BETA-SINTASE	23
1.6	GENE DO FATOR V DE LEIDEN (FVL) (rs 6025)	24
2.	JUSTIFICATIVA	26
3.	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVO GERAL	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4.	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	MATERIAL	28
4.1.1	Casuística	28
4.2	MÉTODOS	29
4.2.1	Extração de DNA	29
4.2.2	Quantificação de DNA	31
4.2.3	Análise Molecular	31
4.2.4	Análises estatísticas	39
5.	RESULTADOS	40
6.	DISCUSSÃO	49
7.	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICE A - PAINEIS APRESENTADOS EM CONGRESSOS	58
	ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE PARA COLETA DE NOVAS AMOSTRAS.	61
	ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE DAS AMOSTRAS DO GRUPO CONTROLE	63
	ANEXO C - APROVAÇÃO DO CEP	64
	ANEXO D - QUADRO COM OS VALORES CRÍTICOS DO TESTE DE QUI-QUADRADO	65
	ANEXO E - QUESTIONÁRIO ELABORADO POR RIBEIRO (2022)	66
	ANEXO F - RESUMOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS	67

1. INTRODUÇÃO

1.1 COVID-19

A COVID-19 é uma doença causada por um vírus de Ácido Ribonucleico (RNA) SARS-CoV-2 que, segundo a classificação do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), pertence ao gênero Betacoronavírus, da família *Coronaviridae*. Esse vírus é envelopado, não segmentado, apresenta polaridade positiva e é de fita simples. O tamanho das partículas virais são de aproximadamente 80-220 nm e o seu RNA genômico tem em torno de 30 kb (BORGES, 2020).

Os primeiros casos notificados aconteceram na cidade de Wuhan na China no segundo semestre de 2019 (HASHIMOTO; SUZUKI; HASHIMOTO, 2022). Parte dos pacientes que entraram em contato com o vírus e desenvolveram a doença conseguiram se recuperar de forma bem sucedida, enquanto que outra parte dos pacientes não obteve sucesso na recuperação (BOHN et al, 2020). Mesmo após um período de mais de dois anos da identificação do vírus é possível observar os desafios dos sistemas de saúde. Até o começo do mês de fevereiro de 2022, o número de casos de COVID-19 no mundo passava de 386,5 milhões, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), e de 25,7 milhões no Brasil, de acordo com dados do Ministério da Saúde. Com relação aos óbitos, os dados globais eram de 5,7 milhões e 628 mil no Brasil (SANTOS; OLIVEIRA; ALBUQUERQUE, 2022).

Pessoas que apresentam comorbidades como hipertensão e diabetes e que apresentam idade avançada tem um maior risco de desenvolver a doença de forma grave (GUAN; ZHONG, 2020) por conta da maior expressão da Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II) pelos medicamentos inibidores da ECA ou pelas comorbidades (FANG; KARAKIULAKIS; ROTH, 2020)

A doença levou a população a mudar e adicionar novos hábitos, tais como o isolamento social e *homeoffice* (MALTA et al, 2020). O SARS-CoV-2 apresenta quatro glicoproteínas (Figura 1) sendo elas: a proteína Spike (S), o envelope (E), a membrana (M) e o nucleocapsídeo (N) (BOHN et al, 2020).

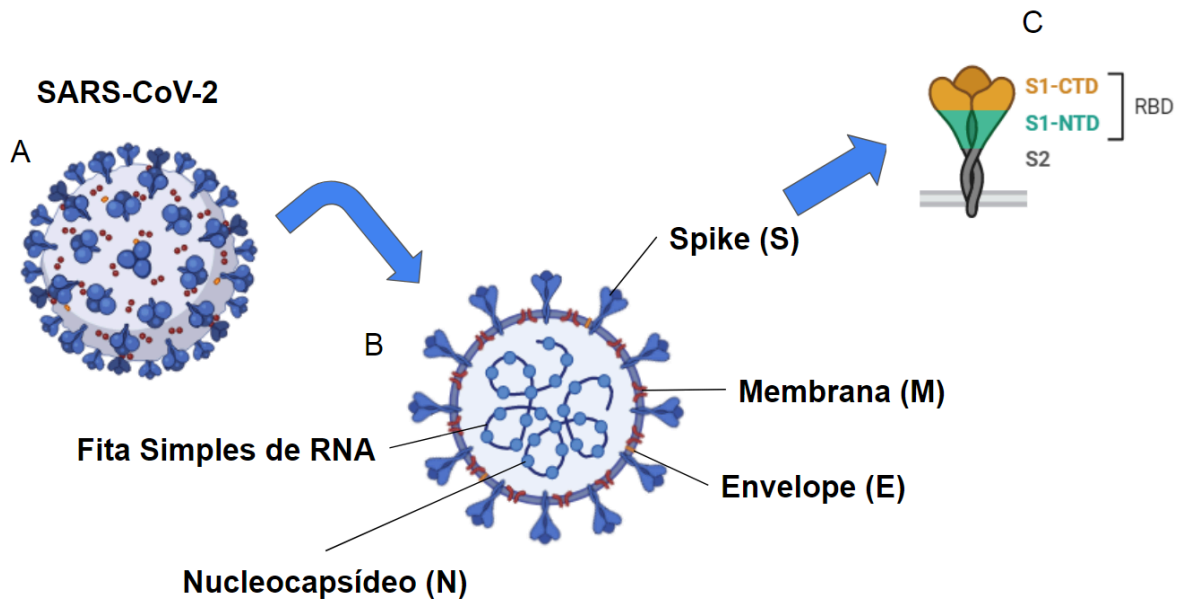


Figura 1: Estrutura geral do SARS-CoV-2. **(A)** Representação esquemática da estrutura do SARS-CoV-2. **(B)** Localização das quatro glicoproteínas do vírus: Spike (S), Membrana (M), Envelope (E), Nucleocapsídeo (N) e RNA de fita simples (genoma viral). **(C)** Ampliação da glicoproteína Spike (S) mostrando as subunidades RBD (S1-CTD e S1-NTD) e S2. Fonte: Elaborada pela autora pelo *software BioRender* (2025).

A replicação do coronavírus tem início na fase de adsorção, com a interação da região RBD da subunidade 1 da proteína Spike com os receptores de membrana da célula hospedeira que varia de acordo com a espécie de coronavírus (Figura 2). O SARS-CoV-2 utiliza como receptor celular a ECA II. Ela é expressa em órgãos como coração, pulmão, rins e até mesmo no endotélio dos vasos sanguíneos, causando reações como miocardite e vasculite sistêmica (FARIAS; ALVARENGA; SOUZA, 2021). O causador da COVID-19 apresenta uma maior afinidade com o receptor da ECA II, o que pode contribuir para a maior difusão comparado ao SARS-CoV-2 (WRAPP et al, 2020).

A próxima etapa depois da adsorção da partícula do vírus é a clivagem da proteína S. Essa etapa é muito importante para a entrada do vírus na célula hospedeira, já que a clivagem ocorre entre as duas subunidades da glicoproteína por meio de proteases celulares e com isso o peptídeo de fusão fica exposto e faz a mediação entre a junção do envelope viral e a membrana da célula hospedeira. No caso do SARS-CoV-2 há a ação da Serina Protease Transmembranar 2 (TMPRSS2) (HOFFMANN et al, 2020).

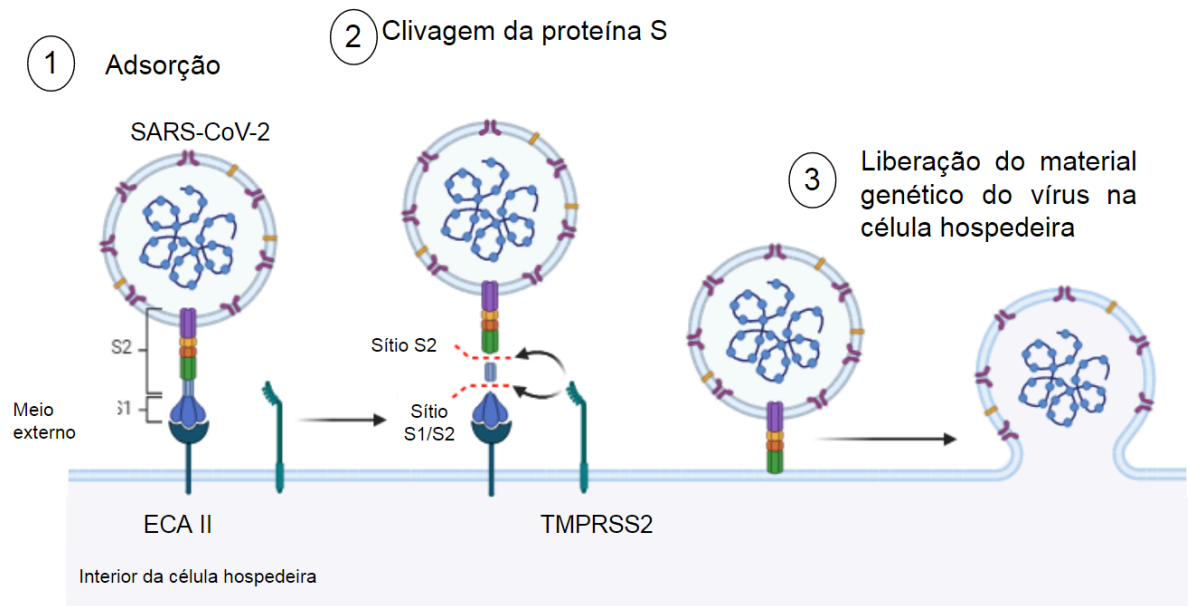


Figura 2: Representação esquemática da entrada do vírus na célula hospedeira. **(A)** Fase de adsorção. O SARS-CoV-2 interage com a região RBD da subunidade 1 da proteína Spike (S) e com o receptor de membrana ECA II pertencente à célula hospedeira **(B)** Fase de clivagem da proteína S. Nessa fase ocorre a clivagem em dois pontos da proteína Spike, uma no sítio S2 e a outra no sítio S1/S2 ocorrendo a ação da Serina Protease Transmembranar 2 (TMPRSS2) **(C)** Nessa fase ocorre a liberação do material genético do vírus na célula hospedeira iniciando seu ciclo de replicação. Fonte: Elaborada pela autora pelo *software BioRender*(2025).

Subsequentemente, o material genético (RNA) é liberado no citoplasma da célula hospedeira (Figura 3). Como o genoma viral é de polaridade positiva é possível a transcrição imediata, formando lipoproteínas pp1a e pp1ab que, por sua vez, são clivadas em Proteínas Não Estruturais (NSPs). Isso cria um ambiente propício à síntese do RNA do vírus sendo utilizado para formar: RNA genômico para novas partículas do vírus e RNA subgenômico. Este último atua como mRNA para formar genes acessórios e proteínas estruturais, as quais são traduzidas nas proteínas E, M e S (FEHR; PERLMAN, 2015).

O RNA genômico está relacionado a várias cópias de nucleoproteínas, formando uma estrutura helicoidal que pode ser liberado com detergentes, já que seu envelope que envolve essa estrutura é formada por uma bicamada lipídica, onde se encontram a proteína de espícula (S), envelope (E) e de membrana (M).

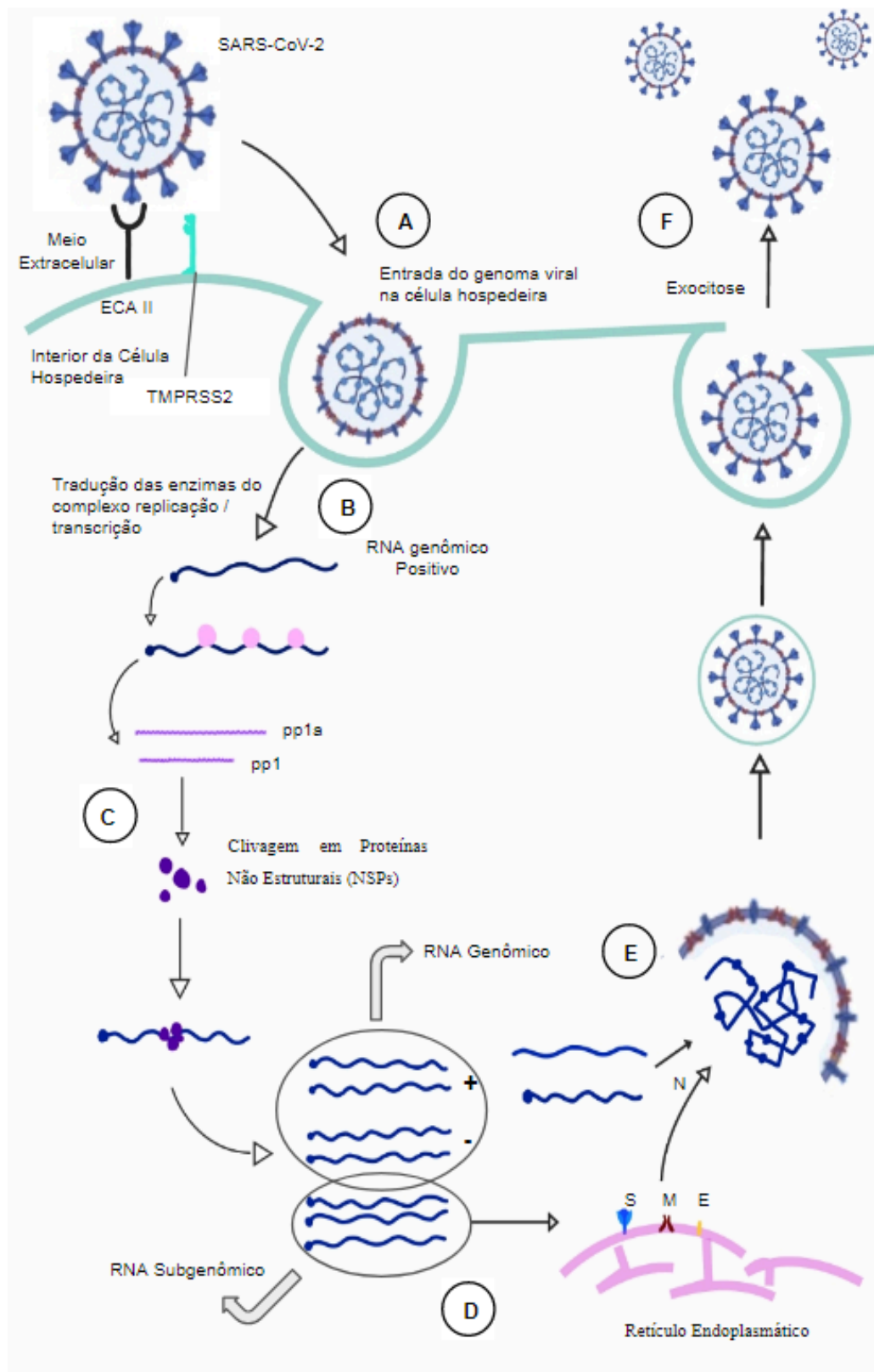


Figura 3: Representação esquemática do ciclo de replicação do SARS-CoV-2. **(A)** O material genético do vírus entra na célula hospedeira **(B)** ocorrendo a liberação do genoma viral positivo seguido da tradução imediata das enzimas do complexo replicação/transcrição. **(C)** Nesse momento ocorre a clivagem das lipoproteínas pp1a e pp1 em proteínas não estruturais (NSPs) formando um ambiente favorável à síntese de RNA viral **(D)** Desse

RNA ocorre a formação do RNA subgenômico do qual irão se formar as proteínas estruturais traduzidas em Envelope (E), Membrana (M) e Spike (S). (E) O RNA genômico será utilizado para a formação de novas partículas do vírus formando o nucleocapsídeo e a fita simples de RNA. (F) Isso proporciona um ambiente propício a síntese do RNA do vírus que é utilizado para formar RNA genômico para novas partículas do vírus e para RNA subgenômico atuante como mRNA para formar genes acessórios e proteínas estruturais que são traduzidas nas proteínas E, M e S. Fonte: Elaborada pela autora pelo *software BioRender* (2025).

1.2 SÍNDROME DA COVID LONGA

A síndrome da COVID longa, também conhecida como condição pós COVID, é uma categoria da doença em que os pacientes não se recuperam totalmente, por meses após a aparição dos primeiros sintomas da infecção pelo SARS-CoV-2. Estudos recentes mostraram um número crescente de pacientes que manifestam sintomas prolongados. Apesar de poucos dados, é provável que pacientes que precisaram de tratamento nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) podem ter uma maior chance de desenvolver a síndrome longa (MIRANDA et al, 2022). Isso não exclui o fato de que pessoas que tiveram casos clínicos leves também tenham sintomas persistentes e que pacientes com casos graves voltem a ter uma vida normal dois meses após a infecção (D'ETTORRE et al, 2021).

