

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO**  
**CURSO DE DOUTORADO**

**FABYAN ESBERARD DE LIMA BELTRÃO**

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDIANA E POLIMORFISMO THR92ALA-D2  
DO GENE DA DESIODASE TIPO 2 COMO BIOMARCADORES DE  
MORTALIDADE NA COVID-19**

João Pessoa

2021

FABYAN ESBERARD DE LIMA BELTRÃO

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDIANA E POLIMORFISMO THR92ALA-D2  
DO GENE DA DESIODASE TIPO 2 COMO BIOMARCADORES DE  
MORTALIDADE NA COVID-19**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de Doutor em Ciências da Nutrição.

**ORIENTADORA:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

**COORIENTADOR:** Prof. Dr. Helton Estrela Ramos

João Pessoa

2021

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

B453a Beltrão, Fabyan Esberard de Lima.

Avaliação da função tireoidiana e polimorfismo THR92ALA-D2 do gene da desidase tipo 2 como biomarcadores de mortalidade na COVID-19 / Fabyan Esberard de Lima Beltrão. - João Pessoa, 2021.  
126 f. : il.

Orientação: Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves.

Coorientação: Helton Estrela Ramos.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. COVID-19 - Tireoide. 2. Hormônios tireoidianos.  
3. T3 livre. 4. polimorfismo THR92ALA-D2. I. Gonçalves, Maria da Conceição Rodrigues. II. Ramos, Helton Estrela. III. Título.

UFPB/BC

CDU 578.834:612.444(043)

FABYAN ESBERARD DE LIMA BELTRÃO

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDIANA E POLIMORFISMO THR92ALA-D2 DO GENE DA DESIODASE TIPO 2 COMO BIOMARCADORES DE MORTALIDADE NA COVID-19

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito obrigatório para obtenção do título de Doutor pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

APROVADA EM 15 / 12 / 2022

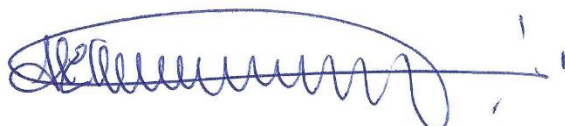
BANCA EXAMINADORA



Profª Dra Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

Orientadora/ Presidente

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)



Prof. Dr. Helton Estrela Ramos  
Departamento de Biorregulação  
Instituto de Ciências da Saúde  
Universidade Federal da Bahia  
SIAPE 1311305

Prof. Dr. Helton Estrela Ramos

Coorientador

(UFBA/Departamento de Biorregulação/ Instituto de Ciências da Saúde)



Profª Drª. Darlene Camati Persuhn

Membro interno – Titular

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)



---

Prof. Dr. Alexandre Sergio Silva

Membro interno – Suplente

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)



---

Prof. Dr. Agostinho Hermes de Medeiros Neto

Membro externo – Titular

(UFPB/Centro de Ciências Médicas)



---

Prof. Dr. José Augusto Sgarbi

Membro externo – Titular

(UFPB/Centro de Ciências Médicas)

Faculdade de Medicina de Marília/ Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da  
FAMEMA

---

Prof. Dr. José Eymard Medeiros Filho

Membro externo – Suplente

(UFPB/Centro de Ciências Médicas)

Dedico este trabalho a **Deus**, amor e conhecimento supremo, a minha grande família, em especial as duas mulheres da minha vida, a minha mãe **Euda** e a minha esposa **Daniele**, a minha orientadora, **Dr<sup>a</sup> Maria da Conceição** e a todos os meus amigos que indiretamente me ajudaram nesta conquista.

## AGRADECIMENTOS

Ao nosso grande Pai, Deus, por sua fonte inesgotável de amor e sabedoria, e por sempre estar presente na minha vida.

A minha amada mãe Euda, primeira e eterna professora, que me ensinou a ser humilde e paciente e todas as orações ao longo dos anos.

Ao meu saudoso pai Napoleão, meu grande exemplo de vida e incentivo à minha formação. Suas palavras sempre ecoarão em mim.

A minha amada esposa Daniele, companheira de todas as horas, pelo incentivo, dedicação e compreensão. Sem ela e nossa filha seria impossível a realização desse sonho.

Aos meus irmãos, Fabrícia, Fabyo e Fabyanna, por todo incentivo e inspiração. Sempre unidos pelo amor.

Aos meus filhos, Giulia, Gabriel e Pedro, razão do meu viver. Em especial a minha filha Giulia (futura médica e pesquisadora), que ajudou muito em todas as etapas do projeto e que com certeza seguirá os meus passos no campo das ciências.

A minha sogra Edna, por me receber como um filho e também pelas orações dedicadas.

Aos meus cunhados Helder e Pedro, que assim como meus irmãos, sempre presentes na minha vida, me ajudaram indiretamente no projeto, na logística do transporte das amostras de sangue e urina entre a UFPB e a UFBA.

A minha orientadora Dra. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves, exemplo de pesquisadora, pela confiança, atenção, determinação e ensinamentos.

Ao meu coorientador, Dr. Helton Estrela Ramos, exemplo de profissional dedicado à endocrinologia e a pesquisa, pela atenção, presteza e ensinamentos.

A Dr. Antônio Bianco, pesquisador referência em tireoide a nível internacional. Que com a sua serenidade transmitiu todo o conhecimento adquirido de forma brilhante nos nossos artigos.

Ao grande amigo Jurandy de Andrade, que com sua experiência e dedicação de anos em laboratórios de análises tornou realidade toda a complexidade do nosso projeto. Transformou o laboratório do Hospital Metropolitano em suprassumo nessa pandemia e dessa forma ajudou a salvar centenas de vidas no nosso Estado. Uma das maiores conquistas desse meu projeto: A amizade sincera de Jurandy.

Ao Prof. Dr. Jose Eymard Moraes de Medeiros Filho, meu primeiro incentivador nas pesquisas na cidade de João Pessoa (mestrado) e um grande exemplo de médico e orientador, o qual admiro muito.

Ao Prof. Dr. João Modesto, o grande endocrinologista que sempre representou perfeitamente a nossa sociedade Paraibana.

Gratidão aos meus amigos médicos Agostinho, Edivaldo, Eduardo e Marcelo, que diante de todas as incertezas da pandemia, ajudaram a curar vários pacientes com COVID-19 no Hospital Universitário, juntamente com os médicos residentes, honrando o juramento que um dia fizeram.

A todos os colegas da turma de mestrado de nutrição (2018) pela acolhida e companheirismo.

Aos funcionários do PPGCN, que sempre estiveram prontos a me auxiliar em diferentes etapas do processo.

Aos meus grandes amigos, Dácio, Gerônimo, Pacífico, Pedro Henrique, Plínio, Rafael e Tiago pela paciência, incentivo e ensinamentos.

Aos alunos da residência médica da prefeitura de João Pessoa e da UFPB pela dedicação e empenho ao projeto.

E por fim a todos os pacientes e familiares, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho. Minha sincera gratidão!

*“aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”*

*Albert Einstein*

## RESUMO

O novo Coronavírus (SARS-CoV-2) pode causar inflamação pulmonar e sistêmica, levando a disfunção múltipla de órgãos. Alterações nos hormônios tireoidianos intra-hospitalar e a Síndrome da Doença Não Tireoidiana (NTIS) estão associados a desfechos clínicos desfavoráveis durante a internação e a desidase tipo 2 e seu polimorfismo Thr92Ala-DIO2 têm sido associados a lesão pulmonar aguda e fibrose pulmonar. Estudos avaliando a função tireoidiana e o polimorfismo THR92ALA-D2, em pacientes com COVID-19 ainda são escassos e inconclusivos, baseados nestes fatos o trabalho teve como objetivo avaliar a associação entre os testes da função tireoidiana, a prevalência da NTIS e o polimorfismo Thr92Ala-DIO2 do gene da desidase tipo 2, com mortalidade e biomarcadores de gravidade em pacientes admitidos em um hospital terciário especializado em COVID-19. Trata-se de um estudo do tipo coorte, observacional, longitudinal e prospectivo. A amostra foi constituída por 274 pacientes confirmados para COVID-19, admitidos no Hospital Metropolitano do Município de João Pessoa-PB, Nordeste do Brasil entre junho e agosto de 2020. Os pacientes foram submetidos a dosagem da função tireoidiana (TSH, T3 livre, T4 livre, T3 reverso), biomarcadores hormonais e imunológicos e genotipagem para o polimorfismo Thr92Ala-DIO2. Resultados: Um nível de corte de T3 livre ( $\leq 2,6$  pg/mL) e T3 reverso ( $\leq 0,38$  ng/mL) foi associado a 3,46 e 5,94 OR de mortalidade, respectivamente. NTIS ( $fT3 \leq 2,0$  pg/mL) foi associada a 7,05 OR de mortalidade ([IC 1,78–28,3],  $p = 0,005$ ) e o produto  $rT3 \times fT3 \leq 1,29$  com um OR de 8,08 de mortalidade ([CI 3,14–24,2],  $p = 0,0001$ ). Com relação ao polimorfismo Thr92Ala-DIO2, 220 pacientes consecutivos foram genotipados e estratificados em três subgrupos: Thr/Thr ( $n=79$ ), Thr/Ala ( $n=119$ ) e Ala/Ala ( $n=23$ ). Enquanto a mortalidade geral foi de 17,3%, a letalidade foi menor nos pacientes Ala/Thr (12,6%) quando comparados aos pacientes Thr/Thr (21,7%) ou pacientes Ala/Ala (23%). Na curva Kaplan-Meier mostrou sobrevida significativamente melhor em pacientes com o alelo heterozigoto (Thr/Ala) quando comparada com pacientes com alelos homozigotos (HR 0,53,  $p = 0,048$ ). Na regressão logística univariada e multivariada ajustada para múltiplas covariáveis revelou uma redução que variou de 51-66%. A associação do genótipo Thr/Ala com melhores resultados clínicos foi confirmada em uma metanálise de 5 estudos, incluindo o presente.

**Palavras Chave: COVID-19; Tireoide; polimorfismo THR92ALA-D2.**

## ABSTRACT

The new coronavirus (SARS-CoV-2) can cause pulmonary and systemic inflammation and multiple organ dysfunction. Findings suggest that dysfunctions in in-hospital thyroid hormones and the Non-Thyroid Disease Syndrome (NTIS) are associated with poor clinical outcomes during COVID-19 hospitalization. Moreover, researchers found correlations between type 2 deiodinase (especially his Thr92Ala-DIO2 polymorphism) and acute lung injury and pulmonary fibrosis. However, studies that assess thyroid function and THR92ALA-D2 polymorphism in patients with COVID-19 are still insufficient and inconclusive. This study aimed to evaluate the association of thyroid function biomarkers, NTIS prevalence, and Thr92Ala polymorphism-DIO2 with COVID-19 mortality and COVID-19 severity biomarkers in the hospital setting. This study is a cohort, observational, longitudinal and prospective study that evaluate COVID-19 hospitalized patients. Our study includes a total of 274 patients with COVID-19 admitted to the Metropolitan Hospital of the João Pessoa-PB city (Northeast of Brazil) between June and August 2020. We assess the patient's thyroid hormones (TSH, free T3, free T4, and reverse T3), COVID-19 biomarkers, and Thr92Ala-DIO2 polymorphism genotype. Results: The cut-off level of free T3 ( $\leq 2.6$  pg/mL) and reverse T3 ( $\leq 0.38$  ng/mL) were associated with 3.46 and 5.94 OR of mortality, respectively. NTIS ( $fT3 \leq 2.0$  pg/mL) was correlated with 7.05 OR of mortality ([CI 1.78–28.3],  $p = 0.005$ ). The cut-off product level of  $rT3 \times fT3$  ( $\leq 1.29$ ) was associated with 8.08 OR mortality ([CI 3.14–24.2],  $p = 0.0001$ ). We assessed 220 patients (we lack data of 54 patients) Thr92Ala-DIO2 polymorphism genotype and found the following result: Thr/Thr ( $n=79$ ), Ala/Thr ( $n=119$ ) and Ala/Ala ( $n=23$ ). The overall mortality was 17.3% ( $n=220$ ), lethality was lower in Ala/Thr patients (12.6%) when compared to Thr/Thr patients (21.7%) or Ala/Ala patients (23%). The Kaplan-Meier curve showed a significantly higher chance of survival in patients with the heterozygous allele (Ala/Thr) than patients with homozygous alleles (HR 0.53,  $p = 0.048$ ). Univariate and multivariate logistic regression adjusted for multiple covariates showed a mortality Ala/Thr reduction that ranged from 51-66%. To assure our results, we did a meta-analysis of 5 studies (including this one) about Thr92Ala-DIO2 polymorphism that confirmed the association of the Ala/Thr genotype with better clinical outcomes.