A OMS fez uma estimativa de que 10 a 20% dos pacientes que tiveram COVID-19 continuam com os sintomas de forma persistente por meses depois da infecção, o que preocupa os sistemas de saúde pública. Entre os sintomas estão: alteração na função respiratória, doenças cardíacas e vasculares como trombozes, e até mesmo transtornos neurológicos (MIRANDA et al, 2022).

Existem muitos relatos de sequelas neurológicas que estão associadas a COVID-19 que aconteceram durante a fase aguda ou pós-aguda da doença e tem diferentes gravidades e desfechos. A doença mais relatada foi acidente vascular cerebral isquêmico agudo, seguida por síndrome de Guillain Barré, um distúrbio autoimune na qual o sistema imunológico do próprio paciente ataca partes do seu sistema nervoso causando fraqueza muscular e redução nos reflexos (MINISTÉRIO DA SAÚDE), neuropatias cranianas, hemorragias intracerebrais, convulsões e epilepsia (ASSUNÇÃO et al, 2024).

Mais de duzentos sintomas foram relacionados a essa síndrome e não estão restritos a quadros respiratórios. Isso influencia no quadro de especialistas e equipes envolvidas, sendo multidisciplinar, com a contribuição de psicólogos, fisioterapeutas, cardiologistas,

neurologistas e psiquiatras. Até outubro de 2023 o Brasil obteve um dos piores cenários da pandemia da América Latina (BARROS et al, 2024). Além dos sintomas já descritos, há também distúrbios cognitivos, de olfato, do sono e dor de cabeça sendo frequentemente relatados em jovens e mulheres (TAVARES-JUNIOR et al, 2024).

1.3 TROMBOSE VENOSA PROFUNDA

A trombose venosa profunda (TVP) ocorre por conta da formação de um coágulo de sangue em uma veia profunda, com a obstrução parcial ou a oclusão dos vasos (Figura 4). Os locais comuns de ocorrência são coxas e pernas, sendo de 80 a 95% mais frequente em membros inferiores (SOBREIRA et al, 2024). Na maioria das vezes tem tratamento apesar de ser uma condição médica grave. Em alguns casos pode acontecer o deslocamento de parte do coágulo sanguíneo para os pulmões causando uma Embolia Pulmonar complicando a situação e a gravidade do estado de saúde do paciente (CAMPOS e REIS, 2022).

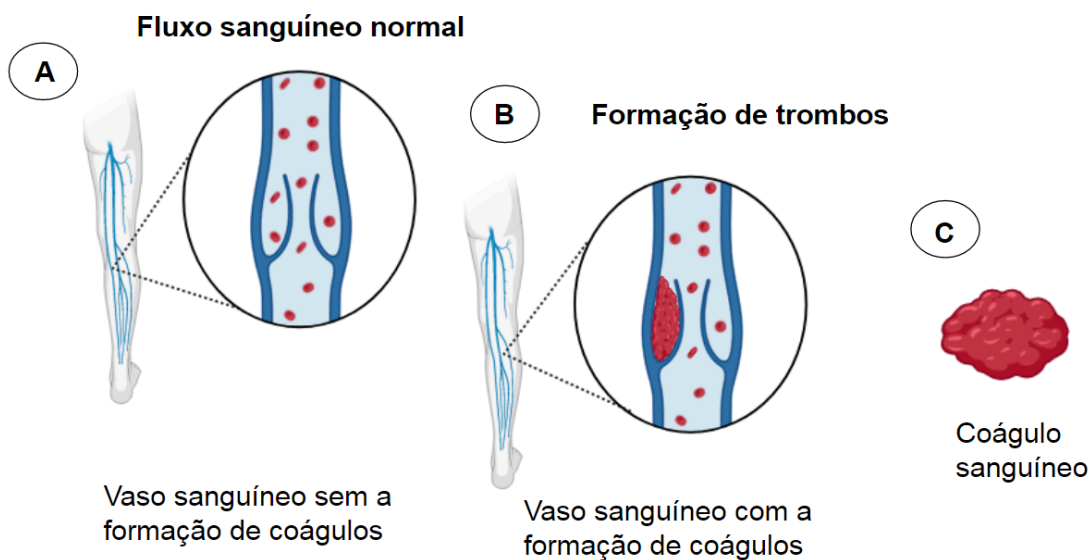


Figura 4: Representação esquemática de Trombose Venosa Profunda (TVP). (A) Nesse esquema didático está representado um membro inferior com vasos sanguíneos sem a formação de coágulos. (B) Nessa representação está esquematizado um membro inferior com vasos sanguíneos que apresenta um coágulo, representando um

evento de TVP. (C) Representação esquemática de um coágulo sanguíneo (figura sem escala). Fonte: Elaborado pela autora pelo *software BioRender*(2025)

Outras complicações causadas por TVP são insuficiência venosa crônica/síndrome pós-trombótica que tem como consequências mudança na pigmentação no membro atingido, edema, dor e úlceras na pele. Os principais fatores de risco que levam a formação dos trombos são lesões no endotélio, estase do sangue e fatores de hipercoagulabilidade. Desse modo, procedimentos cirúrgicos, imobilização, câncer, idade avançada e mudanças de hipercoagulação, sendo eles genéticos ou adquiridos, são fatores que causam a predisposição à formação de trombos (SOBREIRA et al, 2024).

Esses fatores de risco são didaticamente separados em duas classes: Hereditários/Idiopáticos e Adquiridos/Provocados. Nesse primeiro grupo há os fatores genéticos como resistência à proteína C ativada relacionada principalmente ao Fator V de Leiden, aumento do fibrinogênio, déficit de proteína C e antitrombina e mutação no gene da Protrombina G20210A. Já no dos fatores adquiridos estão câncer, sobrepeso e obesidade, gravidez e puerpério, idade superior a 65 anos, traumas, cirurgias, terapias com estrogênios, síndrome nefróticas e doença de Behçet (SOBREIRA et al, 2024).

Embora o SARS-CoV-2 afete principalmente os pulmões, os pacientes que apresentam COVID têm distúrbios de coagulação predispondo a TVP (FARIAS; ALVARENGA; SOUZA, 2021). Essa é uma das complicações associadas a COVID-19 e, em crescente número de casos, pois gera uma inflamação sistêmica, disfunção do endotélio, infecção na corrente sanguínea e, com isso, o paciente tem uma maior chance de desenvolver casos de trombose (CAMPOS e REIS, 2022).

Isso acontece porque os vasos sanguíneos que estão danificados, seja por conta da inflamação ou lesão, tendem a convocar células imunes para o local, como leucócitos, macrófagos e mastócitos, levando a liberação de outras moléculas como dímero-D e fibrinogênio, por exemplo. Com o sistema desregulado há a contribuição para ativação da cascata de coagulação gerando a hipercoagulação, aumentando o risco de trombose (FARIAS; ALVARENGA; SOUZA; 2021).

O diagnóstico de TVP é principalmente por exames de imagem como a ultrassonografia Doppler, no qual identifica vasos com precisão e confirma a compressibilidade de uma segmentos (BURGAZLI et al, 2011). Outros métodos são

realizados por exames físicos, já que os principais sintomas são dor, cianose, edema e aumento da temperatura do local; Exames laboratoriais como o exame que avalia o valor de D-dímero (DD), um marcador molecular. Esse marcador resultante da dissolução da fibrina geralmente está elevado quando há eventos trombóticos. Porém, esse marcador pode estar elevado em outros casos como câncer, gravidez, traumas, infecções e idade avançada diminuindo a especificidade do teste. Um modelo de predição clínica de TVP é o Escore de Wells (EW). Ele combina sintomas, fatores de risco e diagnósticos alternativos fazendo uma estimativa da probabilidade pré-teste para TVP classificando-o como baixa, moderada e alta (SOBREIRA et al, 2024).

1.4 GENE *PROTROMBINA* (rs1799963)

A protrombina é uma proteína do sangue, antecessora a trombina, que após a estimulação da cascata de coagulação, favorece a formação de fibrina. Ela tem um importante papel no equilíbrio anticoagulante do sangue e é sintetizada no fígado quando há vitamina K (HERKENHOFF et al, 2012).

Essa proteína, que também é conhecida como fator II de coagulação, tem como responsável o gene presente no cromossomo 11, composto de 13 introns e 14 exons. (HERKENHOFF et al, 2012). A mutação pontual G20210A (rs1799963) localizada na região 3'UTR do gene realiza a substituição de guanina por adenina no locus 20,210, o que aumenta 30% os níveis de protrombina em heterozigotos e 70% em homozigotos (SHIBEEB et al, 2024).

Essa substituição de base única (AG) traz um risco três vezes maior de tromboembolismo venoso (TEV) devido ao nível de protrombina plástica aumentado e possivelmente maiores riscos de acidentes vasculares cerebrais isquêmicos (SATYARTHI et al, 2024) O TEV apesar de ser um condição única é dividida didaticamente em duas formas: trombose venosa profunda (TVP) e o Tromboembolismo Pulmonar (TEP) (Figura 5)

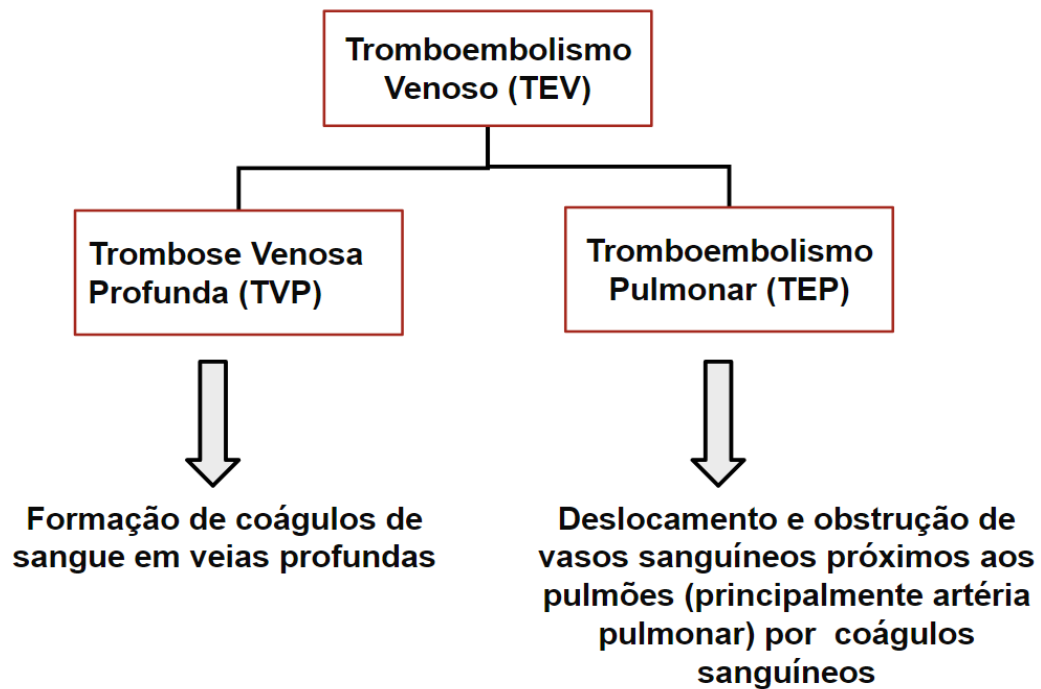


Figura 5: Fluxograma de Tromboembolismo Venoso (TEV). Divisão didática de Tromboembolismo Venoso (TVE) em Trombose Venosa Profunda e Tromboembolismo Pulmonar. Fonte: Elaborado pela autora pelo (2025)

1.5 GENE DA ENZIMA CISTATIONINA BETA-SINTASE

O gene da enzima *Cistationina beta-sintase* (*CBS*) está localizado no cromossomo 21 (SKOVBY; KRASSIKOFF; FRANCKE, 1984) na região subtelomérica da banda 21 no braço q (MUNKE et al, 1988). Esse gene consiste em 23 exons, tendo um comprimento de 25-30 kbp e codifica uma proteína de 551 aminoácidos. A maior parte dos alelos do gene *CBS* são mutação *missense* e a mutação 844ins68 ocorre em aproximadamente 5% dos caucasoides (ZHU et al, 2024).

Com relação a sua estrutura a CBS apresenta quatro subunidades de 63 kDa, sendo que cada uma contém três domínios que são responsáveis por realizar a ligação de nucleotídeos de adenosina promovendo a regulação de proteínas (WANG et al, 2024).

O primeiro domínio, de ligação N-terminal, pode promover a interação com o cofator heme que atua como um sensor de oxidação-redução e ajuda as proteínas se dobrarem corretamente. O segundo domínio, o catalítico central, faz a ligação junto ao cofator piridoxal-5'-fosfato (PLP) e participa da catalização e regulação da atividade da enzima. O

terceiro domínio, o regulador C-terminal, faz ligação como ativador alostérico s-adenosilmetionina (SAM) (WANG et al, 2024).

BRAUNSTEIN et al (1969) isolou pela primeira vez a CBS do fígado de frango. Ela é uma enzima com grande importância para o corpo humano pois essa enzima realiza a catalização da condensação de homocisteína (Hcy) com a serina formando cisteína glicina. Esse é o início e um fator que limita a taxa nas vias transsufuradas (WANG et al, 2024).

A CBS promove a mediação da conversão de homocisteína em cistationina. Com seu mau funcionamento, há associação a predisposição de distúrbios cardiovasculares, pois a homocisteína é vasculotóxica e neurotóxica. Entre as diversas anormalidades causadas pela insuficiência na atividade da CBS está desde o tromboembolismo até anormalidades psiquiátricas e neurológicas (DUTTA et al, 2005).

Essa enzima também participa da catalização da produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) por várias vias. Junto com a 3 - mercaptopiruvato sulfurtransferase (3 - MST) e cistationina γ -liase (CSE) fazem parte do grupo principal que catalisa a produção de H₂S. (WANG et al, 2024).

Na literatura encontra-se um grande número de polimorfismos e mutações deste gene, entre eles três mutantes “sem sentido” e variantes de deleção, inserção e *splicing* (DUTTA et al, 2005). O polimorfismo *844ins68* desse gene é um fator complementar de risco do paciente apresentar TVP (BONINI-DOMINGOS, 2005).

A CBS está distribuída amplamente em humanos e em outros sistemas biológicos, principalmente no citoplasma, mas também pode ser encontrada nas mitocôndrias e núcleo em casos de hipóxia ou estresse nuclear. Essa enzima foi identificada em células do endotélio de ductos coletores, glomérulos e artérias interlobulares. Além disso, está presente em vários tecidos como o trato gastrointestinal, tecido muscular e pulmão mesmo que em baixas quantidades (WANG et al, 2024)

1.6 GENE DO FATOR V DE LEIDEN (FVL) (rs 6025)

O gene para o Fator V de Leiden (*FVL*) está localizado no cromossomo 1 na região q21-25 (RAMOS et al, 2006) e é um importante fator ligado à trombose venosa, pois seu polimorfismo *G1691A* tanto homozigoto, quanto heterozigoto, deixa os portadores resistentes

à proteína C ativada e isso os torna sete vezes mais sensível a trombose (SOARES e CARVALHO, 2005). Ele é uma alteração hereditária, autossômica dominante, que afeta o desempenho da proteína C reguladora do sistema de coagulação sanguínea. A proteína C fica mais resistente, pois há a troca dos aminoácidos arginina 506 do fator V pela glutamina, e isso faz com que aumente o risco de trombose (GODOY, 2005).

A via da proteína C tem um importante papel na regulação negativa de coagulação por conta da inativação proteoliticamente de Va (FVa) e VIIIa (FVIIIa), cofatores não enzimáticos. A deficiência na funcionalidade dessa via resulta de um fenótipo chamado de resistência à proteína C ativada (APC), mostrando a falta de capacidade relativa da APC exógena de aumentar o tempo de coagulação. Essa resistência à APC é o mais comum fator de risco para tromboembolismo venoso (BRUGGE et al, 2005).

A mutação do Fator V tem meia-vida e atividade de prócoagulação prolongada fazendo com que os pacientes fiquem em estado de hipercoagulação. Em pessoas com genótipo heterozigoto o risco do desenvolvimento de TVP é de cinco a sete vezes maior comparado com a população em geral (HAN, BURDSALL, ESCAMILLA, 2024).

2. JUSTIFICATIVA

Considerando os eventos adversos da COVID-19, especialmente nos casos de COVID longa, relacionados a tromboembolismo venoso e a frequência de mutações nos genes *Protrombina*, *Cistationina Beta Sintase* e *Fator V de Leiden* que predisõem a trombose na população, neste trabalho foi investigado a frequência dos polimorfismos *G20210A*, *844ins68*, *G1691A* nesses genes em pessoas que contraíram COVID-19 e manifestaram eventos clínicos de gravidade variada para predição de TVP.

Justificamos a importância do estudo como forma de prevenir eventos trombóticos graves em pessoas com as mutações predisponentes.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Esse projeto teve como objetivo geral investigar a frequência dos polimorfismos genéticos que favorecem TVP relacionados ou não com a manifestação clínica de COVID em adultos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Classificar o grupo de estudo de acordo com as características demográficas, sexo biológico, idade, etnia e manifestações clínicas da COVID-19;
- Investigar a frequência dos polimorfismos *G20210A* da *protrombina*, *G1691A* do *fator V de Leiden* e *844ins68* da *cistationina beta-sintase*;
- Relacionar a presença dos polimorfismos com a gravidade do COVID-19.
- Comparar a frequência dos polimorfismos entre os grupos com COVID-19 e sem COVID-19

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Casuística

Este foi um estudo, caso/controle pareado. Para composição do grupo caso/teste foram realizadas coletas de aproximadamente 5mL de sangue periférico com EDTA a 5% de 188 adultos, residentes da cidade de São José do Rio Preto-SP, que já tiveram COVID-19, com diferentes graus de gravidade da doença. Para coletar as amostras foi utilizada a técnica de punção venosa com escalpe.

Esse grupo foi separado segundo a gravidade da COVID-19 em leve, moderado e grave de acordo com as respostas do questionário elaborado por RIBEIRO (2022) (Anexo E)

O grupo controle foi composto por 186 adultos, pareados por sexo e idade, que não apresentaram COVID-19. Esse grupo não teve contato com o vírus, pois a coleta e análise dos dados foi realizada muito antes da pandemia de COVID-19.

Os dados estão contidos em planilhas e codificados, preservando assim a identidade dos pacientes que participaram da pesquisa. Para esse grupo foram trabalhados somente os dados planilhados e não as amostras biológicas, que já não existem.

O grupo teste (com COVID) foi separado em três subgrupos com diferentes graus de gravidade da doença (Leve, moderado e grave), por meio de inquérito investigativo realizado pelo projeto “Relação da Infecção e Gravidade Clínica de Pacientes com COVID-19 e com os Polimorfismos no Gene *HFE* (*H63D*, *C282Y* E *S65C*)”. Os pacientes responderam um questionário que está nos anexos. Os testes que confirmaram a infecção foram realizados pelo RT-PCR.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus São José do Rio Preto (UNESP/IBILCE) CAAE: 78503224.0.0000.5466 (Anexo C).

O número total de amostras coletadas durante o projeto foi de 188 amostras. Dessas amostras foi realizada a genotipagem de 131 pacientes para o gene *CBS*, 102 para o gene

protrombina, 110 para o gene do *Fator V de Leiden* (Figura 6) e 70 para os três genes. Algumas amostras não obtiveram resultados positivos nos testes moleculares e, por esse motivo, não foram incluídas nas relações de análises. Com relação ao questionário, foram obtidas 168 respostas dos 188 participantes da pesquisa. Todas as amostras coletadas ($n = 188$) passaram por testes da triagem básica para o diagnóstico de hemoglobinopatias no laboratório de Hemoglobinas da UNESP, e tiveram seu DNA extraído pelo método de precipitação salina ou *salting-out*.

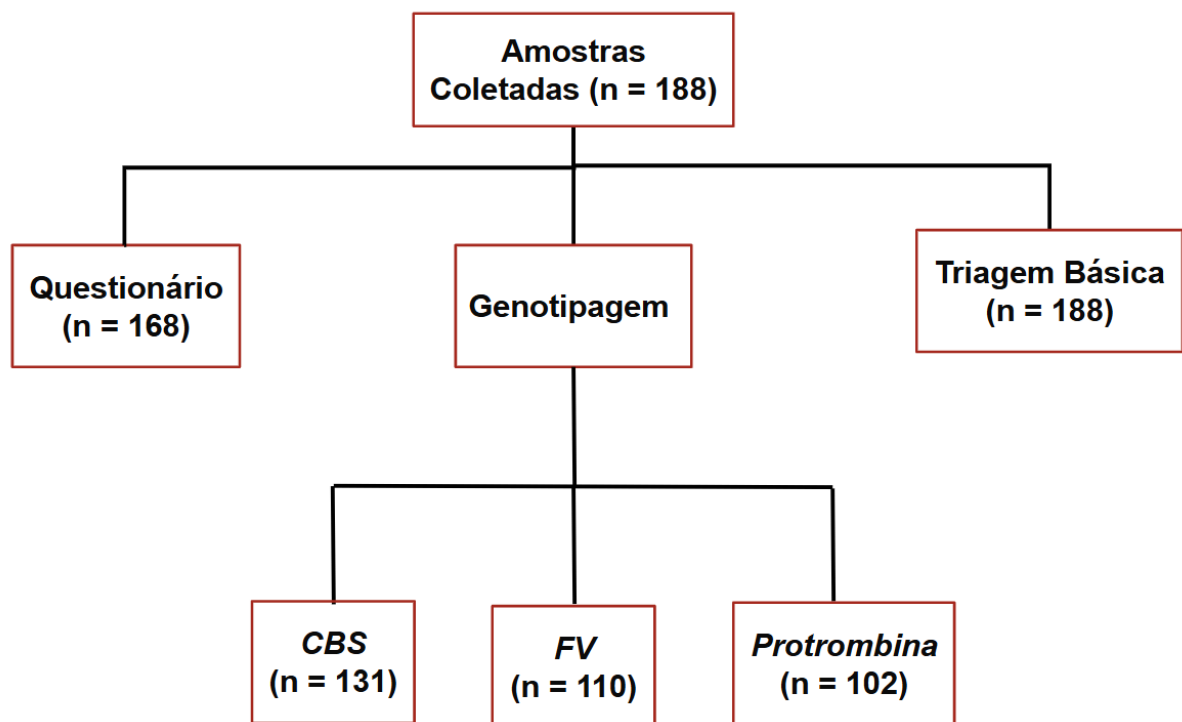


Figura 6: Fluxograma representativo das amostras coletadas. As 188 amostras de sangue coletadas passaram por teste de triagem básica do laboratório e extração de DNA. Foram feitos testes de genotipagem quanto a três polimorfismos e os pacientes responderam a um questionário investigativo.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Extração de DNA

Foi realizada a extração de DNA dos leucócitos seguindo o Protocolo de Extração do Método por Precipitação Salina ou *Salting-out* (SAMBROOK; FRITSCH; MANIATIS, 1989 - adaptado por LHGDH).

Para iniciar foi separado 1 mL de sangue periférico, coletado com EDTA, colocado em um tubo de microcentrífuga esterilizado e esse sangue foi levado à centrífuga para centrifugação a 5000 rpm durante 5 minutos em temperatura ambiente. O plasma foi retirado e foi adicionado ao tubo 900 µL de tampão 1X com triton (5ml de tampão 10X e 45 ml de Triton).

Esse tubo foi novamente para centrifugação a 5000 rpm em temperatura ambiente por 5 minutos. Depois disso, retirou-se o sobrenadante e o foi adicionado ao sedimento 1 ml de tampão 1x (5 ml de tampão 10X e 45 ml de água miliQ) para que ocorresse mais uma etapa da lavagem. Esse processo foi repetido até o material ficar branco, ou seja, sem os glóbulos vermelhos ou resíduos de hemoglobina, tem a etapa de lise dos leucócitos.

O sobrenadante foi descartado e a adicionou-se 1mL do tampão 1x e 1µL da Proteinase K para que ocorresse a quebra das proteínas que estão presentes no meio. Após isso, o material foi homogeneizado em Vortex e novamente centrifugado a mesma rotação, temperatura e tempo das etapas anteriores e o sobrenadante foi descartado.

Depois, foi adicionado 200 µL de tampão 1x no tubo. Após homogeneizado e adicionado 20µL de SDS a 10% ocorreu novamente a homogeneização e o tubo ficou por 15 minutos ao banho-maria com a água na temperatura de 56°C. Após esse período foi adicionado 100µL de NaCl (5M), homogeneizado e centrifugado a 1200 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente.

O precipitado foi descartado, já o sobrenadante foi passado para outro tubo estéril, adicionando 1mL de etanol absoluto gelado e após a inversão de forma delicada do tubo, ocorreu a precipitação do DNA. Em seguida esse material esteve no congelador por no mínimo 30 minutos.

Depois desse período foi realizada uma nova centrifugação a 1200 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente e o álcool absoluto foi removido. Em seguida, adicionou-se 1 mL de etanol 70% gelado e com isso o DNA foi lavado, centrifugado nas mesmas condições de temperatura, rotação e tempo anterior. Após a repetição desse passo mais uma vez, o álcool foi retirado do tubo e esse foi deixado envolto de papel absorvente para que todo o etanol evaporasse por no mínimo cinco horas ou *overnight*.

O próximo passo depois da evaporação completa foi a reidratação do DNA. Nessa etapa foi adicionado 30µL de água destilada ao tubo, tomando cuidado para colocar em cima de onde o DNA se encontra. Por fim, foi incubado a 56°C no banho maria por 15 minutos e armazenado no freezer.

4.2.2 Quantificação de DNA

Depois de reidratado, esse DNA foi quantificado no espectrofotômetro do tipo *NanoDrop*. Foi adicionado no equipamento 1µL da solução de DNA homogeneizado para verificar o grau de pureza e a qualidade de extração. A concentração de DNA na amostra deve estar em no mínimo 100 ng/µL.

Quando a amostra estava com uma concentração muito acima do previsto nos protocolos de análise molecular (de 100 ng/µL até 160 ng/µL, aproximadamente), era realizada a diluição até chegar na concentração desejada.

4.2.3 Análise Molecular

As análises moleculares foram realizadas seguindo protocolos específicos para a detecção dos polimorfismos nos três genes estudados: *G20210A* do gene da *protrombina*, *G1691A* no gene do *fator V de Leiden* e *844ins68* do gene da *cistationina beta-sintase*.

‘Protocolo para detecção de *Cistationina beta-sintase*’.

Para a amplificação foi utilizado o mix contendo reagentes como cloreto de magnésio (MgCl₂), DNA molde, Taq, dNTP, tampão sem MgCl₂, H₂O ultrapura nas concentrações e volumes descritas no protocolo (Quadro 1) junto com a sequência de primers utilizados na reação (Quadro 2).

Reagente	Concentração	Volume
H ₂ O	-	18,1 µL
Tampão sem MgCl ₂ (Buffer)	10X	2,5 µL
MgCl ₂	50 mM	0,8 µL
dNTP	1,25 mM cada	1,0 µL
Primer Cys A	10 uM	0,25 µL
Primer Cys B	10uM	0,25 µL
Taq (5U)	5U/µL	0,3 µL
DNA molde	100 ng/µL	1,0 µL

Quadro 1 Representação dos reagentes utilizados para composição do mix para a PCR do gene *CBS*. Nesse diagrama é possível observar também qual a concentração e o volume de cada um dos reagentes utilizados em uma amostra. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Cys A	5'CTG GCC TTG AGC CCT GAA 3'
Cys B	5'GGC CGG GCT CTG GAC TC 3'

Quadro 2: Primers utilizados no mix para a PCR do gene *CBS*. Fonte: Elaborado pela autora (2025)

Esse mix foi colocado no termociclador para PCR (Reação em cadeia da polimerase) que foi programado nas seguintes condições: 94°C a cinco minutos para a desnaturação; um ciclo com 30 repetições de um minuto a 94°C, um minuto a 60°C e um minuto a 72°C para etapa de anelamento e um 72°C por sete minutos para extensão.

Depois foi preparado o gel de agarose 1,5%. Para isso foi utilizado agarose em pó e 30 mL de tampão TEB 1X e depois de levada ao microondas por um minuto (parando para mistura a cada 15 segundos), foi adicionado brometo de etídeo e colocado em uma estrutura balanceada até se solidificar.

Depois de retirar do termociclador o tubo de 0,2 ml contendo o produto da PCR, ou seja, o amplificado foi aplicado no gel da seguinte forma: no primeiro poço do gel colocou-se 10µL de *Ladder*, o marcador de peso molecular, de 100pb. Nos outros compartimentos do gel foi adicionado a mistura de 6µL do produto da PCR e 4µL de corante.

O próximo passo foi a eletroforese, que aconteceu por 40 minutos a 80 Volts. Passado esse tempo o resultado foi revelado por luz *UV* mostrando as bandas que foram analisadas. Para esse polimorfismo é possível observar as bandas de 184 pb (pares de base) corresponde ao alelo *N*, a banda 252 pb corresponde ao alelo *M*, tendo três possíveis genótipos *MM*, *MN* e *NN* (Figura 7).

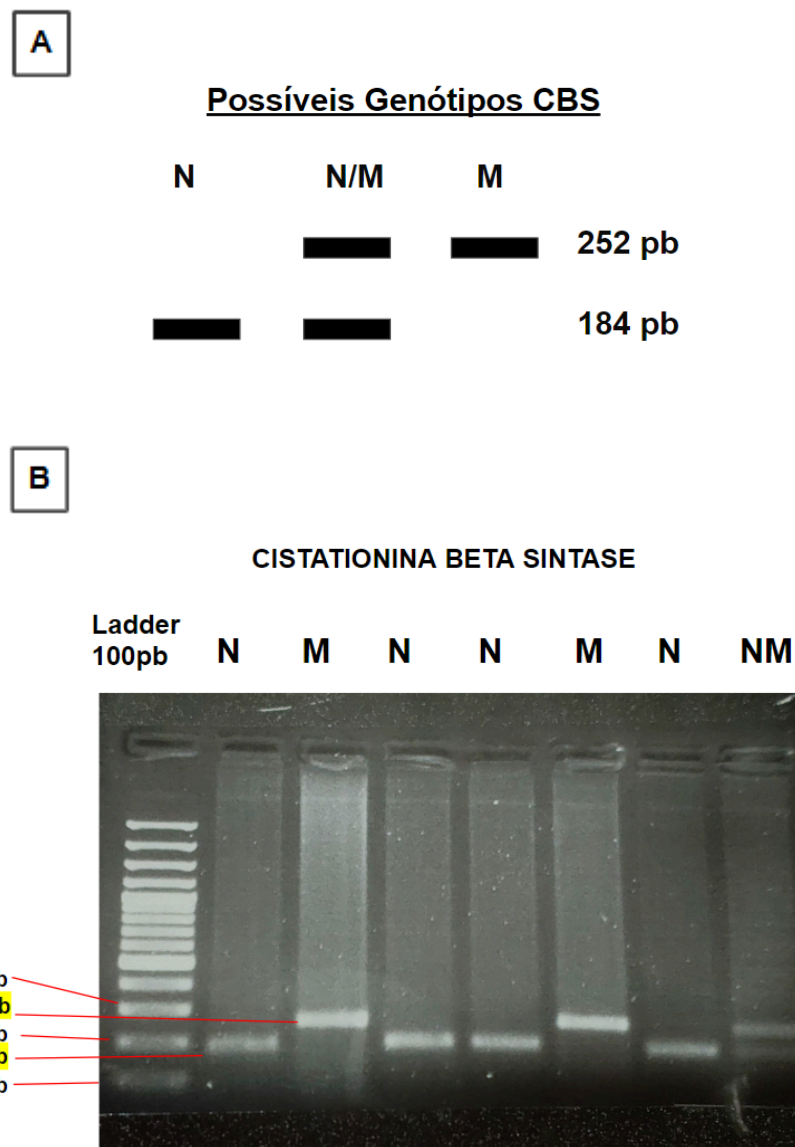


Figura 7: Representação esquemática dos possíveis genótipos do gene *Cistationina beta-sintase (CBS)*. **(A)** Nela pode-se visualizar os fragmentos 184 pb que caracteriza o alelo selvagem (N) e o fragmento de 252 pb caracterizando o alelo mutante. **(B)** Na imagem do gel de agarose após a eletroforese observado no transiluminador por luz UV é possível observar as bandas que caracterizam os genótipos do gene Cistationina beta-sintase (CBS). No primeiro poço está aplicado a Ladder o marcador de peso molecular de 100pb. Nos poços seguintes estão aplicados o amplificado contendo DNA. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

“Protocolo para detecção do *Fator V de Leiden* PCR-RFLP”.

O amplificado foi feito pelo mix que continham os reagentes (Quadro 3) e a sequência de primers FV1 e FV2 (Quadro 4).