**Keyword: COVID-19; Thyroid; THR92ALA-D2 polymorphism.**

## LISTA DE TABELAS

### TABELAS DA TESE

<b>Tabela 1:</b> Estudos retrospectivos com pacientes com COVID-19 que analisam a função tireoidiana na admissão:.....	<b>38</b>
<b>Tabela 2:</b> Estudos prospectivos com pacientes com COVID-19 que analisam a função tireoidiana na admissão:.....	<b>39</b>
<b>Tabela 3:</b> Resumo das anormalidades do hormônio tireoidiano encontradas em pacientes não críticos.....	<b>41</b>
<b>Tabela 4:</b> Alterações nos parâmetros dos hormônios tireoidianos no hipotireoidismo primário central e NTIS.....	<b>43</b>
<b>Tabela 5:</b> Principais exames laboratoriais que foram avaliados.....	<b>59</b>

### TABELAS DO ARTIGO I

<b>Table 1:</b> Demographic and Clinical Characteristics of the Cohort in Patients Non-Critical and Critical and Their Association with Mortality.....	<b>76</b>
<b>Table 2:</b> Variables Measured in Non-Critical and Critical and Their Association with Mortality.....	<b>77</b>
<b>Table 3:</b> Variables Analyzed as Potential Biomarkers for Mortality: Receiver Operating Characteristic Curve.....	<b>80</b>
<b>Table 4</b> Univariate and Multivariable Regression Analyses Between Thyroid Function and Variables.....	<b>81</b>
<b>Table 5:</b> Prospective Studies in COVID-19 Patients Analyzing Association Between Thyroid Function Tests Measured at Admission and Disease Severity or Fatality.....	<b>82</b>

### TABELAS DO ARTIGO II

<b>Table 1:</b> Demographic and clinical characteristics of the patient cohort and their association with Thr92Ala-DIO2 polymorphism and mortality.....	<b>109</b>
<b>Table 2:</b> Blood biochemistry in COVID-19 patients and their association with Thr92Ala-DIO2 polymorphism and mortality.....	<b>110</b>
<b>Table 3:</b> Multivariable regression analyses of mortality, considering multiple covariates, Thr92Ala-DIO2 polymorphism, and overdominant inheritance model.....	<b>111</b>

<b>Table 4:</b> Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between the occurrence of a series of diseases and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to three inheritance models: dominant, overdominant and recessive.....	<b>112</b>
<b>Table 5:</b> Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between disease outcome and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to three inheritance models: dominant, overdominant and recessive.....	<b>113</b>

## LISTAS DE FIGURAS

### FIGURAS DA TESE

<b>Figura 1:</b> Características clínicas do COVID-19.....	<b>25</b>
<b>Figura 2:</b> Estrutura do SARS-CoV-2 e enzimas relacionadas a fusão do vírus SARS-CoV-2 com o seu receptor ACE2.....	<b>27</b>
<b>Figura 3:</b> Expressão Genótipo-Tecido de ACE2 (log2) em vários tecidos humanos.....	<b>28</b>
<b>Figura 4:</b> As três fases da patogênese do COVID-19: pulmonar, pró-inflamatória e pró-trombótica. Padrões de resposta, mecanismos patogênicos e manifestações clínicas para cada fase são descritos.....	<b>29</b>
<b>Figura 5:</b> Fase pulmonar e pró-inflamatória da patogênese do COVID-19.....	<b>32</b>
<b>Figura 6:</b> Síntese de T4 (ou T3) a partir da tireoglobulina (TG) na glândula tireoide.....	<b>33</b>
<b>Figura 7:</b> Esquemas das alterações nos hormônios da tireoide e desidases em indivíduos saudáveis e em pacientes com doença crítica aguda e prolongada.....	<b>42</b>
<b>Figura 8:</b> A hipóxia induz atividade da DIO3.....	<b>45</b>
<b>Figura 9:</b> Mecanismo sugeridos para explicar os efeitos do COVID-19 nos hormônios tireoidianos.....	<b>46</b>
<b>Figura 10:</b> Polimorfismo Thr92Ala-D2 (rs225010): 1. Homozigoto Thr92; 2. Heterozigoto; 3. homozigoto Ala92 .....	<b>48</b>
<b>Figura 11:</b> Doenças e desfechos clínicos relacionado ao polimorfismo Thr92Ala-D2 (rs225010).....	<b>49</b>
<b>Figura 12:</b> Proteínas (expressão transcricionais) estimuladas especificamente pelos diferentes alelos do polimorfismo D2 Thr92Ala e interrelação com a fisiopatologia do COVID-19: Proteínas: DIO3, BST2, SCL44A2, CXCR4 e CCL4.....	<b>52</b>

## FIGURAS DO ARTIGO I

<b>Figure 1:</b> Flowchart of the study.....	<b>74</b>
<b>Figure 2:</b> Venn diagram with the main TH levels alterations distribution observed in 191 COVID-19 hospitalized patients with abnormal results at admission and relationship with mortality rate.....	<b>76</b>
<b>Figure 3:</b> TH levels, biochemical and hemocromocytometric parameters in 245 critically and non-critically ill COVID-19 hospitalized patients during the first 48 hours of admission.....	<b>79</b>
<b>Figure 4:</b> TH levels of 245 COVID-19 hospitalized patients collected during the first 48 hours of admission.....	<b>81</b>

## FIGURAS DO ARTIGO II

<b>Figure 1:</b> Flowchart of the study.....	<b>103</b>
<b>Figure 2:</b> D2 Thr92Ala polymorphism and mortality (Cochran-Armitage test and Chi-square test) .....	<b>104</b>
<b>Figure 3:</b> Kaplan-Meier curve and their association with Mortality.....	<b>105</b>
<b>Figure 4:</b> Flow diagram utilized in metanalysis (PRISMA 2020).....	<b>106</b>
<b>Figure 5:</b> Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between the occurrence of a series of diseases and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to overdominant inheritance models.....	<b>107</b>
<b>Figure 6:</b> Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between disease outcome and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to overdominant inheritance models.....	<b>108</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COVID-19	Doença coronavírus.....	22
SARS CoV2	Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2.....	22
OMS	Organização Mundial da Saúde.....	22
CDC	Centro para Controle e Prevenção de Doenças.....	22
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.....	22
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2.....	22
T3I	Triiodotironina livre.....	22
TSH	Hormônio estimulador da tireoide.....	22
NTIS	Síndrome da Doença Não Tireoidiana.....	22
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único.....	23
Thr92Ala-D2	Polimorfismo Thr92-Ala Desiodase tipo 2 .....	23
HT	Hormônio tireoidianos.....	23
MERS	Síndrome respiratória do Oriente Médio.....	24
SIVEP-Gripe	Sistema de Vigilância Epidemiológica da Gripe.....	24
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo.....	25
PCR	Proteína C Reativa.....	26
UTI	Unidade de terapia intensiva.....	26
DM	Diabetes Mellitus.....	26
OB	Obesidade.....	26
RBD	Receptor Binding Domain.....	26
DPP4	Dipeptidil Peptidase tipo 4.....	26
TMPRSS2	Serina protease transmembrana 2.....	27
NK	Natural killer.....	27
SRA	Sistema renina-aldosterona.....	29
AT1	Receptor de angiotensina II tipo 1.....	30
VEGF	Estimulação do fator de crescimento endotelial vascular.....	30
EROs	Espécies ativas de oxigênio.....	30
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1.....	30
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1.....	30
rMAS	Receptor MAS.....	30
DABK	[des-Arg (9)] – bradicinina.....	31
PAMP	Padrões moleculares associados aos patógenos.....	31
SAM	Síndrome de ativação macrófaga.....	31
NIS	Simportador sódio-iodo.....	32
MIT	Monoiodotirosina.....	32
DIT	Diiodotirosina.....	32
TBG	Globulina ligadora de tiroxina.....	33
DIO	Desiodase.....	33
DIO1	Desiodase tipo I.....	34
DIO2	Desiodase tipo II.....	34
DIO3	Desiodase tipo III.....	34
mRNA	RNA mensageiro .....	34
T4	Tiroxina.....	34

TSH	Hormônio estimulador da tireoide.....	34
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.....	34
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase.....	34
TSA	Tireoidite subaguda.....	35
USG	Ultrassonografia.....	34
OR	Razão de chances.....	35
IC	Intervalo de Confiança.....	35
T3r	T3 reverso.....	40
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$ .....	40
IL	Interleucina .....	40
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral.....	40
HIV	Vírus da imunodeficiência humana .....	40
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida.....	41
RR	Razão de risco.....	43
VHS	Velocidade de hemossedimentação .....	44
HIF- $\alpha$	Fator induzível por hipóxia alfa.....	44
TGFA	Fator de crescimento transformador alfa.....	45
PI3K	Fosfoinositase 3 quinase .....	45
ERO	Espécies reativas de oxigênio.....	46
SNC	Sistema nervoso central.....	47
ADRB3	Receptor adrenérgico $\beta$ -3.....	47
MCT10	Transportador de monocarboxilato 10.....	48
LPA	Lesão pulmonar aguda.....	50
HEK-293	células embrionárias de rim humano.....	50
SLC44a2	Família transportadora de soluto 25 membros 2.....	50
CXCR4	Receptor de quimiocinas do tipo CXC 4.....	50
CDK2	Quinase dependente de ciclina 2.....	50
BST2	Antígeno 2 da célula estromal da medula óssea.....	50
CXCL	Ligante de quimiocina CXC.....	51
AXL	Receptor de Tirosina quinase AXL.....	51
PIKFYVE	Fosfoinositídeo quinase, tipo FYVE de dedo de zinco.....	51
CCL	Ligante C-C de quimiocinas.....	51
CCS	Centro de Ciências da Saúde .....	53
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética.....	53
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido.....	53
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa quantitativa....	53
PaO <sub>2</sub>	Pressão parcial de oxigênio arterial.....	53
FiO <sub>2</sub>	Fração inspirada de oxigênio.....	54
SOFA	Avaliação Sequencial de Falência Orgânica.....	54
NEWS2	Pontuação Nacional de Alerta Prévio 2.....	54
DM2	Diabetes Mellitus.....	55
GLP-1	Peptídeo semelhante a glucagon 1.....	55
IMC	Índice de massa corpórea.....	55
SAO <sub>2</sub>	Saturação arterial de oxi-hemoglobina.....	55
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva.....	55
IRPM	Insuflações respiratórias por minutos.....	56
CK	Creatinoquinase.....	57

CPAP	Pressão positiva contínua nas vias aéreas.....	57
VM	Ventilação mecânica.....	57
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance.....	58
AST	Aspartato aminotransferase.....	58
ALT	Alanina aminotransferase.....	58
NLR	Razão neutrófilos / linfócitos.....	58
TC	Tomografia Computadorizada.....	60
IQR	Intervalo interquartil.....	60
ROC	Característica de Operação do Receptor.....	60
TH	Thyroid hormone.....	73
ft3	Free triiodothyronine.....	73
rT3	Reverse triiodothyronine.....	73
OR	Odds ratio.....	73
CI	Confidence interval.....	73
AUC	Area under curve.....	73
NTIS	Nonthyroidal illness syndrome.....	74
SAT	Subacute thyroiditis.....	74
ACE-2	Angiotensin converting enzyme 2.....	74
TSH	Thyrotropin.....	74
ICU	Intensive care unit.....	74
rRT-qPCR	Real-time reverse-transcriptase-polymerase chain reaction.....	75
CT	Computed tomography.....	75
PaO2	Partial arterial pressure of oxygen.....	75
CRP	Creactive protein.....	75
LDH	Lactate dehydrogenase.....	75
ROC	receiver operating characteristic.....	75
qSOFA	Quick Sepsis-related Organ Failure Assessment.....	76
NEWS-2	National Early Warning Score 2.....	76
ALT	Alanine transaminase.....	76
AST	Aspartate aminotransferase.....	76
TPOAb	Anti-Thyroid peroxidase antibodies.....	76
NLR	Neutrophil-lymphocyte ratio.....	77
AFC	Alveolar fluid clearance.....	80
D1	Type I deiodinase.....	80
D3	Type III deiodinase.....	80
HIF1a	Hypoxia-inducible factor.....	80

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	22
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	24
2.1 Pandemia da infecção pelo SARS-Cov-2 (COVID-19) .....	24
2.1.1 Patogenia do COVID-19.....	26
2.2 Tireoide e COVID-19.....	32
2.2.1 Função Tireoidiana.....	32
2.2.2 Disfunção Tireoidiana e COVID-19.....	34
2.2.3 A Síndrome do Eutireoideo Doente e COVID-19.....	40
2.3 Desiodases, Polimorfismo Thr92-Ala e COVID-19.....	47
2.3.1 Desiodases e o Polimorfismo Thr92-Ala.....	47
2.3.2 Polimorfismo Thr92-Ala e COVID-19.....	50
<b>3 ABORDAGEM METODOLÓGICA.....</b>	53
3.1 Tipo de Estudo.....	53
3.2 Questões éticas.....	53
3.3 População e amostra.....	53
3.4 Critérios de elegibilidade da amostra.....	53
3.4.1 Critérios de elegibilidade.....	53
3.5 Coletas de dados.....	54
3.5.1 Protocolo Experimental.....	54
3.5.2 Critérios para diagnóstico de DM.....	55
3.5.3 Critérios para diagnóstico de obesidade.....	55
3.5.4 Critérios para diagnóstico de SDRA.....	55
3.5.5 Questionário sociodemográfico e de saúde.....	56
3.5.6 Questionário de comorbidades e de uso de medicamentos.....	56
3.5.7 Questionário de características clínicas basais (referentes ao início do quadro de doença) .....	57
3.5.8 Questionários de informações clínico-laboratoriais (referente à avaliação desde a admissão ou primeiro atendimento hospitalar) .....	57
3.5.9 Dosagem de Biomarcadores hormonais e imunológicos.....	58
3.5.10 Análise de genotipagem.....	59
3.5.11 Tomografia de tórax.....	60
3.6 Análise Estatísticas.....	60
<b>4 RESULTADOS.....</b>	61
<b>5 PERPECTIVAS.....</b>	62
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	63
<b>APÊNDICES.....</b>	71
<b>APÊNDICE A – ARTIGO 1.....</b>	72
<b>APÊNDICE B – ARTIGO 2.....</b>	84
<b>APÊNDICE D - Termo de Consentimento Livre e Pré-esclarecido.....</b>	114
<b>ANEXOS.....</b>	116

## 1 INTRODUÇÃO

A doença coronavírus 2019 (COVID-19), causada pelo vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 (SARS CoV2), foi declarada uma pandemia global pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020. A sua forma grave causa danos aos pulmões e pode resultar em um quadro de insuficiência respiratória. Além disso, progressivamente, demonstrou ser uma doença sistêmica com manifestações extrapulmonares relevantes que aumentam a letalidade. Diretrizes do Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) sugerem que as pessoas idosas (idade > 65 anos) e aquelas com comorbidades subjacentes como hipertensão arterial, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e obesidade têm alto risco de mortalidade e complicações graves durante a hospitalização. Os fatores de risco são baseados principalmente em estudos iniciais de *Wuhan*, China, epicentro inicial da pandemia e, posteriormente, nos principais países com alta taxa de morbimortalidade, como os países da América Latina e os Estados Unidos da América (WOOLF et al., 2021; ZHU et al., 2020).