Reagente	Concentração	Volume
H ₂ O	-	17,1 µL
Tampão sem MgCl ₂ (Buffer)	10X	2,5 µL
MgCl ₂	50 mM	0,75 µL
dNTP	1,25 mM cada	1,5 µL
Primer Cys A	10 uM	0,5 µL
Primer Cys B	10uM	0,5 µL
Taq (5U)	5U/µL	0,2 µL
DNA molde	100 ng/µL	2,0 µL

Quadro 3: Representação dos reagentes utilizados para composição do mix para a PCR para o gene *FV*. Nesse diagrama estão também as concentrações e volumes para uma amostra. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

FV1	5' CTT GAA GGA AAT GCC CCA TTA 3'
FV2	5'TGC CCA GTG CTT AAC AAG ACC A 3'

Quadro 4: Sequência de primers utilizados no mix para a PCR do gene *FV*. Fonte: Elaborado pela autora (2025)

O mix foi colocado no termociclador para PCR (Reação em cadeia da polimerase) programado nas seguintes condições: 94°C a cinco minutos para a desnaturação; um ciclo com 35 repetições de um minuto a 94°C, um minuto a 60°C e um minuto a 72°C para etapa de anelamento e um 72°C por sete minutos para extensão.

A próxima etapa foi realizar a digestão com a enzima de restrição *MnII*. Para o preparo do mix foi utilizado 1 µL do tampão 1X, 0,5 µL de enzima *MnII*, 8,5 µL de água ultrapura e

10 μ L do produto da PCR. Depois de montado o mix, o microtubo estéril foi para o termociclador onde permaneceu por 10 minutos a uma temperatura de 37°C.

Em seguida foi preparado o gel de agarose 2,5% com agarose em pó e 30 mL de tampão TEB 1X realizado da mesma forma do gel para *CBS*. Depois de retirar do termociclador o tubo de 0,2 ml contendo o produto da digestão foi aplicado no gel junto com o corante.

Para finalizar, foi realizada uma eletroforese de 40 minutos a 100 Volts. Depois de revelado em luz UV foi possível observar que o alelo selvagem formou três fragmentos 116, 67 e 27 pb. Já o alelo mutante formou dois fragmentos: 153 e 67 pb (Figura 12).

A

<u>Possíveis Genótipos Fator V de Leiden</u> <u>após Digestão</u>				
N	N/M	M		
	■	■	153 pb	
■	■		116 pb	
■	■	■	67 pb	
■	■		27 pb*	banda não visível

B

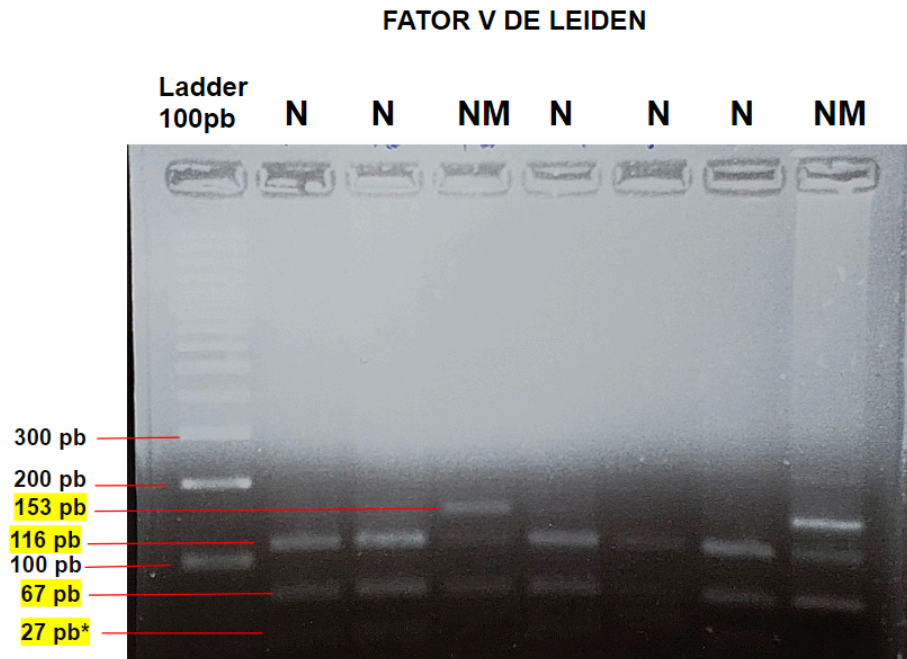


Figura 8: Representação esquemática dos possíveis genótipos do gene *Fator V de Leiden*. **(A)** Pode-se observar os fragmentos 153 e 67 pb que caracterizam o alelo mutante (M) e os fragmentos de 116, 67 e 27 pb caracterizando o alelo selvagem (N). **(B)** Imagem do gel de agarose 2,5% após a eletroforese observada no transiluminador por luz UV. No primeiro poço está aplicado a Ladder de 100pb. Nos poços seguintes estão aplicados o produto da digestão. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

“Protocolo para detecção do polimorfismo *G20210A* no gene *Protrombina* - PCR-RFLP”.

Para isso foi preparado o mix (Quadro 5) contendo reagentes e a sequência de primers Prot F e Prot R (Quadro 6)

Reagente	Concentração	Volume
H2O	-	18,1 µL
Tampão sem MgCl2 (Buffer)	10X	2,5 µL
MgCl2	50 mM	0,8 µL
dNTP	1,25 mM cada	1,0 µL
Primer Cys A	10 uM	0,25 µL
Primer Cys B	10uM	0,25 µL
Taq (5U)	5U/µL	0,3 µL
DNA molde	100 ng/µL	1,0 µL

Quadro 5: Representação dos reagentes utilizados para composição do mix para a PCR para o gene *Protrombina*. Também está representado as concentrações e volumes para uma amostra. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

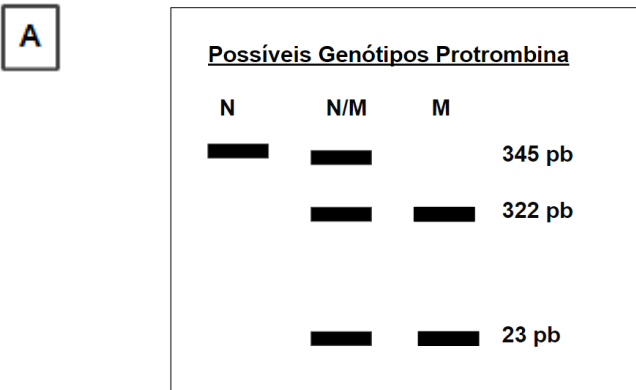
Prot F	5' TCT AGA AAC AGT TGC CTG GC 3'
Prot R	Prot R 5' ATA GCA CTG GGA GCA TTG AAG C 3'

Quadro 6: Sequência de primers utilizados no mix para a PCR do gene *Protrombina*. Fonte: Elaborado pela autora (2025)

Esse mix foi colocado no termociclador para PCR (Reação em cadeia da polimerase) programado nas seguintes condições: 94°C a dez minutos para a desnaturação; um ciclo com 40 repetições de um minuto a 94°C, um minuto a 57°C e um minuto a 72°C para etapa de anelamento e um a 72°C por cinco minutos para extensão.

Em seguida, foi realizada a digestão com a enzima de restrição *HindIII*. Para o preparo do mix foi utilizado 1 µL do tampão 1X, 0,5 µL de enzima *HindIII*, 8,5 µL de água ultrapura e 10 µL do produto da PCR. O novo mix foi colocado no termociclador por 10 minutos a uma temperatura de 37°C.

O próximo passo foi preparar o gel de agarose 2,5% e fazer a aplicação do produto da digestão com o corante. A análise foi finalizada com eletroforese de 50 minutos a 100 Volts. Depois de revelado em luz UV foi possível observar que o alelo selvagem formou um fragmento 345 pb. Já o alelo mutante formou dois fragmentos de 322 e 23 pb (Figura 9).



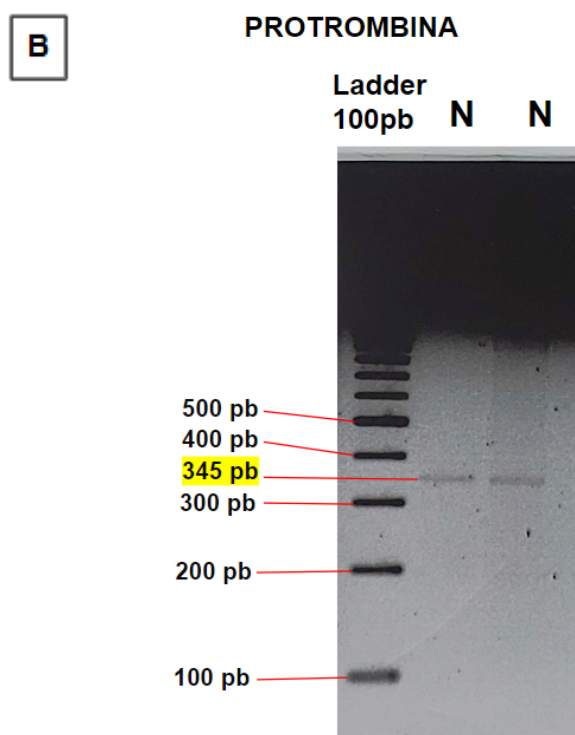


Figura 9: Representação esquemática dos possíveis genótipos do gene *Protrombina*. **(A)** Pode-se observar os fragmentos 345 pb que caracteriza o alelo selvagem (N) e os fragmentos de 322 e 23 pb caracterizando o alelo mutante (M). **(B)** Imagem do gel de agarose 2,5% após a eletroforese observada no transiluminador por luz UV. No primeiro poço foi realizada a aplicação da Ladder de 100pb. Nos seguintes foram aplicados o produto da digestão. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

4.2.4 Análises estatísticas

Para finalizar, foram realizadas as análises estatísticas utilizando o *software IBS SPSS Statistics 20*. Dentre os testes realizados foi utilizado o de *Shapiro-Wilk* para verificar a normalidade e *Levene* para homocedasticidade. Como os dados não apresentaram distribuição normal e são heterocedásticos, portanto, não são paramétricos, foi utilizado o teste *Kruskal-Wallis* para comparar os grupos (MOYA, 2020).

Para as análises dos genótipos também foi utilizado o teste Qui-quadrado com grau de significância $p < 0,05$. As frequências alélicas e a distribuição dos genótipos em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg foram estimadas na calculadora online Wp Calc e no software online Genepop.

5. RESULTADOS

Os resultados foram obtidos pelas análises de 168 amostras de pacientes, com idades de 18 a 76 anos, com média e desvio padrão de $29,7 \pm 13,2$. Os dados obtidos por meio do questionário realizado logo após a coleta das amostras de sangue estão sintetizados na **Tabela 1**.

Mais da metade das indivíduos que aceitaram participar da pesquisa são do sexo biológico feminino (61,3%) totalizando 103 participantes de 18 a 76 anos. Os participantes do sexo masculino foram 65 (38,7%), com idades entre 18 e 62 anos. Os dados sobre a etnia foram obtidos por meio da autodeclaração dos pacientes. A maioria do grupo foi composto por Caucasoides (74,4%) perfazendo um total de 125 indivíduos, sendo 86 (51,2%) do sexo feminino e 39 (23,2%) do sexo masculino. Apenas seis participantes (3,6%) se autodeclararam afrodescendentes, sendo três mulheres (1,8%) e três homens (1,8%). A autodeclaração de Pardos foi de 33 pessoas (19,6%), sendo 12 do sexo feminino (7,1%) e 21 do sexo masculino (12,5%). A frequência dos que se autodeclararam asiáticos foi de 1,2% (duas mulheres e dois homens) para ambos sexos, totalizando quatro participantes. A partir do teste Qui-quadrado foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) no critério etnia.

Com relação a gravidade, a maior parte dos casos foram da forma leve da COVID-19. Quase metade desse casos foram no sexo feminino (48,2%) e 23,2% no sexo masculino. De forma moderada da COVID-19, ambos sexos tiveram a mesma frequência - 13,1% (22 casos cada sexo). As mulheres não tiveram a forma grave da COVID-19, enquanto cinco homens relataram essa manifestação clínica. Foi observado diferença significativa entre as formas de gravidade da COVID-19 ($p < 0,05$; Tabela 1).

A maior parte dos pacientes não apresentaram sequelas decorrentes da COVID-19, totalizando 73,2%. (123 casos), sendo 44% do sexo feminino e 29,2% masculino. As mulheres foram a maior parte (17,3%) entre os pacientes que apresentaram sequelas. As sequelas mais relatadas foram: diminuição do olfato, paladar, dor muscular, queda de cabelo, falta de ar, pigarro constante, nível de vitamina D baixo, cansaço e fraqueza. A sequela que mais apareceu foi problemas relacionados à memória, seguida de queda de cabelo e alteração no olfato. Alguns pacientes relataram ter até quatro sequelas decorrentes da COVID-19, como problemas de memória, dor muscular e alteração no paladar e olfato.

Alguns pacientes relataram ter sintomas por mais tempo (prolongada) e outros por menos tempo (intermediário e curto). Os sintomas apareceram por um curto período em 116 pacientes (69%), entre eles 74 (44%) eram do sexo feminino e 42 (25%) do sexo masculino. Com relação ao período dos sintomas intermediário observamos 25 (14,9%) mulheres e 19 (11,23%) homens, totalizando 44 (26,2%) dos participantes. Por fim, oito (4,8%) tiveram sintomas de forma prolongada, sendo 4 (2,4%) mulheres e quatro (2,4%) homens.

Como os participantes da pesquisa eram pessoas que trabalham ou estudam no *campus*, todos tomaram a vacina contra COVID-19. A maioria dos participantes (48,8%) recebeu três doses da vacina até a data da coleta, 44% recebeu quatro doses e 7,1% recebeu apenas duas doses da vacina.

Aos participantes também foi perguntado sobre uso de medicamentos, sendo que a maioria (107, 63,7%) não usa nenhuma medicação de uso contínuo. Dentre eles, 50 (29,8%) são mulheres e 57 (33,9%) são homens. Dentre os participantes que usam medicamentos (36,3%), 53 (31,5%) são mulheres e oito (4,8%) são do sexo masculino. A maioria dos medicamentos são anticoncepcionais, antidepressivos e medicamentos para diabetes e pressão alta. O teste estatístico foi significativo com ($p < 0,05$).

Outra pergunta foi sobre o hábito de fumar. A maioria dos participantes responderam que não fumam cigarro (93,5%), dentre os quais 95 (56,5%) são mulheres e 62 (36,9%) são homens. Dentre os que responderam que sim (6,5%), a maioria (4,8%) são do sexo feminino.

O uso de bebidas alcoólicas foi dividido em três classificações: não, raramente ou regularmente. A maioria respondeu que bebe raramente (61,3%), seguido pelos que não utilizam e o menos frequente foi a classificação regular. Entre os que utilizam bebidas alcoólicas regularmente houve 31 respostas (18,5%), sendo 16 homens e 15 mulheres.

A presença de comorbidade também foi um fator avaliado pelo questionário. A maioria não apresentavam comorbidades (85,1%) e entre os que apresentavam foi dividido em: um tipo (10,1%), dois tipos (3,6%) e três tipos (1,2%). Em todos os critérios ocorreu uma maior frequência de mulheres com comorbidades e as mais frequentes foram diabetes, hipertensão e obesidade.

Com relação a prática de atividade física, a maioria relatou que não pratica com frequência (56%) e 44% praticam regularmente, sendo que a maioria são indivíduos do sexo feminino (23,8%).

Por fim, foi perguntado se os pacientes fizeram a dosagem de vitamina D e a maioria respondeu que não (75%). Entre os positivos, a maioria eram mulheres (19%). Nesse caso houve significância estatística ($p < 0,05$).

Tabela 1. Caracterização do grupo caso (n=168).