No entanto, existe uma busca constante por fatores biológicos associados à evolução da COVID-19 e suas complicações. O conhecimento sobre o impacto desse vírus no sistema endócrino vem sendo estudado em várias partes do mundo. A entrada do SARS-CoV-2 nas células é mediada pela ligação de glicoproteínas à enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). No sistema endócrino, a ECA2 é expressa em todos os órgãos do eixo hipotálamo-hipófise, córtex adrenal, adipócitos, células beta pancreáticas e no parênquima tireoidiano (LI et al., 2020).

Entre muitos efeitos correlatos e comorbidades associadas à doença COVID-19, aqueles relacionados à disfunção da tireoide estão atraindo cada vez mais atenção, a partir dos primeiros estudos publicados. Do ponto de vista sistêmico, estudos recentes têm demonstrado forte associação entre níveis reduzidos de T3 livre (fT3) na admissão de pacientes hospitalizados por COVID-19 com gravidade intra-hospitalar e mortalidade. Esses parâmetros anormais da função tireoidiana são sugestivos da síndrome da doença não tireoidiana (NTIS). No entanto, esses estudos foram limitados pelo pequeno tamanho da amostra de pacientes, por serem análises retrospectivas, e pela inconsistência quanto ao momento em que os testes de função tireoidiana foram obtidos (JONKLAAS et al., 2020).

As evidências sugerem também que fatores genéticos e vias pró-inflamatórias relacionadas a determinados genes podem influenciar o início e a progressão de doenças infecciosas, inclusive a COVID-19. Nesse contexto, desde o início da pandemia, uma série de

variantes genéticas, principalmente polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), têm sido associados à suscetibilidade e à gravidade na doença causada pelo SARS-CoV-2, embora, até o presente momento, foram publicados poucos estudos conclusivos (RAMOS-LOPEZ et al., 2020).

O polimorfismo Thr92Ala da desidase tipo 2 (DIO2) tem alta prevalência na população mundial (38,8 a 47,6%) e está localizado no exon 2 da DIO2. Vários estudos analisaram sua associação com múltiplas doenças crônicas, como diabetes mellitus tipo 2, obesidade, hipertensão arterial, osteoartrite, osteoporose e demências, muitas das quais são fatores de risco para pior prognóstico para COVID-19 (MCANINCH; BIANCO, 2015).

A substituição da treonina por uma alanina na posição 92 e a expressão ectópica da DIO2 do polimorfismo Thr92Ala no aparelho de Golgi, diminui a atividade e aumenta a meia-vida da DIO2 (MENTUCCIA et al., 2002). Os hormônios tireoidianos (HT) podem atingir os pulmões pela circulação sistêmica, mas também podem ser ativados localmente, nas células epiteliais alveolares pulmonares do tipo II, por meio da atividade da DIO2. Estudos recentes vêm demonstrando que o aumento da expressão de DIO2 pode diminuir a resposta inflamatória na insuficiência respiratória aguda, fortalecendo assim a premissa de que o metabolismo do HT está intimamente ligado à resposta integrada à lesão inflamatória em pacientes criticamente doentes (MA et al., 2011).

Como a COVID-19 é uma doença de alta complexidade e a sua avaliação clínica e prognóstica muitas vezes é difícil, a predição de mortalidade em pacientes adultos hospitalizados é essencial para otimizar o tratamento, dessa forma, a proposta deste estudo foi avaliar a associação entre os testes da função tireoidiana, a prevalência da NTIS e o polimorfismo Thr92Ala-DIO2 do gene da desidase tipo 2, com mortalidade e biomarcadores de gravidade em pacientes admitidos em um hospital terciário especializado em COVID-19. Como objetivos específicos: Identificar a prevalência de NTIS (níveis séricos de fT3 <2,0 pg / mL, níveis de fT4 e TSH dentro ou abaixo dos intervalos de referência) e tireoidite atípica (TSH diminuído e T4I elevado) na população estudada; correlacionar essas variáveis citadas anteriormente com os demais biomarcadores hormonais e imunológicos e escores de gravidade avaliados no estudo.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO:**

### **2.1 Pandemia da infecção pelo SARS-Cov-2 (COVID-19)**

Os betacoronavírus causaram epidemias mortais anteriormente, incluindo o surto de SARS em 2003 e a epidemia de síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), que foi detectada pela primeira vez em 2012. Em dezembro de 2019, na cidade de *Wuhan*, China, um novo coronavírus zoonótico foi identificado como agente etiológico do surto de doenças respiratórias agudas graves, como pneumonia e insuficiência pulmonar (ZHU et al., 2020). Em 11 de fevereiro de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) oficialmente nomeou a doença resultante de infecção pelo SARS-CoV-2 como doença coronavírus 2019 (COVID-19). O SARS-CoV-2 é altamente contagioso e a maioria dos indivíduos da população em geral é suscetível à infecção (RABI et al., 2020).

Até 10 de setembro de 2021, cerca de 229,3 milhões de infecções por SARS-CoV-2 e 4.705.000 mortes por COVID-19 foram relatadas no mundo. Os EUA têm o maior número de infecções e mortes relatadas, seguidos pelo Brasil e a Índia. A taxa de mortalidade mundial é estimada entre 0,7% e 4%, mas apresenta diferenças regionais, sendo maior no México (10,8%), Irã (5,7%), Suíça (5,2%) e Peru (4,7%), enquanto o Brasil possui uma taxa de 3,2% (WHO, 2021) .

Estudo transversal epidemiológico com dados obtidos do Sistema de Vigilância Epidemiológica da Gripe (SIVEP-Gripe) avaliaram 678.235 pacientes. Dos pacientes hospitalizados, 36,1% foram admitidos na UTI e 251.910 (37,1%) evoluíram para o óbito. As maiores taxas de internação em leitos de enfermagem e UTIs por 100 mil habitantes no Brasil, durante a pandemia, concentraram-se principalmente nos estados de São Paulo (SP), Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS), mas a taxa de mortalidade geral a cada 1 000 internações foi maior nos estados da região Norte e Nordeste do país. A idade média dos pacientes hospitalizados foi de 59 anos e, com relação as comorbidades relacionadas a mortalidade, a

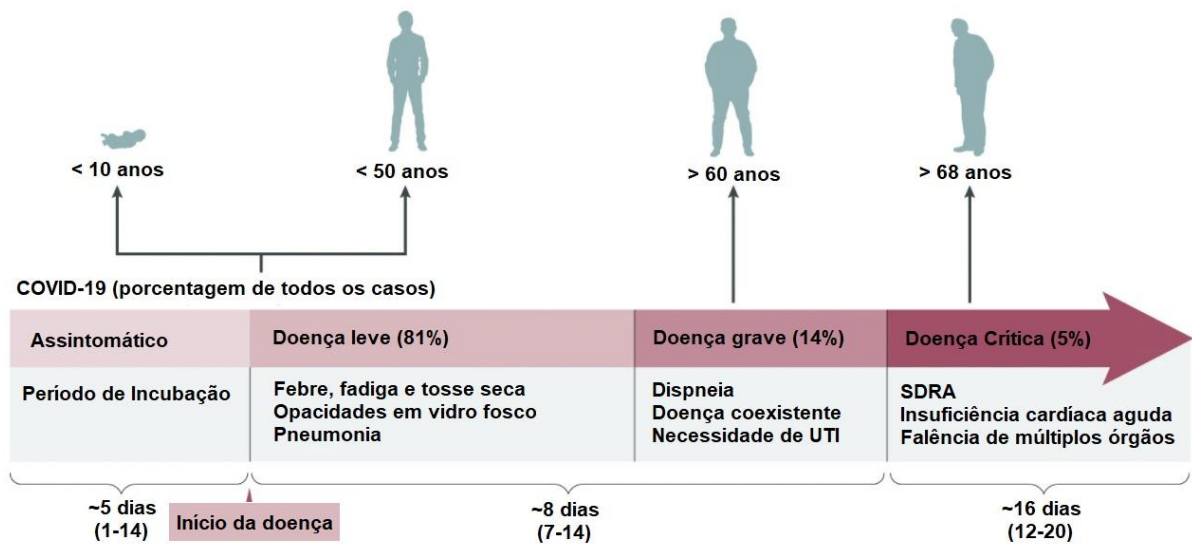
doença cardiovascular (63,6%) foi a mais prevalente, seguida de diabetes (45,2%) e obesidade (14,2%) (ZEISER et al., 2022).

Embora o Brasil represente apenas 2,7% da população mundial, em 15 de dezembro de 2021, o país representava 8,2% de todos os casos e 11,5% das mortes por COVID-19 no mundo. Em um ano, o Nordeste acumulou 22,9% dos casos e 21,5% dos óbitos do Brasil. No estado da Paraíba, segundo informações da Secretaria de Estado da Saúde, foram identificados 464.335 casos de infecção por SARS-CoV-2 e 9.596 mortes no mesmo período analisado (WHO, 2021).

O vírus da SARS-Cov-2 é um RNA vírus do subgênero Sarbecovírus e gênero Betacoronavírus que infectam principalmente os mamíferos morcegos, felinos e pangolin; são altamente patogênicos e responsáveis por causar síndrome respiratória e gastrointestinal. Existem outros tipos de coronavírus que podem induzir doença no trato respiratório superior e inferior, em pacientes imunodeprimidos, crianças e pacientes com comorbidades (HU et al., 2020; PARK et al., 2020; RABI et al., 2020).

O período médio de incubação da infecção por SARS-Cov-2 é de 5,2 dias, com intervalo que pode chegar até 12,5 dias. O espectro clínico da infecção por SARS-Cov-2 é muito amplo, podendo ter manifestações que variam desde sintomas leves a insuficiência respiratória grave e óbitos por falência de múltiplos órgãos. Clinicamente, a doença é caracterizada por sintomas gerais (febre, mialgia, adinamia, cefaleia, rinorreia, anosmia, disgeusia), respiratórios (tosse, dispneia, dor torácica) e gastrointestinais (diarreia, náusea ou vômito, dor ou distensão abdominal). Os sinais e sintomas clínicos referidos são predominantemente respiratórios, com maior taxa de hospitalização de entre pacientes com fatores de risco como doenças cardiovasculares, idade acima de 60 anos, diabetes, obesidade e hipertensão arterial. A letalidade entre os pacientes hospitalizados varia entre 11% e 15% (figura 1) (AL-SHAMSI et al., 2020; CHEN et al., 2020; HU et al., 2020).

Figura 1: Características clínicas do COVID-19.



SDRA (Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo)

Fonte: Adaptado de Hu et al. (2020)

Durante o curso da doença, exames laboratoriais de diferentes biomarcadores podem aumentar o suporte para o diagnóstico, monitoramento e prognóstico dos pacientes. Portanto, diminuição na contagem de hemoglobina, linfócitos e plaquetas, e nos níveis séricos de albumina e tempo de protrombina; além de aumento dos níveis séricos de Proteína C Reativa (PCR), D dímero, ferritina, taxa de sedimentação de eritrócitos, lactato desidrogenase, creatina quinase, transaminases e interleucina-6 podem ser usados na estratificação de risco para prever a gravidade e mortalidade por COVID-19 nos pacientes internados (AL-SHAMSI et al., 2020; CHATTERJEE et al., 2020; CHEN et al., 2020; YE et al., 2020).

Relatos iniciais da China e Itália sugerem alta mortalidade e sobrecarga das unidades de terapia intensiva (UTI) (CHEN et al., 2020; GIOVANETTI et al., 2020; GRASSELLI; PESENTI; CECCONI, 2020). O espectro clínico da infecção humana pelo novo coronavírus ainda não foi completamente elucidado, assim como o padrão de letalidade, mortalidade, infectividade e transmissibilidade. Caracterizar melhor o perfil dos pacientes graves com COVID-19 tem sido muito importante na tomada de decisões terapêuticas e utilização dos recursos (POSTON; PATEL; DAVIS, 2020). Diabetes Mellitus (DM) e obesidade (OB) têm sido reportadas como duas das comorbidades mais comuns em pacientes com alta mortalidade (DIETZ; SANTOS-BURGOA, 2020; GUPTA et al., 2020; MADDALONI; BUZZETTI, 2020; MUNIYAPPA; GUBBI, 2020; RYAN; RAVUSSIN; HEYMSFIELD, 2020).

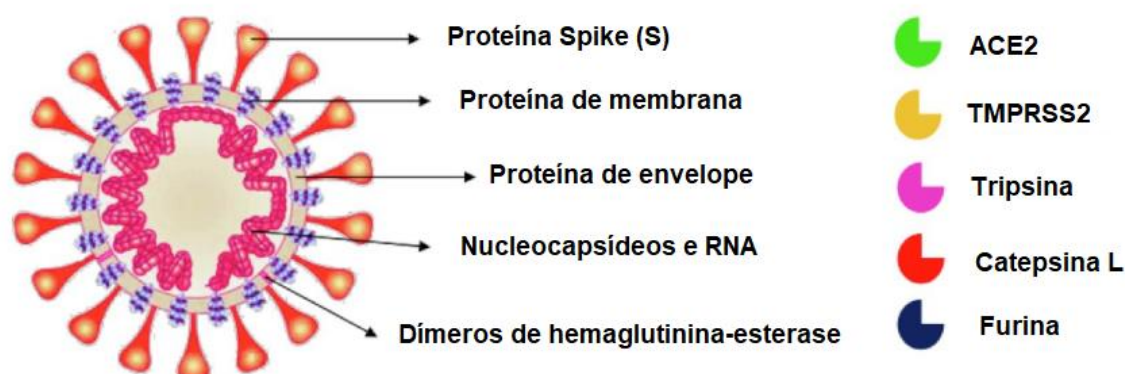
### 2.1.1 Patogenia do COVID-19

Os coronavírus são grandes vírus de RNA de fita simples, não segmentados, com polaridade positiva, envelopados, de aproximadamente 30 kb. O genoma do coronavírus codifica várias proteínas estruturais e não estruturais. A membrana (M), o envelope (E) e a proteína spike (S) constituem as proteínas estruturais (associadas ao envelope) e são responsáveis pela infecção do hospedeiro (fusão da membrana, montagem viral, morfogênese e liberação de partículas virais). As proteínas não estruturais facilitam a replicação viral e a transcrição (MALONE et al., 2021).

Nas diversas espécies de coronavírus a especificidade entre a região *Receptor Binding Domain* (RBD) da glicoproteína S e os receptores celulares é variável: o MERS-CoV interage com o Receptor Dipeptidil Peptidase (DPP4), enquanto o SARS-CoV e o atual vírus (SARS-CoV-2) ligam-se ao receptor ACE2. Notavelmente, a região RBD da glicoproteína S de SARS-CoV-2 possui uma afinidade entre 10 e 20 vezes maior com o receptor ACE2 que a de SARS-CoV (WRAPP et al., 2020).

A principal forma de transmissão do SARS-CoV-2 é através de gotículas respiratórias no ar ou por fômites, e o vírus tem como alvo principal as células que revestem o epitélio respiratório. Para entrar na célula hospedeira, a proteína *Spike* inclui duas subunidades, S1 e S2. S1 determina a fixação do vírus às células-alvo. Portanto, teoricamente, qualquer órgão com células que expressam a enzima conversora de angiotensina II (ACE2) é um alvo para infecção por SARS-CoV-2. Os mecanismos de fusão do vírus SARS-CoV-2 com o seu receptor ACE2 dependem de proteases proteolíticas, incluindo tripsina, catepsina L, furina e serina protease transmembrana 2 (TMPRSS2) (CRUZ et al., 2021; HOFFMANN et al., 2020). (vide figura 2)

Figura 2: Estrutura do SARS-CoV-2 e enzimas relacionadas a fusão do vírus SARS-CoV-2 com o seu receptor ACE2.



Fonte: Adaptado de Cruz et al. (2021)

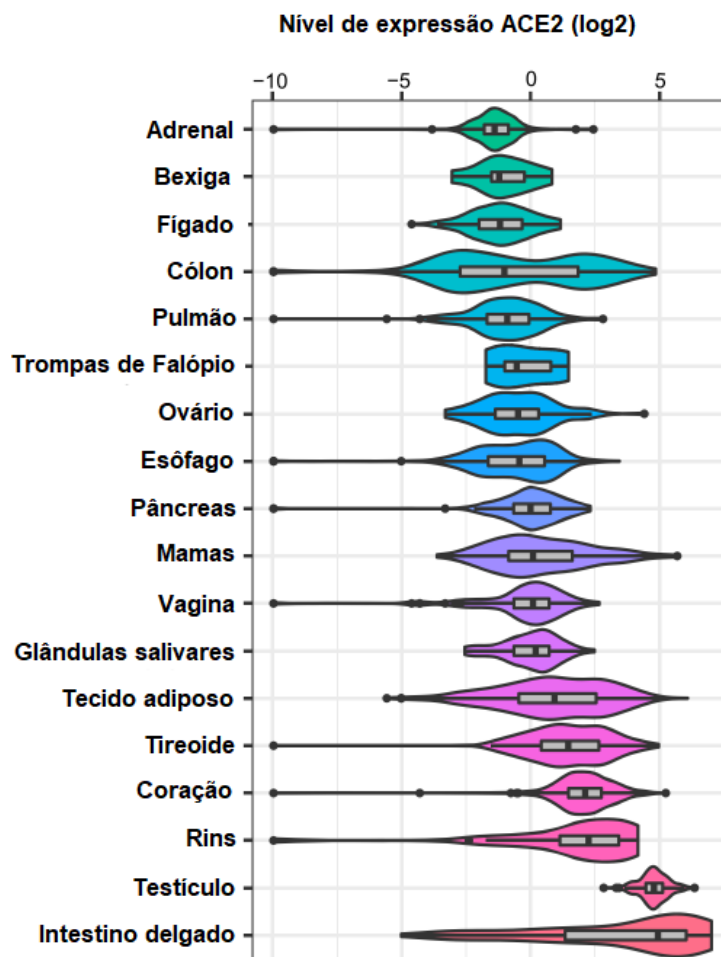
Li *et al* (2020) avaliaram níveis de expressão de ACE2 de 31 tecidos humanos normais do projeto *Genotype-Tissue Expression*. Entre os 31 tecidos humanos avaliados, o intestino delgado, testículos, rins, coração, tireoide e tecido adiposo tiveram os níveis de expressão de ACE2 mais elevados, enquanto sangue, baço, medula óssea, cérebro, vasos sanguíneos e músculos tiveram os níveis de expressão de ACE2 mais reduzidos. No estudo, também foram analisadas as correlações entre os níveis de expressão de ACE2 e os níveis de enriquecimento de assinaturas imunes [(células T CD8 +, resposta ao interferon, células B e células natural killer (NK)] em vários tecidos. Nos tecidos da tireoide, pulmões, adrenais, fígado e rins, os níveis de expressão de ACE2 mostraram correlações positivas significativas com os níveis de enriquecimento (células T CD8 +, interferon, células B e células NK) apenas em homens ( $0,20 < r < 0,68$ ) e em mulheres apenas nos tecidos da tireoide e pulmões, os níveis de expressão de ACE2 foram negativamente correlacionados com os níveis de enriquecimento de assinaturas imunes ( $r = -0,36$ ) (LI et al., 2020) (vide figura 3).

Em relação a idade, os níveis de expressão de ACE2 e os níveis de enriquecimento de assinatura imune nos pulmões e tireoide apresentaram correlação positiva e negativa ( $P < 0,01$ ) nos grupos mais velhos (idades  $> 49$  anos) e mais jovens (idades  $\leq 49$  anos), respectivamente. Dessa forma, os autores concluíram que as diferentes respostas imunes do hospedeiro à infecção por SARS-CoV-2 podem explicar parcialmente as diferenças já comprovadas relacionadas ao sexo e a idade do paciente, além de sinalizar os potenciais tecidos alvos que irão sofrer disfunção pelo novo vírus, incluindo o tecido tireoidiano, muscular e adiposo (LI et al., 2020).

Recentemente, Rotondi *et al* (2020) avaliando amostras cirúrgicas de tecido tireoidiano ( $n=15$ ) detectaram que o RNA mensageiro (mRNA) de ACE-2 é abundantemente expresso

pelas células da tireoide e concluíram que o tecido tireoidiano pode ser um alvo potencial para a entrada de SARS-COV-2 (ROTONDI et al., 2020).

**Figura 3** - Expressão Genótipo-Tecido de ACE2 (log2) em vários tecidos humanos.



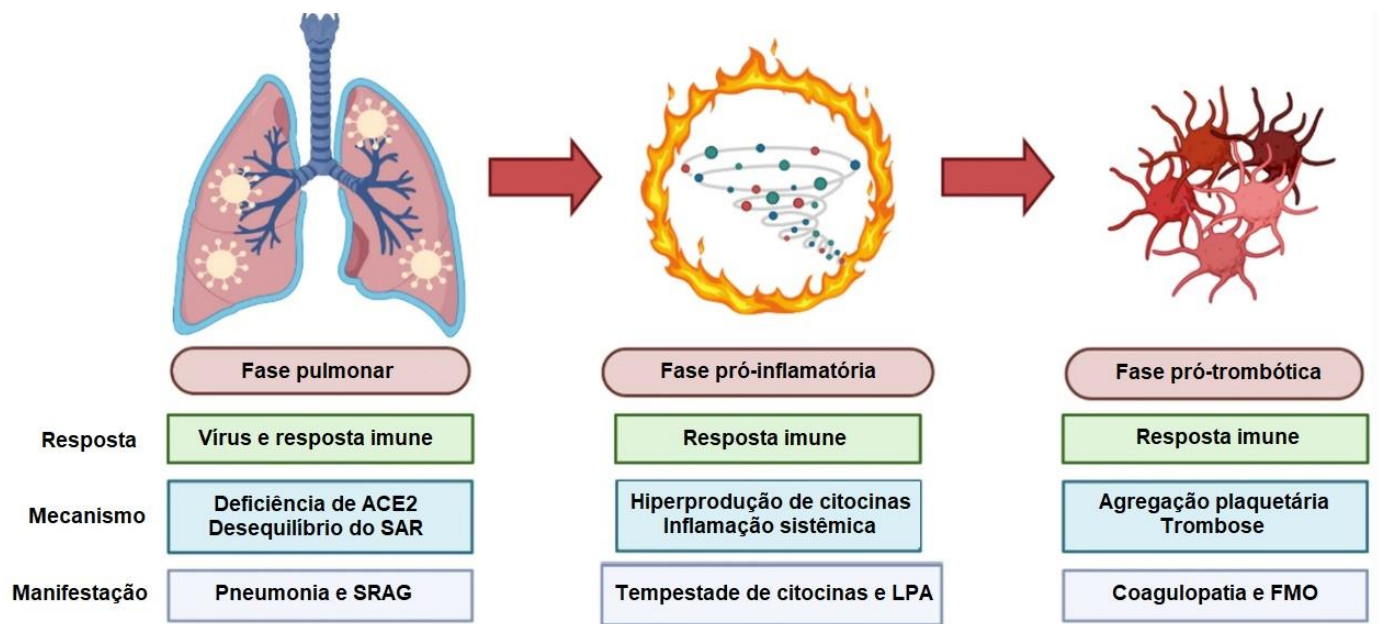
Fonte: Adaptado de Li *et al.* (2020)

É provável que a gravidade da doença seja uma combinação de lesão direta induzida pelo vírus e uma hiper resposta inflamatória do hospedeiro à infecção. Recentemente, uma revisão e metanálise constatou que a elevação de citocinas inflamatórias em pacientes com COVID-19 graves ou críticos, é consideravelmente mais baixa do que aquela relatada em pacientes com SDRA não relacionada a COVID-19. Entretanto, vários biomarcadores não citocinas relacionadas a inflamação crônica ou disfunção endotelial, incluindo D-dímero, PCR e ferritina, são elevados em uma extensão semelhante ou maior em pacientes com COVID-19 do que em pacientes com esses distúrbios de comparação. Modelos alternativos de disfunção orgânica em COVID-19, como endovascularite ou imunossupressão induzida pelo vírus já estão sendo avaliados pelos pesquisadores (LEISMAN et al., 2020).

A patogênese do COVID-19 atualmente vem sendo dividida em três fases: pulmonar, pró-inflamatória e pró-trombótica (vide figura 4). A fase pulmonar corresponde ao período de

infecção das células epiteliais alveolares, os pneumócitos do tipo 1 e 2, e essa fase é caracterizada pelo desequilíbrio do sistema renina-aldosterona (SRA), agravamento da deficiência de ACE2 e ativação da cascata da bradicinina no pulmão (LEE; CHOI, 2021).