Crítérios Avaliados	Feminino	Masculino	Total	P value
Sexo biológico	103 (61,3%)	65 (38,7%)	168 (100%)	0,003 (X² = 8,59) *
Idade (x ± SD), anos	29,7±13,2 (18 - 76)	28,7±12,7 (18 - 62)	29,7±13,2 (18 - 76)	0,837 (X² = 30,37)
Etnia (autodeclaração)				
Afrodescendente	3 (1,8%)	3 (1,8%)	6 (3,6%)	0,007 (X² = 12,15) *
Asiático	2 (1,2%)	2 (1,2%)	4 (2,4%)	
Caucasóide	86 (51,2%)	39 (23,2%)	125 (74,4%)	
Pardo	12 (7,1%)	21 (12,5%)	33 (19,6%)	
Gravidade da COVID-19				
Leve	81 (48,2%)	38 (22,6%)	119 (70,8%)	0,002 (X² = 12,58) *
Moderado	22 (13,1%)	22 (13,1%)	44 (26,2%)	
Grave	0 (0%)	5 (3%)	5 (3%)	
Sequelas				
Sim	29 (17,3%)	16 (9,5%)	45 (26,8%)	0,320 (X² = 4,69)
Não	74 (44%)	49 (29,2%)	123 (73,2%)	
Período dos sintomas				
Prolongado	4 (2,4%)	4 (2,4%)	8 (4,8%)	0,575 (X² =1,10)
Intermediário	25 (14,9%)	19 (11,3%)	44 (26,2%)	
Curto	74 (44%)	42 (25%)	116 (69%)	
Vacinação contra COVID-19				
2º dose	4 (2,4%)	8 (4,8%)	12 (7,1%)	0,112 (X² = 4,38)
3º dose	51 (30,4%)	31 (18,5%)	82 (48,8%)	

4º dose	48 (28,6%)	26 (15,5%)	74 (44%)	
Não se vacinou	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Medicação				
Sim	53 (31,5%)	8 (4,8%)	61 (36,3%)	<0,001 ($X^2 = 26,41$)*
Não	50 (29,8%)	57 (33,9%)	107 (63,7%)	
Fuma cigarros				
Sim	8 (4,8%)	3 (1,8%)	11 (6,5%)	0,421 ($X^2 = 0,64$)
Não	95 (56,5%)	62 (36,9%)	157 (93,5%)	
Uso de bebidas alcoólicas				
Não	20 (11,9%)	14 (8,3%)	34 (20,2%)	
Raramente	68 (40,5%)	34 (20,8%)	103 (61,3%)	0,198 ($X^2 = 3,23$)
Regularmente	15 (8,9%)	16 (9,5%)	31 (18,5%)	
Comorbidades				
Sim, 1 tipo	13 (7,7%)	4 (2,4%)	17 (10,1%)	
Sim, 2 tipos	4 (2,4%)	2 (1,2%)	6 (3,6%)	0,337 ($X^2 = 3,38$)
Sim, 3 tipos	2 (1,2%)	0 (0%)	2 (1,2%)	
Não	84 (50%)	59 (35,1%)	143 (85,1%)	
Atividade Física				
Não	63 (37,5%)	31 (18,5%)	94 (56%)	0,087 ($X^2 = 2,93$)
Sim	40 (23,8%)	34 ((20,2%)	74 (44%)	
Dosagem De Vitamina D				
Não	71 (42,3%)	55 (32,7%)	126 (75%)	0,022 ($X^2 = 5,22$) *
Sim	32 (19%)	10 (6%)	42 (25%)	

Os valores P value comparando os critérios com sexo biológico masculino e feminino são resultados do teste X^2 .

* Estatisticamente significativa $p \leq 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Para observar se há correlação entre as variáveis idade, sexo, etnia, gravidade, período de infecção, sequelas, vacinas, se toma medicamentos de uso contínuo, de apresenta comorbidades, pratica atividade física, fuma, bebe e realizou a dosagem de vitamina D foi realizado o Teste de Correlação de *Spearman*, um teste não paramétrico. Os resultados foram sintetizados na Tabela 2 e o nível de significância utilizado foi ($p < 0,05$).

Tabela 2. Resultados do teste de Correlação de Spearman (n=168).

Critérios Avaliados		IDADE	SEXO BIOLÓGICO	ETNIA	GRAVIDADE	PERÍODO	SEQUELAS	VACINA	MEDICAÇÃO	COMORBIDADE	ATIVIDADE FÍSICA	CIGARRO	BEBIDA	VITAMINAD
N		168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168
IDADE	Coeficiente de Correlação	1	-0,056	-0,051	0,052	,261*	,332*	,218*	0,117	,165*	-,152*	0,006	-0,099	0,094
	Sig.	.	0,467	0,512	0,504	0,001	<0,001	0,005	0,13	0,032	0,048	0,936	0,201	0,228
SEXO BIOLÓGICO	Coeficiente de Correlação	-0,056	1	,253*	,233*	0,079	-0,058	-0,102	-,396*	-0,126	0,132	-0,062	0,061	-,176*
	Sig.	0,467	.	0,001	0,002	0,307	0,456	0,187	<0,001	0,103	0,088	0,424	0,432	0,022
ETNIA	Coeficiente de Correlação	-0,051	,253*	1	,268*	0,107	0,132	-0,059	-0,148	-0,024	0,102	-0,038	0,018	-0,136
	Sig.	0,512	0,001	.	<0,001	0,167	0,087	0,449	0,055	0,755	0,189	0,621	0,816	0,079
GRAVIDADE	Coeficiente de Correlação	0,052	,233*	,268*	1	,548*	,321*	0,021	-0,046	0,074	0,111	-0,118	-0,086	-0,126
	Sig.	0,504	0,002	<0,001	.	<0,001	<0,001	0,783	0,557	0,341	0,152	0,128	0,27	0,103
PERÍODO	Coeficiente de Correlação	,261*	0,079	0,107	,548*	1	,518*	-0,051	0,088	0,086	-0,1	-0,012	0,019	-0,14
	Sig.)	0,001	0,307	0,167	<0,001	.	<0,001	0,511	0,258	0,269	0,198	0,874	0,811	0,07
SEQUELAS	Coeficiente de Correlação	,332*	-0,058	0,132	,321*	,518*	1	0,072	,230*	0,123	0,009	0,016	-0,078	-0,001
	Sig.	0	0,456	0,087	<0,001	<0,001	.	0,351	0,003	0,113	0,905	0,837	0,313	0,989
VACINA	Coeficiente de Correlação	,218*	-0,102	-0,059	0,021	-0,051	0,072	1	0,012	-,168*	-,169*	-0,042	-0,082	-0,121
	Sig.	0,005	0,187	0,449	0,783	0,511	0,351	.	0,874	0,029	0,028	0,587	0,292	0,118
MEDICAÇÃO	Coeficiente de Correlação	0,117	-,396*	-0,148	-0,046	0,088	,230*	0,012	1	,382*	-0,047	0,1	0,022	,193*
	Sig.	0,13	<0,001	0,055	0,557	0,258	0,003	0,874	.	<0,001	0,549	0,195	0,772	0,012
COMORBIDADE	Coeficiente de Correlação	,165*	-0,126	-0,024	0,074	0,086	0,123	-,168*	,382*	1	-0,105	0,082	-0,05	0,151
	Sig.	0,032	0,103	0,755	0,341	0,269	0,113	0,029	<0,001	.	0,177	0,289	0,518	0,051
ATIVIDADE FÍSICA	Coeficiente de Correlação	-,152*	0,132	0,102	0,111	-0,1	0,009	-,169*	-0,047	-0,105	1	0,008	0,007	0,097
	Sig.	0,048	0,088	0,189	0,152	0,198	0,905	0,028	0,549	0,177	.	0,923	0,933	0,211
CIGARRO	Coeficiente de Correlação	0,006	-0,062	-0,038	-0,118	-0,012	0,016	-0,042	0,1	0,082	0,008	1	0,123	-0,042
	Sig.	0,936	0,424	0,621	0,128	0,874	0,837	0,587	0,195	0,289	0,923	.	0,111	0,592
BEBIDA	Coeficiente de Correlação	-0,099	0,061	0,018	-0,086	0,019	-0,078	-0,082	0,022	-0,05	0,007	0,123	1	-0,072
	Sig.	0,201	0,432	0,816	0,27	0,811	0,313	0,292	0,772	0,518	0,933	0,111	.	0,352
VITAMINA D	Coeficiente de Correlação	0,094	-,176*	-0,136	-0,126	-0,14	-0,001	-0,121	,193*	0,151	0,097	-0,042	-0,072	1
	Sig.	0,228	0,022	0,079	0,103	0,07	0,989	0,118	0,012	0,051	0,211	0,592	0,352	.

Os valores *P value* (Sig.) c são resultados do teste de correlação de Spearman. * Estatisticamente significativa $p \leq 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Correlações significativas ($p < 0,05$) foram encontradas entre idade e as seguintes variáveis: período de sintomatologia ($r_s = 0,261$; $p < 0,001$); Sequela ($r_s = 0,332$; $p = 0,005$); Vacina ($r_s = 0,218$; $p = 0,005$); Comorbidade ($r_s = 0,065$; $p = 0,032$); e Atividade Física ($r_s = 0,152$; $p = 0,048$). Entre sexo biológico houve correlação com etnia ($r_s = 0,253$; $p = 0,001$), gravidade ($r_s = 0,233$; $p < 0,001$), medicação ($r_s = 0,398$; $p < 0,001$) e vitamina D ($r_s = 0,176$; $p = 0,022$). Entre etnia e gravidade ($r_s = 0,268$; $p < 0,001$).

Também foram encontradas correlações significativas entre gravidade e as variáveis: período de sintomatologia ($r_s = 0,548$; $p < 0,001$) e sequelas ($r_s = 0,321$; $p < 0,001$); Entre sequelas foi observado correlação com período de sintomatologia ($r_s = 0,518$; $p < 0,001$) e medicação ($r_s = 0,230$; $p = 0,003$); A correlação foi significativa entre vacina e comorbidade ($r_s = 0,168$; $p = 0,029$) e entre vacina e atividade física ($r_s = 0,169$; $p = 0,028$). Por fim, a medicação utilizada está correlacionada com comorbidade ($r_s = 0,382$; $p < 0,001$) e vitamina D ($r_s = 0,193$; $p = 0,012$).

Os dados dos polimorfismos genéticos estudados neste trabalho estão reunidos nas Tabelas 3, 4 e 5. Entre esses dados estão a quantidade e frequência dos genótipos de homozigotos selvagens (N/N), heterozigotos (N/M) e homozigotos mutantes (M/M), tanto no que foi observado na amostra quanto o que era esperado em uma população. Também foi tabelado a frequência dos genótipos por sexo biológico, feminino e masculino, a frequência alélica e o *P value* que mostra o nível de significância a partir do teste X^2 ($p < 0,05$).

Na síntese da frequência do polimorfismo do gene *Cistationina Beta Sintase* (CBS) (Tabela 3) é possível observar que o genótipo mais frequente é o N/N (homozigoto selvagem) em 103 indivíduos (78,6%), 68 (51,9%) mulheres e 35 (26,7%) homens. O genótipo N/M (Heterozigoto) foi observado com maior frequência em homens (10,7%) do que em mulheres (7,6%) assim como o genótipo menos frequente na população, o homozigoto mutante (M/M), também encontrado com maior frequência em indivíduos do sexo masculino (2,3%) do que do feminino (0,8%).

Com relação a frequência alélica, os alelos selvagem (N) e mutante (M) tem frequência de 0,87 e de 0,13, respectivamente.

Há diferença entre o número de indivíduos homozigotos selvagem, heterozigoto e homozigoto mutante, observada (103; 24 e 4) e esperada (100,95; 28,09 e 1,95). Isso mostra que, para o gene CBS, a população não está no equilíbrio de Hardy-Weinberg, pois o valor de

qui-quadrado (X^2) é 78,07, maior que o valor crítico de 3,84 ($p < 0,05$). O quadro com os valores críticos da distribuição X^2 se encontra nos anexos (Anexo D).

O teste exato de Fisher realizado no software Genepop teve resultado estatisticamente significativo, mostrando associação entre as variantes do gene CBS e a COVID-19.

Tabela 3. Polimorfismos do gene *CBS* em pessoas que tiveram COVID-19

Polimorfismo (CBS)	Feminino	Masculino	Total	Frequência	Alélica	Homozigoto Selvagem	Heterozigoto	Homozigoto Mutante	P value
				N	M	Esperado	Esperado	Esperado	
M/M	1 (0,8%)	3 (2,3%)	4 (3,1%)						<0,001
N/M	10 (7,6%)	14 (10,7%)	24 (18,3%)	0,87	0,13	100,95	28,09	1,95	$X^2 = 78,07$
N/N	68 (51,9%)	35 (26,7%)	103 (78,6%)						
	79 (60,3%)	52 (39,7%)	131 (100%)						

Os valores *P value* (Sig.) são resultados do teste X^2 . Fonte: Elaborada pela autora (2025)

A partir dos dados de frequências do polimorfismo do gene *Fator V de Leiden (FV)* (Tabela 4) foi possível observar que nessa amostra da população foi observado somente dois genótipos, o homozigoto selvagem (N/N) em maior frequência e o heterozigoto (N/M). Entre o genótipo mais frequente foram observados 100 indivíduos (90,9%), 55 (50,1%) mulheres e 45 (40,9%) homens. O genótipo N/M (heterozigoto) foi observado o total de 10 indivíduos (9,1%), com maior frequência em mulheres (5,5%) do que em homens (3,6%). Com relação a frequência alélica, o alelo selvagem (N) tem frequência de 0,95 e o alelo mutante (M) aparece com frequência de 0,05.

Foi possível observar que a diferença entre o número de indivíduos homozigotos selvagem, heterozigotos e homozigotos mutantes observada (100; 10 e 0) e esperada (100,002; 9,54 e 0,22) é pequena. Isso mostra que, para esse gene *FV*, as frequências genotípicas da amostra estão de acordo com o equilíbrio de Hardy Weinberg, pois o valor de Qui-quadrado é 0,076, menor que o valor crítico de 3,84 ($p < 0,05$).

Tabela 4. Polimorfismos do gene *FV* em pessoas que tiveram COVID-19

Polimorfismo (FV)	Feminino	Masculino	Total	Frequência	Alélica	Homozigoto Selvagem	Heterozigoto	Homozigoto Mutante	P value
				N	M	Esperado	Esperado	Esperado	
M/M	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)						0,076
N/M	6 (5,5%)	4 (3,6%)	10 (9,1%)	0,95	0,05	100,22	9,54	0,22	$X^2 = 0,092$
N/N	55 (50,1%)	45 (40,9%)	100 (90,9%)						
	61 (55,5%)	49 (44,5%)	110 (100%)						

Os valores *P value* (Sig.) são resultados do teste X^2 . Fonte: Elaborada pela autora (2025)

A frequência do polimorfismo do gene *Protrombina* (Tabela 5) na amostra da população deste estudo resultou em somente dois genótipos, o homozigoto selvagem (N/N) em maior frequência e o heterozigoto (N/M). O genótipo (N/N), o mais frequente, inclui 100 indivíduos (98%), a maioria mulheres (61,8%). O genótipo N/M foi observado o total de 2 indivíduos (2%) com frequência de mulheres igual a de homens (1%), com apenas um paciente de cada sexo biológico. A frequência alélica, o alelo selvagem (N) tem frequência de 0,99 e o alelo mutante (M) aparece com frequência de 0,01.

A diferença entre o número de indivíduos homozigotos selvagem, heterozigoto e homozigoto mutante observada (100; 2 e 0) e esperada (100,009; 1,980 e 0,009) foi pequena. Portanto, para esse gene da *Protrombina* a população está no equilíbrio de Hardy-Weinberg, pois o valor de Qui-quadrado é 0,707, menor que o valor crítico de 3,84 ($p < 0,05$).

Tabela 5. Polimorfismos do gene *Protrombina* em pessoas que tiveram COVID-19

Polimorfismo (FV)	Feminino	Masculino	Total	Frequência	Alélica	Homozigoto Selvagem	Heterozigoto	Homozigoto Mutante	P value
				N	M	Esperado	Esperado	Esperado	
M/M	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)						0,707
N/M	1 (1%)	1 (1%)	2(2%)	0,99	0,01	100,009	1,980	0,009	X ² = 0, 142
N/N	63 (61,8%)	37(36,3%)	100 (98%)						
	64 (62,7%)	38 (37,3%)	102 (100%)						

Os valores *P value* (Sig.) são resultados do teste X².. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Os resultados dos testes de Correlação de *Spearman* entre os genótipos e os diferentes níveis de gravidade da COVID-19 estão sintetizados na Tabela 6. Com isso, foi observado a correlação entre os genótipos do gene *FV* e a gravidade da doença ($p < 0,05$).