**Figura 4:** As três fases da patogênese do COVID-19: pulmonar, pró-inflamatória e pró-trombótica. Padrões de resposta, mecanismos patogênicos e manifestações clínicas para cada fase são descritos.



Fonte: Adaptado de LEE; CHOI (2021).

O sistema renina-angiotensina (SRA) regula funções essenciais do organismo, como a manutenção da pressão arterial, o metabolismo dos íons sódio e potássio e o balanço hídrico. Nos últimos anos, um grande número de estudos experimentais mostram que a angiotensina II ao se ligar a receptores de angiotensina II tipo 1 (AT1) medeia inúmeros elementos-chave como a expressão de mediadores pró-inflamatórios (estimulando a produção de citocinas/quimiocinas); estimulação do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) que, por sua vez, aumenta a permeabilidade vascular; produção de espécies ativas de oxigênio (EROs); crescimento e apoptose celular; angio e fibrogênese; disfunção endotelial; migração, adesão e diferenciação de células do sistema imunológico; estimulação da expressão de moléculas de adesão endotelial: P-selectina, E-selectina, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1). E para finalizar, o SRA pode desempenhar um papel em várias vias de sinalização intracelular que levam à lesão tecidual

culminando em falência de órgãos (BENIGNI; CASSIS; REMUZZI, 2010; CORRÊA; TAKALA; JAKOB, 2015).

Por outro lado, a angiotensina II é, posteriormente, degradada em angiotensina 1–7 pela ação enzimática da ACE2 e outras proteases. A angiotensina 1–7 se liga ao receptor MAS (rMAS) e induz eventos fisiológicos que são essencialmente opostos aos induzidos pela ativação do AT1R. As respostas fisiológicas a essas vias ativadas incluem: vasodilatação; proteção contra hipertrofia e remodelação cardíaca; ação diurética e natriurética; ação anti-inflamatória; efeitos anti-trombogênicos, anti-fibrogênico, anti-oxidante e neuro protetor (MIKUSIC; PINEDA; GIRONACCI, 2021). A infecção contínua de células alvo do hospedeiro (principalmente pneumócitos do tipo 2) por SARS-CoV-2 promovem a regulação negativa dos receptores ACE2 por degradação intracelular, com subsequente deficiência crônica dos receptores ACE2 e, posteriormente, bloqueio da conversão de angiotensina II em angiotensina 1-7. Como resultado, a angiotensina II excessiva está constantemente disponível para hiperativação de AT1R (vide figura 4). Pacientes com hipertensão arterial, doença cardiovascular, obesidade e diabetes apresentam níveis basais reduzidos de expressão de ACE2, o que os tornam mais suscetíveis ao desequilíbrio do SAR mediado por SARS-CoV-2 (LEE; CHOI, 2021) (vide figura 4).

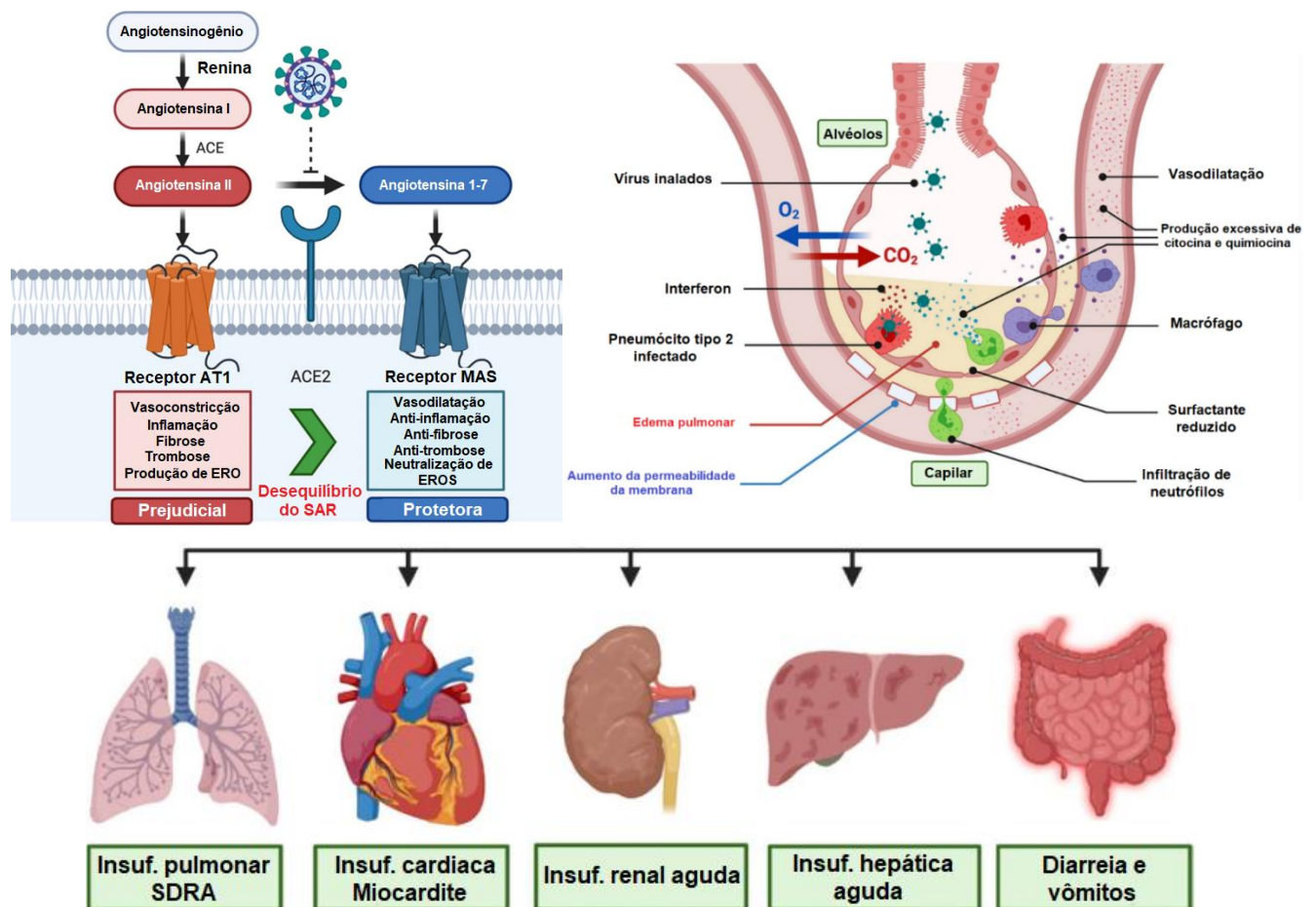
De acordo com amostras de biópsias coletadas dos pulmões de pacientes que evoluíram para o óbito por SARS-CoV-2, as principais células acometidas foram os pneumócitos tipo 2. O dano tecidual induzido pelo vírus e pelas próprias citocinas geradas na tempestade inflamatória promovem espessamento das paredes alveolares com lesão difusa bilateral; hiperproliferação de fibroblastos intersticiais; diminuição de surfactante alveolares que reduzem a tensão superficial pulmonar; acúmulo de exsudato celular proteico e aumento importante da permeabilidade da membrana das paredes capilares ao redor dos alvéolos infectados, resultando em edema pulmonar, descamação de pneumócitos, hipóxia e formação de membrana hialina, indicando SDRA (vide figura 4). Estudos também vêm demonstrando níveis aumentados de [des-Arg (9)] - bradicinina (DABK), um metabólito bioativo da bradicinina e um ligante potente do receptor bradicinina B1 no pulmão, que está relacionado à lesão pulmonar por permeabilidade capilar e angioedema (LEE; CHOI, 2021; ROCHE; ROCHE, 2020).

A segunda fase pró-inflamatória tem início com a ativação da imunidade inata através de possíveis padrões moleculares associados aos patógenos (PAMP) produzidos pelo SARS-CoV-2. Durante o ataque aos pneumócitos tipo 2 (considerados o alvo primário devido à sua superexpressão de ACE2), tem início a ativação de que geram uma cascata de sinalização para macrófagos alveolares, células epiteliais pulmonares e células dendríticas, que são células com

grande potencial para produzirem citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (LEE; CHOI, 2021; RICO-MESA; WHITE; ANDERSON, 2020).

A tempestade de citocinas ou hipercitocinemia associada a infecção pelo SARS-CoV-2 assemelha-se à síndrome de ativação macrofágica (SAM). A SAM é um estado de hipercitocinemia sistêmica (especialmente TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6 e IL-1 $\beta$ ) e costuma ser observada em pacientes com infecções, malignidades ou doenças reumatológicas. No caso do COVID-19 a superprodução de citocinas induz efeitos extrapulmonares clinicamente relevantes em vários órgãos importantes, como coração (miocardite e coronariopatia), rins (distúrbios hidroeletrólíticos e insuficiência renal aguda), fígado (hepatite, inclusive fulminante) e intestinos (dor abdominal, colite, diarreia e vômitos) (LEE; CHOI, 2021; MELQUIST et al., 2020) (vide figura 5).

**Figura 5:** Fase pulmonar e pró-inflamatória da patogênese do COVID-19 –



Fonte: Adaptado de Lee & Choi (2021).

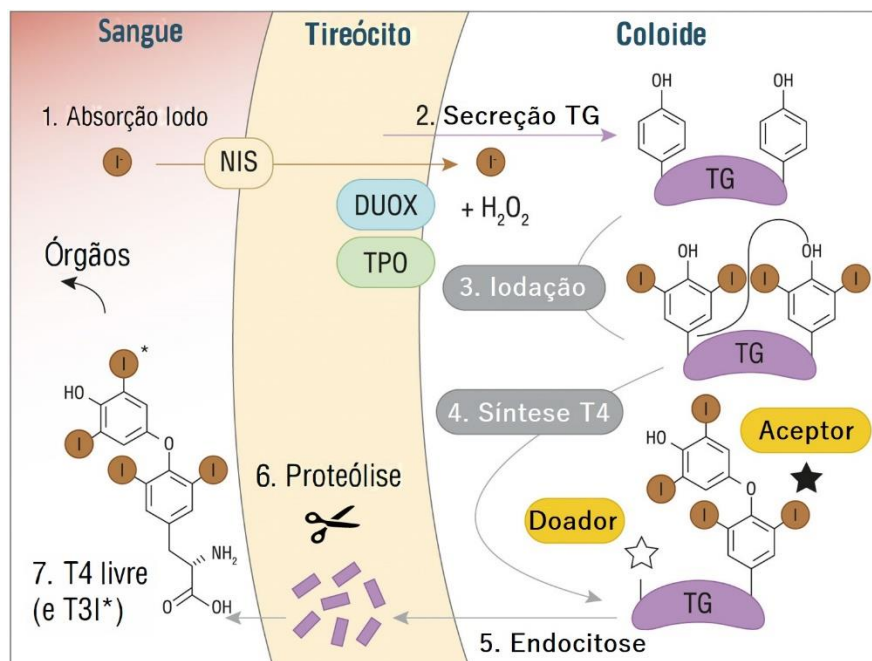
## 2.2 Tireoide e COVID-19

### 2.2.1 Função Tireoidiana

Os hormônios tireoidianos são importantes na termorregulação, gasto de energia e metabolismo celular, mas também afetam diretamente os sistemas cardiovascular e imunológico. A produção de hormônio tireoidiano é um processo complexo, que consiste na absorção do íon iodeto pelo simportador sódio-iodo (NIS), do plasma para as células foliculares da tireoide (tireócitos); efluxo de iodeto no lúmen folicular; ligação e organificação do iodeto ao aminoácido tirosina, que compõem a proteína tireoglobulina; oxidação e fixação (pelas enzimas tireoperoxidase e o peróxido de hidrogênio) do iodeto ao aminoácido tirosina para formar moniodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT); acoplamento oxidativo das iodotirosinas para formar o T3 e T4; e a secreção dos hormônios tireoidianos na circulação periférica (figura 6).

**Figura 6** - Síntese de T4 (ou T3) a partir da tireoglobulina (TG) na glândula tireoide.

Fonte: Adaptado de BENVENGA et al. (2021).



Uma vez na circulação, os hormônios T3 e T4 são transportados por várias proteínas de ligação sintetizadas no fígado, como a albumina, transtirretina e principalmente a globulina ligadora de tiroxina (TBG), a qual possui maior afinidade para os hormônios T3 e T4 (superior a 98%). O hormônio bioativo e que irá agir no meio intracelular é o hormônio T3, que é derivado da conversão intracelular do T4 livre por desiodação do anel externo da molécula do

T4 pela enzima iodotironina desiodase. As meias-vidas da circulação dos hormônios T4 e T3 são 5 a 8 dias e 1,3 a 3 dias, respectivamente. Após a sua entrada nas células dos tecidos periféricos, o hormônio T3 liga-se a receptores nucleares e assim estimulam uma ampla variedade de processos metabólicos, como o crescimento celular, controlam o balanço energético, promovem a lipólise e a lipogênese, o controle e manutenção da frequência cardíaca, respiratória e a temperatura corporal. Os hormônios tireoidianos regulam o metabolismo principalmente por meio de ações no cérebro, gordura branca e marrom, músculo esquelético, fígado e pâncreas (MULLUR; LIU; BRENT, 2014).

O T4 corresponde a principal forma do hormônio secretada pela glândula tireoide (aproximadamente 80%) e uma menor quantidade é secretada na forma de T3 (a forma ativa do hormônio) que ao se ligar ao seu receptor nuclear exercerá todas as funções biológicas dos hormônios tireoidianos. A conversão periférica de T4 em T3, catalisada pela enzima desiodase, é responsável por aproximadamente 80% do T3 produzido em humanos. As enzimas iodotironinas desiodase (DIO) formam uma família de selenoenzimas que apresentam propriedades catalíticas distintas, que podem ativar ou desativar os hormônios tireoidianos e são caracterizadas em três isoformas: desiodase tipo I (DIO1), desiodase tipo II (DIO2) e desiodase tipo III (DIO3).

### **2.2.2 Disfunção Tireoidiana e COVID-19**

Em novembro de 2002, na província de *Guangdong* - China, eclodiu uma síndrome respiratória aguda grave e infecciosa causada também pelo coronavírus (SARS-CoV), seguida pela rápida disseminação dessa doença para outras partes da China, outros países asiáticos e o resto do mundo. Na oportunidade, um número substancial de pacientes com SARS-CoV apresentou anormalidades na produção de hormônios tireoidianos com diminuição nos níveis séricos de triiodotironina (T3) total, tiroxina (T4) total, hormônio estimulador da tireoide (TSH) e calcitonina, sugerindo disfunção das células foliculares e parafoliculares (WANG; YE; YAO, 2003).

Wei *et al* (2007) avaliaram 5 amostras de tireoide obtidas de autópsias em quatro homens e uma mulher com SARS-Cov, e demonstraram que o tecido tireoidiano foi significativamente afetado pela doença, com lesões extensas nas células epiteliais foliculares e parafoliculares. O mecanismo proposto no artigo para a destruição celular foi uma extensa apoptose das células foliculares e das regiões interfoliculares, observado através do método

TUNEL (usado para detectar a fragmentação do Ácido desoxirribonucleico (DNA) resultante de cascatas de sinalização apoptóticas) (WEI et al., 2007).

No início da pandemia na China, em um estudo retrospectivo (entre janeiro e março de 2020), foram examinados os prontuários de 50 pacientes internados no Hospital Universitário de *Zhejiang*, com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 através da transcrição reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) quantitativa de amostras do trato respiratório. No estudo, 32 pacientes (64%) apresentaram alterações nos níveis dos hormônios tireoidianos, sendo que os níveis séricos de TSH estavam abaixo dos valores normais em 28 pacientes (56%). Além disso, a gravidade da COVID-19 foi inversamente correlacionada com os níveis de TSH e T3 total ( $p < 0,001$ ). Entretanto, o estudo apresentou limitações devido ao pequeno tamanho da amostra e a não avaliação dos níveis de T3 livre, T4 livre e T3 reverso na admissão dos pacientes, principais exames para avaliar e excluir a NTIS. Os autores do estudo formularam duas hipóteses para explicar a diminuição do TSH e T3 total nos pacientes mais graves. A primeira hipótese seria um efeito direto do vírus nas células hipofisárias secretoras de TSH, baseado em outros estudos envolvendo o primeiro SARS-CoV, e a segunda hipótese seria por alterações sistêmicas mediadas indiretamente pela ativação de citocinas pró-inflamatórias, pelo estresse hipóxico crônico ou pelo tratamento de pacientes com altas doses de glicocorticoides (CHEN; ZHOU; XU, 2020).

Em março de 2020, foi descrito o primeiro caso de tireoidite subaguda (TSA) na Itália em uma mulher jovem (18 anos de idade) após uma infecção por SARS-CoV-2. TSA é uma doença inflamatória da tireoide autolimitada, caracterizada por dor cervical, mal-estar geral, febre baixa e disfunção dos hormônios tireoidianos, que evolui em um curso trifásico (tireotoxicose, hipotireoidismo e eutireoidismo) com duração variável de 8 a 12 semanas (BRANCATELLA et al., 2020).

Em uma revisão sistemática recente (19 artigos), entre 21 de maio de 2020 a 14 de abril de 2021, os autores incluíram 27 casos de TSA em pacientes diagnosticados com COVID-19. As principais características demográficas e clínicas foram: a maioria dos pacientes eram do sexo feminino (74,1%); a idade variou entre 18 a 69 anos (mediana 37,5, IQR 33–46); apenas 3 casos (11%) foram hospitalizados. Os principais sinais e sintomas da TSA foram: cervicalgia (92,6%), astenia (85,2%), palpitações (81,5%) e febre (74,1%). E os achados dos exames da função tireoidiana (mediana, IQR) foram: TSH (0,01 mU/l, IQR 0,008-0,07); T4 livre (27,2 pmol/l, IQR 22,4-31,1); T3 livre (10,79 pmol/l, IQR 8,5–19,1). Marcadores de inflamação específicos do TSA, como PCR e VHS, estavam elevados em 24/25 pacientes (96%). A ultrassonografia de tireoide foi realizada em 24 pacientes e as características típicas do TSA

(áreas hipocogênicas irregulares com vascularização reduzida) foram observadas em 20 deles. A maioria dos pacientes apresentaram resolução completa dos sintomas e da tireotoxicose após uso da corticoterapia (TRIMBOLI et al., 2021).

Mais recentemente, em estudo também retrospectivo (entre 1º de março e 1º de abril de 2020) na cidade de Nova York, os prontuários médicos de 3703 pacientes que tiveram COVID-19 (RT-PCR para SARS-CoV-2 positivo) foram revisados para o diagnóstico de hipotireoidismo. Na amostra, 251 pacientes (6,8%) tinham hipotireoidismo pré-existente e desses, 68,1% necessitaram de hospitalização. Entretanto, o diagnóstico de hipotireoidismo não foi associado ao aumento do risco de hospitalização [OR: 1,23 (IC 95%): 0,88-1,70)], ventilação mecânica [Razão de chances (OR): 1,17 Intervalo de confiança (IC) 95%: 0,81-1,69)] e morte [OR: 1,07 (IC 95%): 0,75-1,54)]. Assim sendo, o estudo concluiu que o hipotireoidismo não é um fator de risco desfavorável em pacientes com COVID-19 (JONKLAAS et al., 2020).

Em estudo realizado na Itália, após exclusão de distúrbios da tireoide pré-existentes, 85 pacientes críticos com diagnóstico de COVID-19 admitidos na UTI (grupo UTI-20) tiveram a sua função tireoidiana avaliada e comparada com a de 78 pacientes internados na mesma UTI em 2019 por outras patologias (grupo UTI-19). No estudo, foram incluídos 41 pacientes com COVID-19 que foram admitidos nas enfermarias (grupo NUTI-20). Na avaliação, 15% dos pacientes no grupo UTI-20 apresentaram tireotoxicose (definido com níveis de TSH  $<0,28$  mIU/L e/ou T4 livre  $>21,9$  pmol/L), e isso foi encontrado em apenas 1% e 2% dos pacientes nos grupos UTI-19 e NUTI-20, respectivamente ( $P < 0,001$ ). Além disso, os pacientes do grupo UTI-20 apresentaram níveis de TSH mais baixos do que os pacientes dos grupos UTI-19 e UCTI-20 [1,04 mIU/L (0,47 – 1,80) vs 1,43 (0,88 – 2,37) vs 1,43 (0,71 – 2,28);  $p = 0,018$ ]. As concentrações médias de T4 livre foram maiores no grupo UTI-20 ( $18,7 \pm 5,4$  pmol/L) do que no grupo NUTI-20 ( $13,5 \pm 4,6$ ;  $p = 0,016$ ), mas não em relação ao grupo UTI-19 ( $16,2 \pm 2,4$  pmol/L;  $p = 0,38$ ). Não houve diferença significativa entre as concentrações de T3 livre dos três grupos e esses pacientes apresentavam quadro clínico mais compatível com tireoidite subaguda silenciosa (linfopenia e sem queixas de cervicalgia) (MULLER et al., 2020).

A conclusão do estudo foi que uma proporção substancial de pacientes com COVID-19 em estado crítico, que requerem cuidados de UTI, apresentaram tireotoxicose, possivelmente como consequência de uma TSA silenciosa induzida por SARS-CoV-2, em uma condição subjacente a NTIS. Dessa forma, os autores nomearam essa nova situação como TSA atípica relacionada ao SARS-CoV-2, sugerindo a avaliação de rotina da função tireoidiana em pacientes com COVID-19 durante o internamento hospitalar (MULLER et al., 2020).

Após o estudo de Muller, 2020, foram publicados mais 5 estudos retrospectivos que avaliaram 800 pacientes (vide tabela 1). O estudo com o maior número de pacientes (287 pacientes), os autores demonstraram associação da tireotóxicos com níveis mais elevados da IL-6, entretanto sem relação com a mortalidade e a gravidade por COVID-19 intra-hospitalar (LANIA et al., 2020).

Até o presente momento, apenas 4 estudos prospectivos (total de 1066 pacientes) foram publicados. E desses apenas 2 estudos investigaram prospectivamente a hipótese de que os níveis séricos de hormônios tireoidianos (HT) podem servir como biomarcadores de prognóstico para pacientes com COVID-19 hospitalizados (vide tabela 2). Em um estudo realizado na China com 367 pacientes hospitalizados com COVID-19 leve a moderado, pesquisadores avaliaram a função tireoidiana (TSH, T3L, T4L) e identificaram que 16,9% dos pacientes apresentavam teste anormais. A prevalência de NTIS foi identificada em 27 (7,4%) pacientes, embora 75,2% apresentassem a doença leve (LUI et al., 2021). Mais recentemente, um estudo longitudinal italiano, avaliou 115 pacientes com COVID-19 internados exclusivamente em UTI. No estudo, a mortalidade foi de 31,3% e aproximadamente 9% dos pacientes apresentavam NTIS (T3L <1,9 pmol/L) que, por sua vez, foi associado com níveis elevados de PCR e gravidade da doença (CAMPI et al., 2021). Por fim, em um estudo publicado na Inglaterra, foram avaliados os níveis de TSH e T4L de 334 pacientes com COVID-19 hospitalizados (não foram dosados T3L) e foram constatados que 18 (5,4%) pacientes apresentaram tireotoxicose. Nesse estudo, a função tireoidiana foi comparada com um grupo controle (pacientes sem COVID-19) e os níveis de TSH e T4L se apresentaram significativamente mais baixos do que no grupo controle. As alterações dos HT não tiveram relação com a gravidade e a mortalidade intra-hospitalar (KHOO et al., 2021).

Tabela 1. Estudos retrospectivos com pacientes com COVID-19 que analisam a função tireoidiana na admissão:

Autor,	Número de pacientes	Comorbidade	Gravidade	Função tireoidiana	Hipertireoidismo n (%)	Principais achados estatísticos
Local	Homens n (%) - idade	Tempo de internação	Mortalidade	Marcadores inflamatórios	NTIS (definição) n (%)	Limitações
Gao e al 2020	100	Não mencionado	Moderado 34% Grave 66%	TSH, T3L, T4L	24 (24%)	Os dois quartis inferiores (versus superiores) de T3L foram associados a todas as causas de mortalidade (IC 95%) de 9,23 (2,01-42,28)
China	52 (52%) 66,1 ± 16 anos	14 dias ± 6	22/100 (22%)	PCR, D-dimero, IL-6, TNF-alfa, NT-proBNP	T3L <3,1 pmol/L - 28% (28/100)	Número de paciente reduzidos e casuística com pacientes mais críticos
Lania e al 2020	287	Hipertensão (49.5%) Diabetes (24.4%) DCV (14.3%) DPOC (12.2%)	Críticos 100% (UTI)	TSH, T3L, T4L	58 (20.2%)	Na análise multivariada, a tireotoxicose estava associada com maiores níveis de IL-6 (odds ratio: 3,25, intervalo de confiança de 95%: 1,97-5,36; P <0,001),
Itália	193 (67.2%) 66 (27-92)	Não mencionado	60/287 (21.4%)	IL-6	Não mencionado	Número de paciente apenas internados na UTI e com altas doses de heparina
Chen et al 2021	50	Não mencionado	Moderado 30% Grave 46% Críticos 24%	TSH, T3L, T4L	28 (56%)	Quanto mais grave o COVID-19, menores eram os níveis de TSH e TT3 (p <0,001).
China	33/50 (66%) 48,4 ± 13,7 anos	Não mencionado	0/50 (0%)	Albumina	Não mencionado	Número de paciente bastante reduzidos
Lang et al 2021	127	Hipertensão (41.7%) Diabetes (21,3%) DCV (10.2%) DPOC (10.2%)	Moderado 44.1% Grave 42.5% Críticos 13.4%	TSH, T3L, T4L	Não mencionado	Pacientes com T3L baixo (<3,1 pmol) tiveram maior risco de morte (OR ajustado 13.2, IC 95% 3.87-55, p < 0,001).
China	62 (48.8%) 66 (53-71) anos	Não mencionado	11/127 (8.6%)	PCR, D-dimero, IL-6.	T3L <3,1 pmol/L - 16,5% (21/127)	Número de paciente reduzidos e a interferências do uso de corticoides no tratamento do COVID-19.
Dutta et al 2021	236	Hipertensão (43.2%) Diabetes (50.4%) Hipotireoidismo (18%) DCV (8%)	Moderado 94.1% Grave 5.9%	TSH, T3L, T4L	9 (3,8%)	A análise de regressão de Cox mostrou que FT3 baixo foi associado a COVID-19 grave (P = 0,032, HR 0,302; CI 0,101-0,904).
India	159/236 (6%) 54 (15-91) anos	8 dias (1-44)	11/236 (4.7%)	PCR, D-dimero, IL-6, ferritina, DHL.	T3L <2,6 pg/mL - 23,7% (56/236)	A maioria dos pacientes com doença moderada.