Tabela 6. Resultados do teste de Correlação de *Spearman*

Gene	Coefficiente de Correlação (r_s)	<i>P value</i>
<i>CBS</i>	-0,024	0,795
<i>FV</i>	-0,210	0,027*
<i>Protrombina</i>	-0,086	0,388

Os valores *P value* (Sig.) são resultados do teste de Correlação de Spearman. * Estatisticamente significativo $p \leq 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora (2025)

6. DISCUSSÃO

A maioria dos participantes da pesquisa são do sexo feminino. LEVORATO e colaboradores (2014) descreveram que as mulheres procuram serviços de saúde 1,9 vezes mais do que homens. Isso se deve ao fato de que historicamente há um senso comum de que os homens apresentam dificuldade a procurar por serviços de saúde. Essa conclusão também está presente no estudo de BERTAKIS et al (2000), no qual revela que o público feminino realiza mais visitas à clínica de atendimento de atenção primária e serviços de diagnóstico. Por essas questões culturais e sociais esses dados de saúde corroboram para o motivo do predomínio de mulheres na doação de amostras de sangue para a realização de exames laboratoriais para este projeto, já que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre sexo biológico.

MAYOR (2015) discute que apesar das mulheres apresentarem vantagem em relação a expectativa de vida, há uma desvantagem acentuada com relação a mortalidade, uma vez que indivíduos do sexo feminino apresentam mais doenças físicas e mentais que os homens. No questionário, 53 mulheres responderam que usam algum medicamento de uso contínuo, enquanto apenas oito homens fazem o uso destes.

Dentre os medicamentos de uso contínuo, os que apareceram com maior frequência nas respostas do questionário foram antidepressivos, medicamentos para pressão alta e anticoncepcionais, sendo que os anticoncepcionais têm relação direta com eventos trombóticos em mulheres. MARQUES, MARTINS & DEUNER (2024) relatam que o uso desse método contraceptivo, principalmente os que contêm um maior teor de estrogênio e progesterona de terceira geração, aumentam significativamente o risco de TVP e embolia pulmonar, tema também estudado e discutido nesse projeto.

Com relação a etnia, o estudo de SILVA & RESENDE (2024) a política de cotas raciais implantada no Brasil é um fator importante e que aumentou o ingresso de negros e pardos no ensino superior. A Lei de Cotas aumentou em mais de 200% a entrada de negros nas universidades segundo dados de 2019 (SILVA & RESENDE, 2024). Todavia, no presente estudo, os participantes são alunos (maioria) e funcionários de uma universidade pública. Ao contrário do que é relatado por SILVA & RESENDE (2024) foi observado diferença no número de pessoas que se autodeclararam afrodescendentes (seis indivíduos) e 125 caucasoides. Além disso, o valor de p mostrou significância na questão de etnia e o número de

participantes da pesquisa, levando a hipótese de que a quantidade de afrodescendentes na universidade pública ainda é pequena.

O estudo de BARBOSA e colaboradores (2023) realizado em um hospital do estado de São Paulo mostrou que as formas moderada e grave da COVID-19 foram predominantes em indivíduos do sexo masculino. Isso reforça os resultados obtidos no presente estudo já que a forma grave da doença foi observada apenas em indivíduos do sexo masculino.

RESENDE *et al* (2024) concluiu no estudo com pacientes do município de Juiz de Fora (MG), que ocorreu uma alta prevalência de sintomas característicos de COVID longa em homens. Entretanto, assim como nessa dissertação, não foram encontradas diferenças significativas entre as variáveis *status* de vacinação, idade, sexo biológico, etnia e fatores de risco.

A vitamina D atua tanto como fator de proteção como pode ser prejudicial quando associada a COVID-19. BERNARDES (2024) e PARAMAIYAN e colaboradores (2025) relatam que a vitamina D apresenta propriedades anti-inflamatórias que diminuem a intensidade da cascata de citocinas provocadas pela forma mais grave da COVID-19, mas o excesso de vitamina pode causar um efeito prejudicial a saúde, a hipercalcemia. Esses resultados corroboram com o resultado significativo deste projeto, quanto a dosagem de vitamina D nos participantes. Ainda que PARAMAIYAN e colaboradores (2025) concluíssem que não foi possível prever a quantidade, modo de administração e duração da vitamina, a dosagem de vitamina D é uma estratégia terapêutica para melhorar a qualidade de vida do paciente com COVID.

Os trabalhos de BAUDUER & LACOMBE (2005) e ROSENDAAL & REITSMA (2009) ressaltam a importância do estudo das mutações nos genes do *Fator V de Leiden* e da *Protrombina* no campo da genética de populações. Esse último artigo destaca que a maioria dos portadores da mutação pode não desenvolver a doença, porém esses dados são antigos e foram reportados antes da pandemia de COVID-19 e as infecções de SARS-CoV-2 e, portanto, o vírus causador pode interferir nesses resultados. O estudo conduzido por SHIBEEB e colaboradores (2024) com uma amostra da população do Catar observou resultados semelhantes aos observados no presente estudo em relação à frequência de genótipos do gene *Fator V de Leiden* e *Protrombina*. Além disso, o genótipo homozigoto selvagem, naquela população do Oriente Médio, não foi observado por ser muito raro, assim como nas amostras desta dissertação.

BONINI-DOMINGOS e colaboradores 2005 mostraram que a mutação *644ins68* causa na enzima CBS um fator de risco adicional para TVP. Essa informação é confirmada com a frequência aumentada de heterozigotos em pacientes com TVP, sugerindo um fator de risco ao desenvolvimento da doença. As amostras da população do trabalho desenvolvido pelo grupo e deste atual trabalho pertencem ao mesmo local de coleta, o Noroeste do estado de São Paulo.

SEBASTIO e colaboradores (1995) destacaram quatro novas mutações no gene da CBS em italianos. A *844ins68* foi a terceira, uma inserção de 68 pb no exon 8 na base 844 que promove a indução de um códon de terminação prematura. Da SILVA et al (2017) descreveu que pensava-se, no início, que o uso desse códon de parada prematura agregado a inserção de mRNA do gene CBS resultaria na tradução de uma enzima inativa. Porém, TSAI et al (1996) descreveu que a inserção forma um sítio de *splicing* alternativo que elimina a região inserida. Isso promove um mRNA normal e a enzima CBS funcional. Logo, de acordo com Da SILVA e colaboradores (2017) considerou-se que a inserção promova maior atividade da CBS.

YANG (2020) mostrou que o avanço das pesquisas sobre o sulfeto de hidrogênio (H_2S) indicou que esse composto pode ser eficaz no tratamento da COVID-19 principalmente para pacientes que apresentam diabetes, doenças cardiovasculares e distúrbios renais, condições que aumentam o risco de complicações. Esse autor mostra três maneiras de combater a doença. A primeira ocorre bloqueando a entrada do vírus na célula hospedeira, promovendo interferência com a TMPRSS2 e a ECA II. A segunda forma é inibindo a replicação do vírus, que consequentemente diminui a montagem e liberação viral. E por fim a terceira protegendo os danos no pulmão causados pelo SARS-CoV-2, eliminando a resposta imune e o desenvolvimento da inflamação.

A partir desses dados, inferimos que com o funcionamento regular da enzima CBS mesmo com a mutação, catalisa o H_2S , seguindo sua atividade normal promovendo o efeito protetor contra a COVID-19. Isso mostra a associação entre o polimorfismo do gene CBS e a doença. Neste trabalho, o teste exato de Fisher revelou-se estatisticamente significativo, comprovando a associação entre o polimorfismo CBS e a gravidade da COVID, dado que o alelo mutado foi observado em maior frequência no grupo caso comparado ao grupo controle.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo realizou a investigação da frequência dos polimorfismos que causam predisposição genética favorecendo eventos de Trombose Venosa Profunda em uma amostra da população de São José do Rio Preto com 188 pacientes. Com as informações presentes no questionário foi possível concluir diferença estatística significativa para sexo biológico, etnia, gravidade, medicação e dosagem de vitamina D. Além disso, foi verificado que há correlações significativas entre fatores como idade *versus* sequelas e entre etnia *versus* gravidade da COVID-19.

O estudo da frequência dos polimorfismos *844ins68* do gene da *cistationina beta-sintase*, *G1691A* do *Fator V de Leiden* e *G20210A* da *protrombina* permitiu a conclusão de que o genótipo mais frequente foi o N/N para todos os genes. Observou-se a correlação entre os genótipos do gene do *FV de Leiden* e a gravidade da COVID-19 com o teste de correlação de Spearman estatisticamente significativo. Concluiu-se também que há associação entre variantes do gene *CBS* e a COVID-19 por meio do teste exato de Fisher significativo.

REFERÊNCIAS

ASSUNÇÃO, PF, . et al. Case Report Rehabilitation interventions in long COVID: a case report. **Dement Neuropsychol**, v. 18, p. 20230105, 2024.

BARBOSA, D. A. et al. Alterações bioquímicas de pacientes com COVID-19. **Acta Paul Enferm** v. 36, 1 jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.37689/acta-ape/2023AO01112>

BARROS, K. Panorama da COVID longa no Brasil: análise preliminar de um inquérito para pensar políticas de saúde. **Cadernos de Saúde Pública** , v. 40. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-311XPT094623>

BAUDUER, F.; LACOMBE, D. Factor V Leiden, prothrombin 20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 677T, and population genetics. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 86, n. 1-2, p. 91–99, set. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2005.04.002>

BERNARDES, C. F. Vitamina D e COVID-19: níveis plasmáticos de calcidiol em indivíduos com COVID-19. **Journal Archives of Health**, v. 5, n. 2, p. e1642–e1642, 24 abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.46919/archv5n2-004>

BERTAKIS, K. D. et al. Gender differences in the utilization of health care services. **The Journal of Family Practice**, v. 49, n. 2, p. 147–152, 1 fev. 2000.

BORGES, A. A. et al. SARS-CoV-2: origem, estrutura, morfogênese e transmissão. **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais**, p. 19-21, 2020.

BOHN, M. K. et al. Pathophysiology of COVID-19: Mechanisms Underlying Disease Severity and Progression. **Physiology**, v. 25, n. 5, p. 288-301, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1152/physiol.00019.2020>

BONINI-DOMINGOS, C. R. et al. Frequência da mutação *844ins68* do gene da Cistationina Beta-Sintase em pacientes com trombose venosa profunda, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842005000100005>

BRUGGE, J. M. et al. Expression of the normal factor V allele modulates the APC resistance phenotype in heterozygous carriers of the factor V Leiden mutation. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 3, n. 12, p. 2695–2702, dez. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01634.x>

BURGAZLI, K. M, et al. Diagnosis and treatment of deep-vein thrombosis and approach to venous thromboembolism in obstetrics and gynecology. **J Turk Ger Gynecol Assoc.** 2011. DOI: 10.5152/jtgga.2011.39.

CAMPOS, J. M.; REIS, B. C. C. Trombose venosa profunda pós COVID-19: uma revisão integrativa. **Acervo Médico**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.25248/reamed.e10020.2022>

D'ETTORRE, G. et al COVID-19 sequelae in working age patients: A systematic review. **Journal of Medical Virology**, v. 94 p. 858-868. oct. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.27399>

DUTTA et al, Cystathionine β -synthase T833C/844INS68 polymorphism: a family-based study on mentally retarded children, **Behavioral and Brain Function**, 2005. DOI: [10.1186/1744-9081-1-25](https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-25)

FANG, L.; KARAKIULAKIS, G.; ROTH, M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *The Lancet Respiratory Medicine*, v. 8, n. 4, mar. 2020.

FARIAS, C. P.; ALVARENGA, V. M.; SOUZA, M. C. Trombose venosa profunda em pacientes com COVID-19: Uma revisão integrativa da literatura. **Revista de Saúde**, Ago/Nov. 2021. DOI: 10.21727/rs.v12i3.2946

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Coronaviruses*, v. 1282, p. 1–23, 12 fev. 2015.

GODOY, J. M P. Fator V Leiden. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, jun. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842005000200001>

Guan WJ , Zhong NS . Resposta . *Respirologia* . 2020 ; 25 : 899 – 899 . DOI: <https://doi.org/10.1111/resp.13882>

HAN, E.; BURDSALL, K.; ESCAMILLA, O. Factor V Leiden Heterozygous: Complicated by Recurrent Venous Thromboembolism and Bilateral Pulmonary Embolism. **Cureus**, 2 jul. 2024. DOI: 10.7759/cureus.63701

HASHIMOTO, Y., SUZUKI, T. HASHIMOTO, K. Mecanismos de ação da fluvoxamina para COVID-19: uma revisão histórica. **Molecular Psychiatry** 27, 1898-1907 (2022). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01432-3>

HERKENHOFF, M. E. et al, Análise da mutação G2021A no gene da protrombina (fator II) em pacientes com suspeita de trombofilia no sul do Brasil. **Medicina Laboratorial**, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000200003>

HOFFMANN, M. 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, mar. 2020.

LEVORATO, C. D. et al. Fatores associados à procura por serviços de saúde numa perspectiva relacional de gênero. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 1263-1274. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232014194.01242013>.

MALTA, D.C. et al. A pandemia da COVID-19 e as mudanças no estilo de vida dos brasileiro adultos: um estudo transversal, 2020. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, Brasília, v. 29, n. 4 e2020407, set. 2020. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742020000400025&lng=pt&nrm=iso. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-49742020000400026>.

MARQUES, L. M.; SOUSA, M.; DEUNER, M. C. Anticoncepcionais Associados ao Risco de Trombose. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 7, n. 15, p. e151642–e151642, 26 nov. 2024. DOI: <https://doi.org/10.55892/jrg.v7i15.1642>

MAYOR, E. Gender roles and traits in stress and health. *Frontiers in Psychology*, v. 6, n. 779, 9 jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.00779>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Síndrome de Guillain Barré. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/g/sindrome-de-guillain-barre>.

MIRANDA, D. A. P. et al, Long COVID-19 syndrome: a 14-months longitudinal study during the two first epidemic peaks in Southeast Brazil. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 116, p. 1007-1014, may. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/trstmh/trac030>

MUNKE, M. et al, The gene for cystathionine beta-synthase (CBS) maps to the subtelomeric region on human chromosome 21q and to proximal mouse chromosome 17, **American Journal of Human Genetics**, 1988. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1715237/?page=1>

PERAMAIYAN, R. et al. Comparison of the role of vitamin D in normal organs and those affected by COVID-19. **International Journal of Medical Sciences**, v. 22, n. 2, p. 240–251, 2025. DOI: [10.7150/ijms.103260](https://doi.org/10.7150/ijms.103260)

RAMOS, C. P. S. et al., Frequência do fator V de Leiden em indivíduos sob investigação de trombofilia, Recife, Pernambuco, Brasil, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842006000200013>

RESENDE, A. S, et al. A Prevalência de sequelas após infecção da COVID-19 no município de Juiz de Fora. **Revista Ibero**. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/13491/6917>.

ROSENDAAL, F. R.; REITSMA, P. H. Genetics of venous thrombosis. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 7, p. 301–304, jul. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03394.x>

SANTOS, P. P. G. V; OLIVEIRA, R. A. D.; ALBUQUERQUE, M. V., Desigualdade da oferta hospitalar no contexto da pandemia da COVID-19 no Brasil: uma revisão integrativa. **Saúde de Debate**, Rio de Janeiro, v. 46, n. especial 1, p 322-337, mar. 2022 DOI: 10.1590/0103-11042022E122

SATYARTHI, P. et al. Prothrombin G20210A Mutation is Rare but not Absent Among North Indian Patients with Thromboembolic Events. **Indian journal of hematology & blood transfusion**: an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion, v. 40, n. 3, p. 522–526, jul. 2024. DOI: 10.1007/s12288-024-01741-x

SHIBEEB, S. et al. Factor V Leiden (R506Q), Prothrombin G20210A, and MTHFR C677T Variants and Thrombophilia in Qatar Biobank Participants: A Case Control Study. **Pathophysiology**, v. 31, n. 4, p. 608–620, 21 out. 2024.

SILVA, M. L. DA; RESENDE, A. DE O. UMA ANÁLISE DAS COTAS RACIAIS PARA NEGROS E PARDOS NAS UNIVERSIDADES BRASILEIRAS. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 10, n. 5, p. 1251–1270, 7 maio 2024. DOI: <https://doi.org/10.51891/rease.v10i5.13782>

SKOVBY, F.; KRASSIKOFF, N.; FRANCKE, U. Assignment of the gene for cystathionine β -synthase to human chromosome 21 in somatic cell hybrids, **Human Genetics**, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00286520>

SOARES, A. L.; CARVALHO, M. G. Avaliação da incidência das mutações G1691A no gene do fator V (fator V de Leiden) e G20210A no gene da protrombina em pacientes com diabetes mellitus tipo 2, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842005000300011>

SOBREIRA, M. L. et al. Diretrizes sobre trombose venosa profunda da Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 23, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1677-5449.202301071>

TAVARES-JÚNIOR, L. et al. Long COVID: neurological manifestations - an updated narrative review. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 18, 1 jan. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1980-5764-DN-2023-0076>

WANG, Y.-W. et al. The role of cystathionine β -synthase in cancer. **Cellular Signalling**, p. 111406–111406, 1 set. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2024.111406>

WRAPP, D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. **Science**, [S.L.], v. 367, n. 6483, p. 1260-1263, 13 mar. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb2507>.