Tabela 2. Estudos prospectivos com pacientes com COVID-19 que analisam a função tireoidiana na admissão:

Autor,	Número de pacientes	Comorbidade	Gravidade	Função tireoidiana	Hipertireoidismo n (%)	Principais achados estatísticos
Local	Homens n (%) – idade	Tempo de internação	Mortalidade	Marcadores inflamatórios	NTIS (definição) n (%)	Limitações
(Campi et al., 2020)	115	Hipertensão (64%) Diabetes (17,5%) Cardiopatia (6,3%) AVC (4,2%) DPOC (3,1%)	Grave 100% (UTI)	TSH, T3L, T4L, Tg anti-Tg	12 (10,4%) na admissão 27 (23,5%) durante a hospitalização	Na análise univariada, os preditores de mortalidade foram: T3L baixo (P <0,0001) e T4L baixo (P = 0,01).
Itália	97/144 (67%) 68,1 ± 14 anos	21 ± 19 dias	36/115 (31,3%)	PCR, Cortisol	T3L <1,9 pmol / L 20/115 (9%)	Ausência de um grupo controle.
(Lui et al., 2021)	367	Hipertensão (24,3%) Diabetes (16,3%) DCV (5,4%) AVC (2,7%) DPOC (3,5%)	Leve 75,2% Moderado 21% Grave 3,8%	TSH, T3L, T4L	30 (8,2%)	Pacientes com NTIS tiveram maior risco de morte – (OR ajustado 3,18, IC 95% 1,23–8,25, p = 0,017),
China	172 (46,9%) 54 ± 15 anos	8 dias (IQR 6-13).	4/367 (1 %)	PCR, CPK, TGP, DHL	T3L <2,1 pmol / L 27/367 (7,4%)	Pacientes com COVID-19 predominantemente leve a moderado.
(Güven et al., 2021)	250	Não mencionado	Moderado 50% Grave 50%	TSH, T4L	23 (9,2%)	O nível de T3L mostrou uma correlação negativa com o tempo de internação e a PCR (r = -0,216, p=0,001; r = -0,383, P<0,0001).
Turquia	157 (63%) 68 (54-78)	9 dias (IQR 5-15).	38/250 (15,2%)	PCR, D-dímero, ferritina	T3L <2,0 pg/mL 32/250 (13%)	Número de paciente reduzidos e foram excluídos pacientes diabéticos e nefropatas.
(Khoo et al., 2021)	334	Hipertensão (48,5%) Diabetes (39,5%) DCV (23,7%) DPOC (17,4%) DRC (13,2%)	Moderado 89,3% Grave 10,7%	TSH, T4L	18 (5,4%)	Pacientes com COVID-19 tiveram TSH (1,03 mU/L) e T4L (12,60 pmol/L) mais baixo do que os pacientes sem COVID-19: TSH (1,48 mU/L, P = 0,01) e T4L (13,11 pmol/L, P = 0,01).
Inglaterra	203 (60,8%) 66,1 ± 16 anos	8 dias (IQR 6-11).	78/289 (26%)	PCR, cortisol, albumina	Não avaliado	Não foram dosados T3 livre e dessa forma, não analisaram os pacientes com NTIS

### 2.2.3 A Síndrome do Eutireoideo Doente e COVID-19

A NTIS, também conhecida como síndrome do T3 baixo ou síndrome da doença não tireoidiana não é uma síndrome verdadeira, mas apresenta alterações nos testes de função tireoidiana em uma variedade de situações clínicas que comumente incluem concentrações séricas de T3 e T4 baixas, T3 reverso (T3r) elevado e TSH normal ou elevado no período de recuperação da doença de base. Essas alterações hormonais podem ser observadas em até 75% dos pacientes em estado crítico hospitalizados, principalmente em centros de terapia intensivo e apresentam correlação com mortalidade hospitalar. (VAN DEN BERGHE, 2014).

A NTIS pode ocorrer em resposta adaptativa ao jejum (redução do gasto de energia para limitar o catabolismo) em indivíduos saudáveis. A redução da disponibilidade do hormônio tireoidiano T3 ativo no jejum compreende várias alterações, entre as quais a supressão imediata da DIO1 e o aumento da atividade da DIO3, com diminuição da conversão periférica de T4 em T3 e aumento da concentração de T3r, respectivamente. Na tentativa de sobrevivência a doenças potencialmente críticas, as modificações nos eixos endócrinos, incluindo o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, são parte de uma resposta neuroendócrina que altera o equilíbrio entre anabolismo e catabolismo. Após estresse agudo, como cirurgias de grande porte, grandes queimados, infarto agudo do miocárdio e estado de choque, as concentrações séricas de T3 diminuem rapidamente (em menos de 2 horas) e à medida que a gravidade da doença progride, a queda nos níveis é intensificada. Dessa forma as anormalidades da função tireoidiana se correlacionam com a gravidade da doença e, conseqüentemente, está associada ao prognóstico (NETO; ZANTUT-WITTMANN, 2016; VAN DEN BERGHE, 2014).

Vários estudos clínicos realizados nos últimos 20 anos mostraram uma associação clara entre as várias citocinas pró-inflamatórias e as alterações no metabolismo dos hormônios tireoidianos. Nas doenças críticas, que incluem um componente substancial de hipóxia ou isquemia associado a um estado de hiper inflamação, os estudos mostram um grande aumento no catabolismo dos hormônios tireoidianos por meio da indução da DIO3. As principais citocinas pró inflamatórias relacionadas a NTIS são a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina (IL) 6 e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (FLIERS; BIANCO; BOELEN, 2015).

Como foi mencionado anteriormente a prevalência da NTIS é elevada em pacientes hospitalizados e críticos, porem a presença de NTIS foi relatada em uma variedade de situações clinicas de gravidade leve e não hospitalar (vide tabela 2). O que chama atenção nesses casos atípicos seria em relação com as doenças virais graves. Grunfel *et al.* (1993) avaliaram a função tireoidiana de 38 pacientes com diagnóstico de vírus da imunodeficiência humana (HIV) e

compararam com 15 indivíduos saudáveis (controle). Os pacientes infectados pelo HIV mostraram níveis reduzidos de T3r e T3l em relação ao controle ( $13 \pm 1.2$  vs  $26 \pm 1.9$  ng/dL;  $P < 0.0001$ ) e LoPresti *et al* (1989) em estudo com pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA) e pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* concluíram que o avanço da infecção por HIV é acompanhado por diminuição progressiva nos níveis de T3r, e a elevação na globulina de ligação da tiroxina e níveis baixos de T3 sérico na admissão se correlacionam com a mortalidade intra-hospitalar. Entretanto, os mecanismos responsáveis pelas alterações na função tireoidiana são desconhecidos, os autores citados anteriormente especulam que o sistema imunológico possa ter uma influência regulatória no metabolismo dos hormônios tireoidianos, principalmente nas exacerbações agudas. Esse modelo de NTIS com redução concomitantemente dos níveis de T3l e T3r não foi visto em outras doenças graves (GRUNFELD *et al.*, 1993; LOPRESTI *et al.*, 1989).

**Tabela 3:** Resumo das anormalidades do hormônio tireoidiano encontradas em pacientes não críticos - Adaptado

	T3 total	T3 livre	T3 reverso	T4 total	T4 livre	TSH
<b>Privação calórica</b>	↓	↓	↑	↓	↔	↔ ou ↓
<b>Insuficiência cardíaca</b>	↓	↓	↔ ou ↑	↔ ou ↓	↔	↔ ou ↓
<b>SIDA</b>	↔	↔ ou ↓	↔ ou ↓	↔	↔ ou ↓	↔
<b>Doenças renais</b>	↓	↔	↔	↔ ou ↓	↔ ou ↑	↔
<b>Doenças hepáticas</b>	↔ ou ↑	↓	↔ ou ↑	↑	↔ ou ↓	↔
<b>Diabetes mellitus</b>	↓	↓	↔ ou ↑	↓	↔ ou ↑	↔
<b>Doenças psiquiátricas</b>	↑	↔ ou ↑	↔	↑	↔ ou ↑	↑

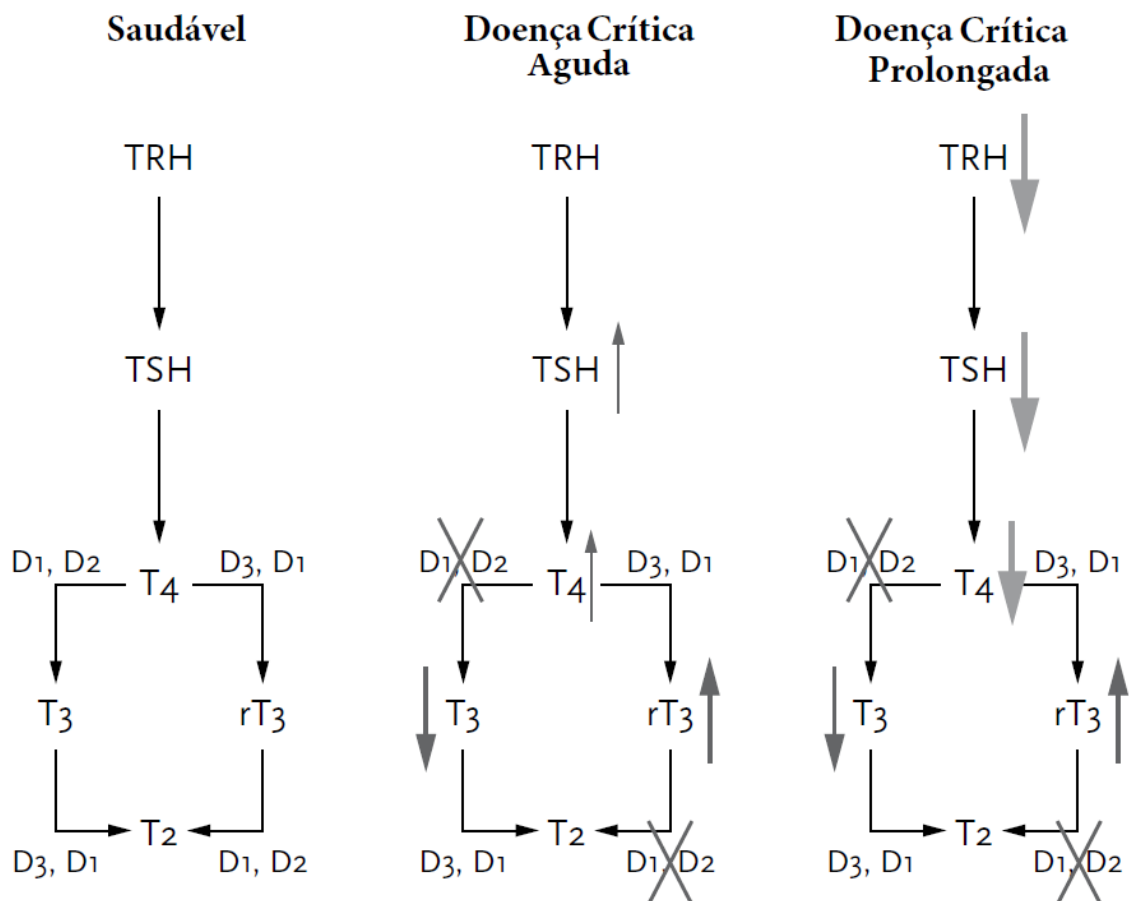
↔: normal; ↑: aumentado; ↓: diminuiu.

As principais anormalidades laboratoriais da NTIS mostram duas fases temporais distintas. Na primeira fase (doença crítica aguda), predominam as modificações agudas no metabolismo dos hormônios tireoidianos periféricos, caracterizadas por um declínio acentuado na quantidade circulante de T3, com aumento concomitante das concentrações plasmáticas de rT3. O TSH e o T4 plasmático aumentam transitoriamente apenas nas primeiras horas da doença crítica, enquanto as concentrações plasmáticas de T3 podem já estar baixas e as concentrações de rT3 altas, devido a alterações agudas no metabolismo periférico dos

hormônios tireoidianos (vide figura 7) (NETO; ZANTUT-WITTMANN, 2016; VAN DEN BERGHE, 2014).

Na segunda fase (doença crítica prolongada), ocorre a supressão hipotalâmica e hipofisária do TRH e TSH com diminuição nos níveis de T3 e T4. Os fatores que desencadeiam a supressão hipotalâmica durante a doença crítica prolongada são pouco conhecidos e, após a recuperação da NTIS, os resultados desses testes da função tireoidiana devem retornar ao normal (vide figura 7). Em pacientes com doenças não críticas predominam as anormalidades periféricas na conversão hormonal. (NETO; ZANTUT-WITTMANN, 2016; VAN DEN BERGHE, 2014).