Zhu, Z., Geng, Y., Ma, L., Yao, K., Chang, R., Ma, Y., & Li, J. (2024). Associação entre polimorfismos do gene CBS T833C, G919A e 844ins68 na região do 8º exon e doença arterial coronária: uma meta-análise. **Hipertensão Clínica e Experimental**, 46 (1). DOI: <https://doi.org/10.1080/10641963.2024.2328147>

APÊNDICE A - PAINEIS APRESENTADOS EM CONGRESSOS



Frequência dos genótipos para o polimorfismo I/D da ECA I em pessoas que contraíram COVID-19

Santos, A. B. B. D.¹; Ribeiro, T. F.¹; Batista, R. B.¹; Silva, D. D.²; Malerba, D. P.¹; Borin, F. H.¹; Ayo, C. M.²; Bonini-Domingos, C. R.¹

¹Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil. E-mail: ana.belini@unesp.br

²Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

INTRODUÇÃO

COVID-19

Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II) - receptor celular

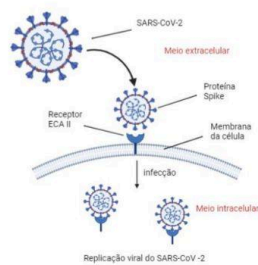


Figura 1: Processo de replicação do SARS-CoV-2. Fonte: Elaborada pelos autores

Enzima Conversora de Angiotensina (ECA)

Cromossomo 17

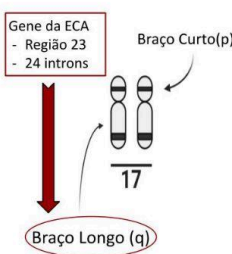


Figura 2: Representação esquemática do cromossomo 17. Fonte: Elaborada pelos autores

Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA)

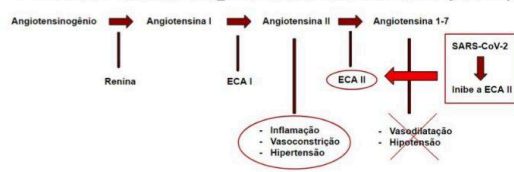
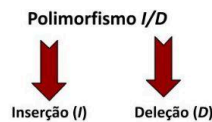
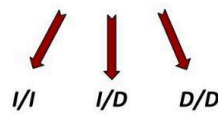


Figura 3: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) alterado. Fonte: Elaborada pelos autores

Polimorfismo ECA I



Genótipos



OBJETIVOS

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a frequência dos polimorfismos I/D da Enzima Conversora de Angiotensina I em pessoas que contraíram COVID-19 e sua possível associação com a gravidade da doença.

Materiais e Métodos



Esse projeto foi desenvolvido em colaboração com o projeto de mestrado aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob nº CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética) 60015522.1.0000.5466.

Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular – de 25 a 28 de Outubro de 2023



- Quantificação do DNA - NanoDrop

Análise Molecular



Figura 6: Ilustração das atividades realizadas no laboratório. Fonte: Elaborada pelos autores

Questionário online - gravidade clínica

Análises Estatísticas

- Software IBS SPSS Statistics 20 e GraphPad Prism - Teste Man-Whitney

- Nível de Significância de 0,05

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- O grupo de estudo foi composto por 57 mulheres (63%) e 34 homens (37%), com idades entre 18 e 63 anos, com média de 24 anos

Tabela 1: Frequência genotípica.

Genótipos	Mulheres	(%)	Homens	(%)
I/I	4	7%	6	18%
I/D	42	74%	22	64%
D/D	11	19%	6	18%
Total	57	-	34	-

Fonte: Elaborada pelos autores

- A análise de associação entre os polimorfismos e as diferentes formas de gravidade da doença demonstrou significância ($p < 0,05$) pelo teste de Mann-Whitney

- Diversos países têm observado associações entre os genótipos e a gravidade da COVID-19.

- O alelo D de deleção está relacionado ao desenvolvimento de formas mais graves

- Neste estudo, predominaram genótipos I/D entre os indivíduos com casos leves da doença, sugerindo um possível efeito protetor contra formas mais graves da COVID-19.

CONCLUSÃO

Na população analisada foi encontrado a maior frequência do genótipo I/D em ambos sexos. Além disso, há associação estatisticamente significativa entre os polimorfismos I/D da ECA I e as diferentes gravidades da COVID-19.

REFERÊNCIAS

- DOMINGOS, A. C. B. Avaliação dos polimorfismos nos genes enzima conversora de angiotensina e adenosina desaminase em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. 2010.
- PATEL, A.; NARAYAN, H.; PRADY, S.; PANDA, A. E. ACE deletion allele is associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and mortality rate: An epidemiological study in the Asian population. *Clin. Chim. Acta*. 2020; Nov; 530:455-458. doi: 10.1016/j.cca.2020.08.006.
- SCHOLZ, J. R. COVID-19: Sistema Renina-Angiotensina, Enzima Conversora da Angiotensina 2 e Nicotina: Qual a Inter-relação. *Carta Científica, Arq. Bras. Cardiol*. 2020.
- YUKI, K.; FUJIOKI, M.; KOUTSOGIANNAKI, S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin. Immunol.* 2020 Jun;215:108427. doi: 10.1016/j.clim.2020.108427. Epub 2020 Apr 20. PMID: 3223252; PMCID: PMC7389933.
- COMANOGUILLAN, H.; EVREN, E. U.; EVREN, H.; SUER, K.; BALCIOGLU, O.; ENGREN, M. C. Strong association between angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and COVID-19 disease. *Medicina Clínica (English Edition)*. [S.l.], v. 160, n. 11, p. 489-494, jun. 2023. Elsevier B.V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcle.2022.11.020>.

ANÁLISE DO POLIMORFISMO I/D DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA I (ECA I) EM JOVENS COM A GRAVIDADE CLÍNICA DA COVID-19

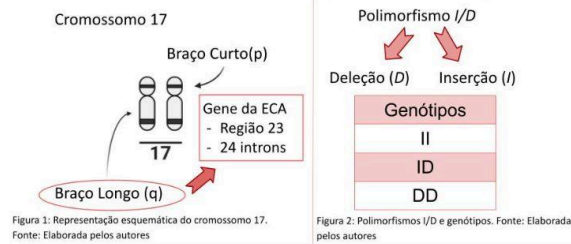


SANTOS, A. B. B.¹; RIBEIRO, T. F.¹; PEREIRA, L. R.¹; BONINI-DOMINGOS, C.R.¹

¹Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP)
Câmpus de São José do Rio Preto. E-mail: ana.belini@unesp.br

INTRODUÇÃO

Enzima Conversora de Angiotensina (ECA)



COVID-19

Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II) - receptor celular

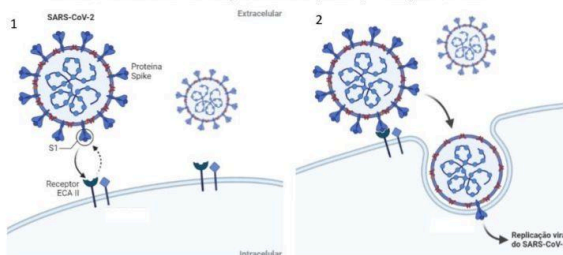


Figura 3: Processo de replicação do SARS-CoV-2. Fonte: Elaborada pelos autores

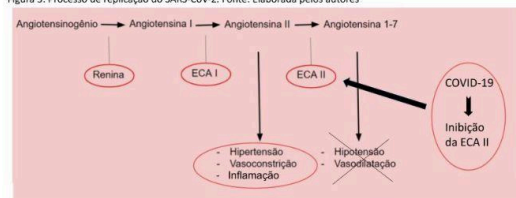
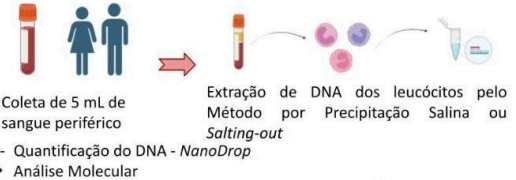
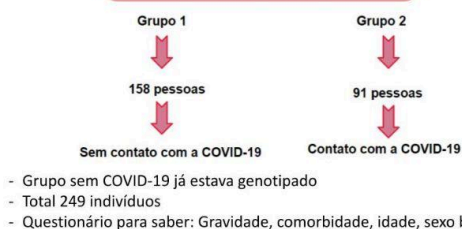


Figura 4: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) alterado. Fonte: Elaborada pelos autores

OBJETIVOS

Esse projeto teve como objetivo avaliar se existe relação entre os polimorfismos I/D da ECA I e a gravidade da COVID-19 em adultos.

METODOLOGIA



Análise Molecular



Análises Estatísticas

- Software IBS SPSS Statistics 20 - Frequência e Qui-quadrado
- Software GraphPad Prism - Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis e Man-Whitney

Figura 6: Ilustração das atividades realizadas durante o projeto. Fonte: Elaborada pelos autores

Esse projeto foi desenvolvido em colaboração com o projeto de mestrado aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob nº CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética) 60015522.1.0000.5466.

RESULTADOS

Com relação aos genótipos encontrados, o mais frequente entre a população analisada foi o ID, seguida por DD e o menos frequente II

Tabela 1: Frequência genotípica nos dois grupos estudados.

Grupo sem COVID-19			Grupo com COVID-19		
	Frequência	Porcentagem		Frequência	Porcentagem
DD	51	32,3	DD	17	18,7
ID	87	55,1	ID	64	70,3
II	20	12,7	II	10	11
Total	158	100	Total	91	100

Fonte: Elaborada pelos autores

A maioria dos participantes da pesquisa não apresentavam comorbidades e a gravidade foi classificada como leve.

Também foi observado no grupo controle indivíduos do sexo masculino, já no grupo com COVID-19 a maioria dos participantes foi do sexo feminino

Nesse projeto foi observado a associação entre o polimorfismo e as diferentes gravidades da doença ($p < 0,05$)

CONCLUSÃO

Concluímos que há relação entre o polimorfismo da ECA I com as diferentes gravidades da COVID-19 no grupo estudado.

REFERÊNCIAS

- SILVA, S. J.; RASOL, S.; PEREIRA, A. C. Polimorfismo da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA D/I) em Pacientes com Insuficiência Cardíaca de Etiologia Chagásica. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 109, n. 4, p. 307-312, set. 2017.
- AL, EITAN, L.H., ALAMMAD, S.Z. Pharmacogenomics of genetic polymorphism within the genes responsible for SARS-CoV-2 susceptibility and the drug-metabolizing genes used in treatment. *Rev Med Virol.* 2021; 31(4):e2194. <https://doi.org/10.1002/rmv.2194>
- BOHN, M. K. et al. Pathophysiology of COVID-19: Mechanisms Underlying Disease Severity and Progression. *Physiology*, v.35, n. 5, p. 288-301, ago. 2020. <https://doi.org/10.1152/physiol.00019.2020>
- DOMINGOS, A. C. B. Avaliação dos polimorfismos nos genes enzima conversora de angiotensina e adenosina desaminase em pacientes com diabetes melito tipo 2. 2010. 112 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/92488>
- KIRCHNER, J. P. R. Inserção AluYnG em pacientes com urticária reumatóide. Florianópolis, 2013. Disponível em: https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/2018/105019/1/tese_Rodriguez_Kirchner.pdf
- YU, R. K. FUJIOGI, M. KOUTSOGIANNAKI, S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol.* 2020 Jun;215:108427. doi: 10.1016/j.clim.2020.108427. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32325252; PMCID: PMC7189931.

Frequência dos genótipos da mutação 844ins68 no gene *Cistationina Beta Sintase* em pessoas que contraíram COVID-19

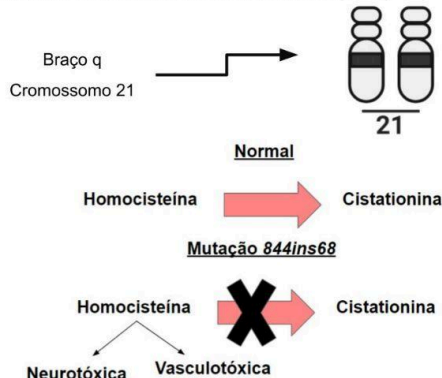
SANTOS, A. B. B. D.¹; RIBEIRO, T. F.¹; LUIZON, M. R.²; BONINI-DOMINGOS, C. R.¹

¹Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil. E-mail: ana.belini@unesp.br

²Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Genética, Ecologia e Evolução - ICB/UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil

INTRODUÇÃO

❖ Enzima *Cistationina Beta Sintase* (CBS)



❖ Trombose Venosa Profunda (TVP)

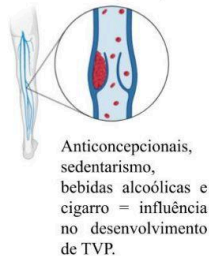
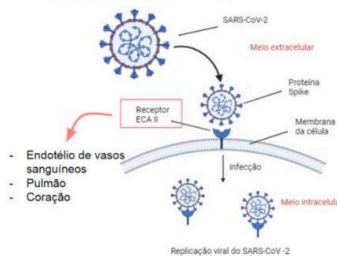


Figura 2: Trombose Venosa Profunda. Fonte: Elaborada pelos autores

❖ COVID-19

Vírus de RNA SARS-CoV-2

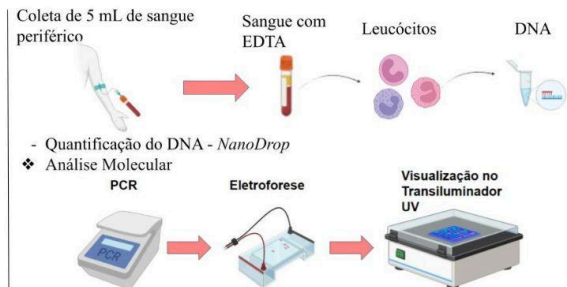
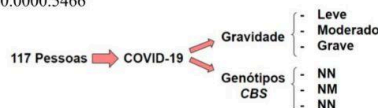


OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi investigar a frequência da mutação 844ins68 no gene da *Cistationina Beta Sintase* em adultos que contraíram COVID-19.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob nº CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética) 78503224.0.0000.5466



- Quantificação do DNA - NanoDrop

❖ Análise Molecular

- Questionário online - gravidade clínica, medicamentos, comorbidades, hábitos de vida (bebidas alcoólicas, cigarro e sedentarismo)
- Análises Estatísticas
 - Software IBS SPSS Statistics 20
 - Nível de Significância de 0,05

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Frequência genotípica.

Genótipos	Masculino	(%)	Feminino	(%)
NN	32	68%	60	86%
NM	12	26%	10	14%
MM	3	6%	0	0%
Total	47	-	70	-

Fonte: Elaborada pelos autores

- Mutação 844ins68 - frequência que varia entre regiões e populações mundiais
- No Brasil, essa mutação não é observada em uma alta frequência, mesmo com a grande miscigenação.
- Estudo com amostras da população do Noroeste Paulista mostrou 14,7% de heterozigotos para a mutação e nenhum caso de homozigoto mutante.
- Na amostra de 117 pacientes observamos apenas 3 indivíduos com genótipo MM e o genótipo mais frequente NN.
- As comorbidades (diabetes e obesidade) e a baixa frequência de atividade física foram encontradas em 3 pacientes que tiveram COVID-19 aumentando o risco do desenvolvimento de trombose venosa profunda.

CONCLUSÃO

Na população analisada foi encontrado maior frequência do genótipo NN para ambos sexos, ou seja, sem mutação 844ins68 no gene da *Cistationina Beta Sintase*. Além disso, foram encontrados fatores que predisõem TVP aliados a COVID-19.

REFERÊNCIAS

- BONINI, M. R. et al. Pathophysiology of COVID-19: Mechanisms Underlying Disease Severity and Progression. *Physiology*, v. 25, n. 5, p. 288-301, ago. 2020. <https://doi.org/10.1152/physiol.00013.2020>
- BONINI-DOMINGOS, C. R. et al. Frequência da mutação 844ins68 do gene da Cistationina Beta Sintase em pacientes com trombose venosa profunda. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bhh.2016.03.001>
- CAMPION, J. M.; REIS, B. C. C. Trombose venosa profunda por COVID-19: uma revisão integrativa. *Acta Médica*, 2022. <https://doi.org/10.25248/actamed.v1i0202.2022>
- DEUTZ, A. et al. Cystathionine beta synthase (CBS) deficiency: a rare inborn error of methionine metabolism. *International Journal of Neonatal Perinatology*, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ijne.2007.03.001>
- FARIAS, C. P.; ALVARENGA, V. M.; SOUZA, M. C. Trombose venosa profunda em pacientes com COVID-19: uma revisão integrativa da literatura. *Revista de Saúde, Atenção e Saúde*, 2021. <https://doi.org/10.21775/rsas.v1i3.0246>
- MORAN, M. et al. The gene for cystathionine beta synthase (CBS) maps to the chromosome 21p and is present on chromosome 21p. *American Journal of Human Genetics*, 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112173/>
- MORAN, E. L.; KRAUSHAAR, K.; FRANK, M. J. Assignment of the gene for cystathionine beta synthase to human chromosome 21 in somatic cell hybrids. *Human Genetics*, 1984. <https://doi.org/10.1007/BF00262638>

AUXÍLIO FINANCEIRO



ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE PARA COLETA DE NOVAS AMOSTRAS.



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012/Resolução 510/2016)

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa “Análise de polimorfismos nos genes *Protrombina (G20210A)*, *Cistationina Beta Sintase (844ins68)* e *Fator V de Leiden (G1691A)* em adultos que contraíram COVID-19.” sob responsabilidade da pesquisadora Ana Beatriz Belini dos Santos. Justificamos que, como você participou do estudo “Relação da Infecção e Gravidade Clínica de Pacientes com COVID-19 e com os Polimorfismos no Gene HFE (H63D, C282Y e S65C)” aprovado por esse CEP pelo número CAAE: 60015522.1.0000.5466, nova autorização para inclusão neste novo estudo está sendo solicitada, e você poderá aceitar ou não. Para a participação nesse estudo serão coletadas amostras de sangue periférico. Para as novas análises, e para a coleta de seu sangue haverá um risco mínimo para a saúde física caracterizado por hematoma no local da coleta de sangue. Para diminuir o risco de hematomas é necessário alguns cuidados após a coleta como não dobrar o braço, pressionar o local, evitar carregar peso e usar roupas com mangas que não aperte o braço. O local deve voltar ao normal em algumas horas e compressas com água morna podem acelerar o processo de melhora da pele. Se o hematoma aparecer comunique a responsável pela pesquisa. Você poderá consultar a pesquisadora responsável em qualquer época, pessoalmente ou pelo telefone abaixo.

O estudo será realizado com participantes adultos divididos em dois grupos: um grupo experimental, com pessoas que tiveram covid-19, e um grupo controle formado a partir de informações com dados de doadores de sangue, sem contato com COVID, sendo que esses dados estão armazenados em planilhas. Não haverá novas análises laboratoriais, nem identificação das pessoas do grupo controle e somente serão observadas frequências de polimorfismos em conjunto.

Os resultados deste estudo serão utilizados para a observação da frequência de polimorfismos genéticos que favorecem o desenvolvimento de trombose venosa profunda (TVP) e que podem estar relacionados a manifestações clínicas da COVID-19.

Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo, e estes últimos só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas e em conjunto, não havendo identificação pessoal, mantendo assim seu sigilo e privacidade. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato de estes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa, nem custos pessoais. Você tem direito à assistência e à indenização nos casos de danos decorrentes de sua participação na pesquisa, o que é garantido pelo Código Civil, Lei 10.406 de 2002, Artigos 927 a 954 e Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 9º, inciso 6.

Este estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para traçar o perfil genético de fatores que predispõem ao desenvolvimento de trombose venosa profunda (TVP) e diferentes graus de gravidade da COVID-19

O material biológico cedido NÃO será armazenado em cumprimento à Resolução CNS 441/2011. Diante das explicações, se você concorda em participar deste projeto, forneça os dados solicitados e coloque sua assinatura a seguir.

Nome: _____

R.G. _____

Endereço: _____

Fone: _____

_____, de _____ de 20__

Documento assinado digitalmente
 ANA BEATRIZ BELINI DOS SANTOS
 Data: 09/09/2024 15:30:00-0300
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

 Assinatura do Participante

 Assinatura do Pesquisador(a)
 responsável

OBS: Este termo apresenta duas vias, uma destinada ao participante e a outra ao pesquisador.

Nome Pesquisador(a): Ana Beatriz Belini dos Santos	Cargo/Função: Mestranda
Instituição: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - Campus São José do Rio Preto	
Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265. Bairro: Jardim Nazareth	
Telefone: (17) 98805-2310	
Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP Rua Cristóvão Colombo, 2265. Bairro: Jardim Nazareth. São José do Rio Preto/SP – Fone 17-3221.2480 e 3221.2545	

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE DAS AMOSTRAS DO GRUPO CONTROLE

UNESP – São José do Rio Preto

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96)

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa “**Estresse oxidativo em pacientes beta talassêmicos e com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase**” sob responsabilidade da Doutoranda Luciana de Souza Ondeí. O estudo será realizado com amostras de sangue para detecção de talassemia beta, deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e enzimas de detoxificação oxidativa, visando esclarecer as diferenças de manifestação entre os diferentes indivíduos. O risco pode ser considerado mínimo, caracterizado pela possibilidade de mancha roxa no local da picada da agulha de coleta. Você poderá consultar o pesquisador responsável em qualquer época, pessoalmente ou por telefone para esclarecimento de qualquer dúvida. Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e, estes últimos só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato destes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. O material biológico cedido será armazenado e você poderá ser chamado para dar a sua autorização para novo(s) projeto(s). Caso isso seja impossível, seu material biológico somente será utilizado mediante aprovação pelo CEP ou pela CONEP, em cumprimento à Resolução CNS 347/2005.

Assim, concordo em participar do projeto de pesquisa em questão.

Nome: _____ R.G.: _____
Endereço: _____ Fone: _____

_____, _____ de _____ 2007.

Usuário/ responsável legal

Pesquisador responsável

OBS: Este termo apresenta duas vias, uma destinada ao usuário ou seu representante e a outra ao pesquisador.

MSc Luciana de Souza Ondeí

Cargo/função: Doutoranda

Intituição IBILCE – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

UNESP – Universidade Estadual Paulista

Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth – CEP: 15054-000.

São José do Rio Preto – SP, Fone: (17) 3221-2392

ANEXO C - APROVAÇÃO DO CEP

11/01/2025 16:36

Plataforma Brasil

Portal do Governo Brasileiro



ANA BEATRIZ BELINI DOS SANTOS - Pesquisador | V4.0.7_RC03

Cadastros

Sua sessão expira em: 37min 21

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise de polimorfismos nos genes Protrombina (G20210A), Cistationina Beta Sintase (844ins68) e Fator V de Leiden (G1691A) em adultos que contraíram COVID-19.
Pesquisador Responsável: ANA BEATRIZ BELINI DOS SANTOS
Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;)
Versão: 3
CAAE: 78503224.0.0000.5466
Submetido em: 09/09/2024
Instituição Proponente: Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas/ Campus de São José do Rio Preto
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_2295670

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

LISTA DE APRECIACÕES DO PROJETO

Apreciação	Pesquisador Responsável	Versão	Submissão	Modificação	Situação	Exclusiva do Centro Coord.	Ações
PO	ANA BEATRIZ BELINI DOS SANTOS	3	09/09/2024	01/10/2024	Aprovado	Não	

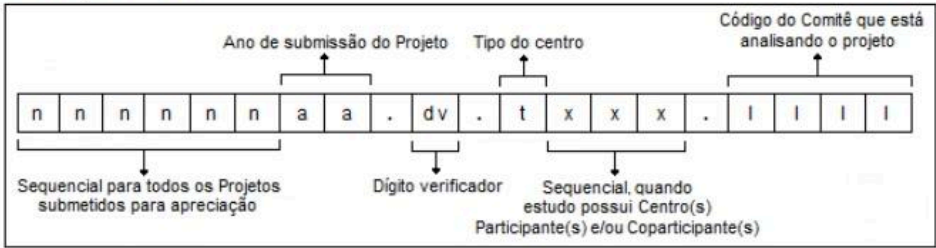
HISTÓRICO DE TRÂMITES

LEGENDA:

(*) Apreciação

PO = Projeto Original de Centro Coordenador	POp = Projeto Original de Centro Participante	POc = Projeto Original de Centro Coparticipante
E = Emenda de Centro Coordenador	Ep = Emenda de Centro Participante	Ec = Emenda de Centro Coparticipante
N = Notificação de Centro Coordenador	Np = Notificação de Centro Participante	Nc = Notificação de Centro Coparticipante

(*) Formação do CAAE



Voltar

ANEXO D - QUADRO COM OS VALORES CRÍTICOS DO TESTE DE QUI-QUADRADO

Quadro 3.4 Valores críticos da distribuição de χ^2									
df	P								
	0,995	0,975	0,9	0,5	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005
1	0,000	0,000	0,016	0,455	2,706	3,841	5,024	6,635	7,879
2	0,010	0,051	0,211	1,386	4,605	5,991	7,378	9,210	10,597
3	0,072	0,216	0,584	2,366	6,251	7,815	9,348	11,345	12,838
4	0,207	0,484	1,064	3,357	7,779	9,488	11,143	13,277	14,860
5	0,412	0,831	1,610	4,351	9,236	11,070	12,832	15,086	16,750
6	0,676	1,237	2,204	5,348	10,645	12,592	14,449	16,812	18,548
7	0,989	1,690	2,833	6,346	12,017	14,067	16,013	18,475	20,278
8	1,344	2,180	3,490	7,344	13,362	15,507	17,535	20,090	21,955
9	1,735	2,700	4,168	8,343	14,684	16,919	19,023	21,666	23,589
10	2,156	3,247	4,865	9,342	15,987	18,307	20,483	23,209	25,188
11	2,603	3,816	5,578	10,341	17,275	19,675	21,920	24,725	26,757
12	3,074	4,404	6,304	11,340	18,549	21,026	23,337	26,217	28,300
13	3,565	5,009	7,042	12,340	19,812	22,362	24,736	27,688	29,819
14	4,075	5,629	7,790	13,339	21,064	23,685	26,119	29,141	31,319
15	4,601	6,262	8,547	14,339	22,307	24,996	27,488	30,578	32,801

P, probabilidade; df, graus de liberdade.

ANEXO E - QUESTIONÁRIO ELABORADO POR RIBEIRO (2022)

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSdrJYNd-zA_ijBOBT-AP3_2aMtlS3nnM-0TajMsuh3zyH_jqw/viewform?vc=0&c=0&w=1&flr=0

ANEXO F - RESUMOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

Apresentação HEMO (Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular) 2023 - <https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.233>


ScienceDirect

Revistas e livros
Ajuda
Procurar
Minha conta

Ver PDF
Baixar edição completa

Outline
Introdução/Objetivos
Material e métodos
Resultados
Discussão
Conclusão


Hematologia, Transfusão e Terapia Celular
Volume 45, Suplemento 4, Outubro de 2023, Páginas S87-S88



Part of special issue
HEMO 2023
Download full issue

Artigos recomendados

FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS PARA O POLIMORFISMO I/D DA ECA I EM PESSOAS QUE CONTRAÍRAM COVID-19

ABBD Santos ^a, TF Ribeiro ^a, RB Batista ^a, DD Silva ^b, DP Malerba ^a, FH Borin ^{um}, CM Ayo ^b, CR Bonin-Domingos ^a

Mostrar mais

+ Adicionar ao Mendeley Compartilhar Citar

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.233> Obtenha direitos e conteúdo
Sob uma licença Creative Commons acesso aberto

Introdução/Objetivos

O Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) desempenha papel essencial na regulação da pressão arterial e no equilíbrio hídrico no organismo. O funcionamento clássico do SRAA envolve a clivagem do angiotensinogênio produzido pelo fígado, pela enzima renina, convertendo-o em angiotensina I. A Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA I) realiza a conversão de angiotensina I em angiotensina II. O gene da ECA I está localizado no braço longo do cromossomo 17 e apresenta o polimorfismo de inserção (I) e exclusão (D) formando os genótipos II, ID e DD. A Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II) é um receptor celular para o vírus SARS-CoV-2, funcionando como uma porta de entrada na célula. A Síndrome de COVID longa é uma condição clínica pós-COVID-19 caracterizada pela persistência de sintomas por semanas ou meses após o início da doença, em que o paciente não se recupera totalmente da infecção. O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência dos polimorfismos I/D da Enzima Conversora de Angiotensina I em pessoas que contraíram COVID-19 e sua associação possível com a gravidade da doença.

Material e métodos

Foram avaliados 91 indivíduos que contraíram a COVID-19, com variação de gravidade clínica em leve, moderada e grave. Amostras de sangue foram coletadas e submetidas à

Disponível em:

<https://proceedings.science/vi-cpbio-2023/trabalhos/analise-do-polimorfismo-id-da-enzima-conversora-de-angiotensina-i-eca-i-em-joven?lang=pt-b>

Anais do VI Congresso Paulista de Ciências Biológicas (VI CPBIO)

ISBN: 978-65-89463-60-3

Login

Análise do polimorfismo I/D da Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA I) em jovens com a gravidade clínica da COVID-19

SANTOS, Ana Beatriz Belini dos ¹ RIBEIRO, Thais Fernandes ¹ PEREIRA, Lucas Ramos ¹

DOMINGOS, Claudia Regina Bonini ¹

Vol 1, 2023 - 162948

Resumo expandido - Graduação

Download



COMO CITAR ESSE TRABALHO?

Resumo

A COVID-19 é causada pelo beta coronavírus de RNA chamado SARS-CoV-2. Os casos da doença estão distribuídos em graus de gravidade que variam de assintomático a crítico, podendo ser leve, moderado ou grave. O SARS-CoV-2 é formado por quatro glicoproteínas: Spike, nucleocapsídeo, membrana e envelope. Ele usa a Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II) como um receptor celular. A ECA II junto com a Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA I) estão inseridas no Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) realizando a conversão de Angiotensina I em Angiotensina II. O gene da ECA I está localizado no braço longo (q) do cromossomo 17. O polimorfismo I/D da ECA I apresenta três genótipos DD, ID e II por conta da inserção (I) e deleção (D) de um fragmento de 287 pares de base (pb) no gene da ECA I por conta da inserção do elemento de transposição Alu. Os elementos de transposição são sequências de genes que podem se movimentar no genoma hospedeiro. A inserção Alu é a maior classe entre os elementos repetitivos móveis curtos e atualmente são importantes para estudos no campo da evolução. Esse trabalho teve como objetivo avaliar se existe relação entre o polimorfismo I/D da Enzima Conversora de Angiotensina I e a gravidade da COVID-19 em jovens adultos. O estudo contou com dois grupos: o

Instituições

¹ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" / Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

Eixo Temático

- Genética e Bioquímica - Genética Humana e Animal, Evolução, Sistemática



View PDF

Download full issue

Outline

Introdução/objetivos

Material e métodos

Resultados

Discussão

Conclusão



Hematology, Transfusion and Cell Therapy

Volume 46, Supplement 4, October 2024, Page S615



Part of special issue

HEMO 2024



Download full issue

Recommended articles

FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS DA MUTAÇÃO 844INS68 NO GENE CISTATIONINA BETA SINTASE EM PESSOAS QUE CONTRAÍRAM COVID-19

ABBD Santos ^a, TF Ribeiro ^a, MR Luizon ^b, CR Bonini-Domingos ^a

Show more

[+ Add to Mendeley](#)
[Share](#)
[Cite](#)
<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1032>
[Get rights and content](#)

Under a Creative Commons license

[Open access](#)

Introdução/objetivos

O gene da Enzima *Cistationina Beta Sintase* (CBS) está localizado no braço q do cromossomo 21 e seu produto realiza a conversão de homocisteína em cistationina. A mutação 844ins68 desse gene adiciona o risco do desenvolvimento de Trombose Venosa Profunda (TVP), uma vez que a deficiência na conversão de homocisteína em cistationina forma um fator de risco isolado para doenças vasculares e essa predisposição ocorre pois a homocisteína é neurotóxica e vasculotóxica. A COVID-19 é uma doença causada pelo vírus de RNA SARS-CoV-2 que tem como uma das vias de entrada a Enzima Conversora de Angiotensina II, que por ser expressa em órgãos como coração, pulmão e endotélio dos vasos sanguíneos pode causar como evento adverso trombose venosa profunda. Medicamentos como anticoncepcionais, sedentarismo, bebidas alcoólicas e cigarro são fatores que também podem influenciar no desenvolvimento de TVP. Considerando os eventos adversos da COVID-19 relacionados a tromboembolismo venoso, estilo de vida e a frequência de mutação no gene da CBS, o objetivo do estudo foi investigar a frequência da mutação 844ins68 no gene da Cistationina Beta Sintase em adultos que contraíram COVID-19.