**Figura 7:** Esquemas das alterações nos hormônios da tireoide e desidases em indivíduos saudáveis e em pacientes com doença crítica aguda e prolongada.



Fonte: Adaptado de MEBIS; VAN DEN BERGHE (2011).

Ainda é controverso se as mudanças nos níveis do hormônio tireoidiano na NTIS em pacientes críticos é um processo de resposta adaptativa ou mal adaptativa a doença de base. Até o momento, não temos uma definição consensual no diagnóstico da NTIS. A maioria dos autores que publicam sobre o assunto usam como critérios para diagnóstico de NTIS os níveis séricos de T3l abaixo do valor de referência e níveis de TSH na faixa normal ou baixa, dessa forma diferenciando do hipotireoidismo primário e central (vide tabela x) (MEBIS; VAN DEN BERGHE, 2011).

**Tabela 4:** Alterações nos parâmetros dos hormônios tireoidianos no hipotireoidismo primário central e NTIS:

	<b>Hipotireoidismo Primário</b>	<b>Hipotireoidismo Central</b>	<b>NTIS</b>
<b>T4</b>	↓	↓	⇔ ou ↓
<b>T3</b>	⇔ ou ↓	⇔ ou ↓	↓
<b>T3r</b>	⇔ ou ↓	⇔ ou ↓	⇔ ou ↑
<b>TSH</b>	↑	⇔ ou ↓	⇔ ou ↓

Poucos estudos publicados avaliaram a NTIS em pacientes críticos hospitalizados com COVID-19. Em estudo retrospectivo realizado no epicentro inicial da doença, cidade de *Wuhan*, China (entre 8 de fevereiro e de 8 de março de 2020), 100 pacientes com diagnóstico de pneumonia por COVID-19 foram acompanhados em relação a função tireoidiana. Os resultados do estudo demonstraram que a concentração de T3 livre foi significativamente mais baixa em pacientes com COVID-19 grave do que em pacientes não graves. Pacientes com níveis de T3 livre menor que 3,1 pmol/L apresentaram uma razão de risco (RR) para mortalidade por todas as causas de 3,1 e, após ajuste para idade, sexo, duração dos sintomas da COVID-19, saturação de oxigênio no sangue e PCR, a RR foi de 9,23 (2,01 - 42,28). Na conclusão do estudo, os autores propuseram que a NTIS poderia ser a principal causa da diminuição dos níveis de T3 livre nos pacientes graves e a hiper resposta inflamatória em pacientes com COVID-19 poderia ser o principal substrato para o desenvolvimento da NTIS, apesar do estudo não encontrar relação entre os níveis de T3 livre com a os níveis de PCR, IL-6 e TNF- $\alpha$  (GAO et al., 2020).

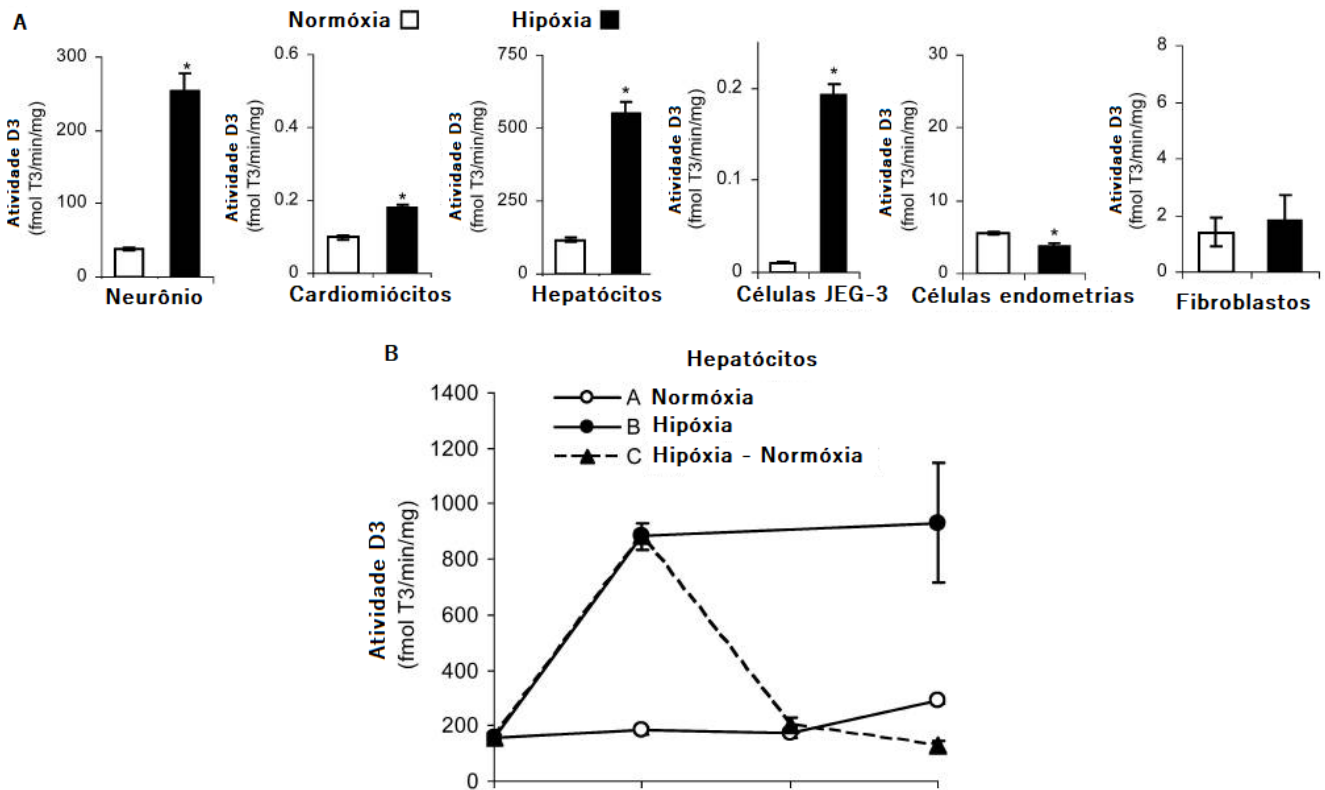
Zou *et al.* (2020), em estudo retrospectivo, avaliaram os níveis de T3 livre e TSH na admissão hospitalar de 149 pacientes internados em hospital público, na cidade de Changsha, China, entre 17 de janeiro e 14 de março de 2020. Os critérios para diagnóstico de NTIS foram os níveis séricos de T3l <2,3 pg / ml com TSH normal ou baixo. Dessa forma, 41 (27,52%)

pacientes com COVID-19 foram diagnosticados com NTIS e na avaliação estatística por análise de regressão foi demonstrada associação significativa com a gravidade da doença (OR = 2,515, IC de 95%: 1,050–6,026, P = 0,039). Além disso, os níveis de velocidade de hemossedimentação (VHS) (66,5 vs 35 mm/h, P<0,001) e PCR (38,99 vs 11,26 mg/L, P <0,001) foram significativamente maiores, enquanto a contagem de linfócitos (0,91 vs  $1,27 \times 10^9/L$ , P <0,001) e os níveis de procalcitonina (22 vs 32 ng/L, P=0,006) foram aparentemente menores em pacientes com NTIS em relação a pacientes sem NTIS. No entanto o estudo apresentou algumas limitações, a principal foi a não avaliação dos níveis séricos de T3 reverso e T4 livre (ZOU et al., 2020). Recentemente, estudo conduzido na China avaliou 79 pacientes graves internados em CTI com doenças agudas e sem história prévia de doença tireoidiana e encontraram correlação negativa dos níveis IL-10 com os níveis de T3I ( $r = -0,290$  p = 0,010) e albumina ( $r = -0,416$  p = 0,0001) (QUISPE; LI; YI, 2016).

A hipóxia é uma característica fisiopatológica primária sendo a principal causa de mortalidade em pacientes com COVID-19 grave e acompanha todos os estágios da doença. As lesões pulmonares induzidas pelo SARS-CoV-2 promovem um estado de hipóxia aguda, que ativa o fator induzível por hipóxia alfa (HIF-1 $\alpha$ ), este último exacerba a produção de citocinas pró-inflamatórias e a ativação de macrófagos, células dendríticas e neutrófilos, causando a liberação de EROs e proteases, aumentando assim a probabilidade da tempestade de citocinas (ABDELMASSIH et al., 2020).

Os HT são determinantes críticos do metabolismo celular e nos últimos anos, estudos vêm relacionando a hipóxia com a ação da DIO3, principal enzima responsável pela inativação dos HTs em T3 reverso, como uma resposta adaptativa fisiológica para limitar lesões hipóxico-isquêmicas em tecidos de mamíferos (1). Simonides *et al* em estudos em modelo de ratos com hipóxia por insuficiência cardíaca concluíram que em células que expressam endogenamente DIO3 (fígado, cérebro, células JEG-3 e coração), tanto a hipóxia quanto agentes miméticos de hipóxia (deferroxamina e cloreto de cobalto) foram suficientes para induzir alta atividade de DIO3 (aumento 4,8 vezes maior do que em controles normóxicos) dependente do HIF-1 $\alpha$ . A capacidade do DIO3 de diminuir a taxa metabólica e o consumo de oxigênio é consistente com a função de muitos outros genes-alvo do HIF-1 $\alpha$  e isso apoia o conceito geral de que a redução de T3 durante doenças não tireoidianas graves beneficia o equilíbrio energético e protege as células da hipoxia e de danos isquêmicos (vide figura 9) (SIMONIDES et al., 2008).

**Figura 8 - A hipóxia induz atividade da DIO3.**



- A. Atividade da D3 endógena em neurônios, cardiomiócitos, hepatócitos, células de coriocarcinoma (células JEG-3), células endometriais e fibroblastos neonatais de rato expostos a normóxia (21% O<sub>2</sub>) versus hipóxia (1% O<sub>2</sub>) por 24h.
- B. Atividade da D3 em hepatocitos expostas a normóxia contínua (A), hipóxia contínua (B) ou hipóxia transitória por 24 h seguida por normóxia (C).

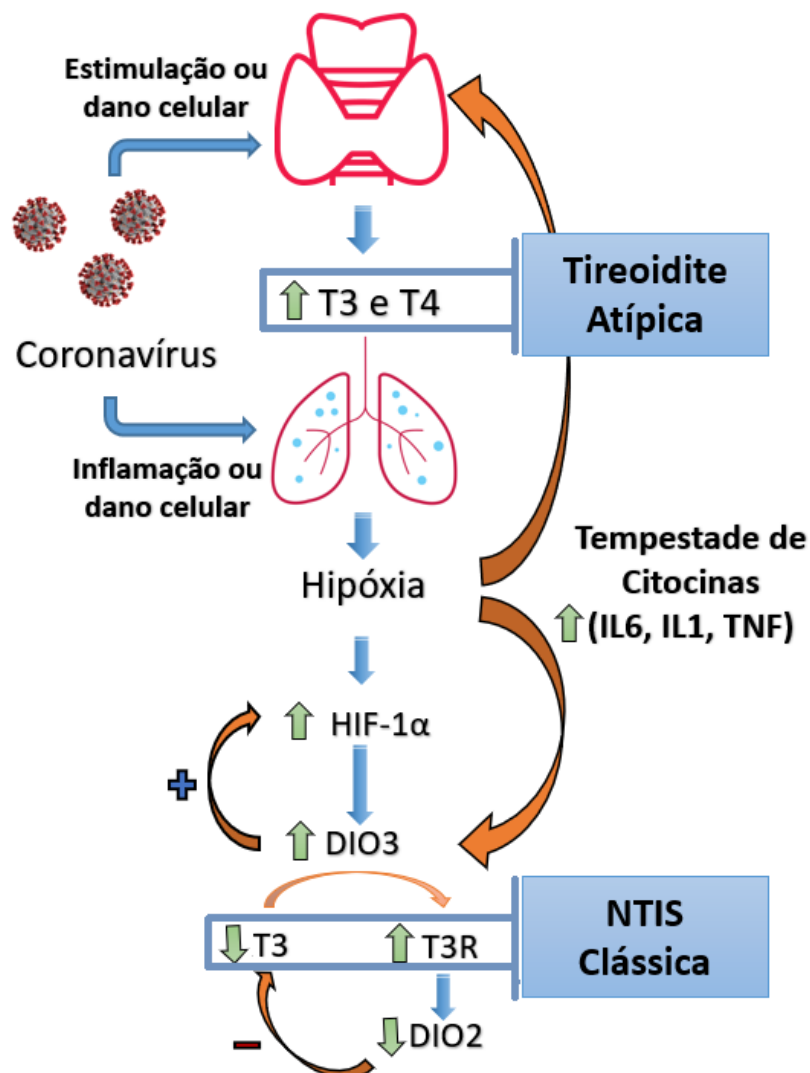
Fonte: Adaptado de SIMONIDES *et al* (2008).

Moretto *et al* avaliaram o efeito do T3 na expressão dos genes do HIF-1 $\alpha$  e no fator de crescimento transformador alfa (TGFA) em linhagem de células de câncer de mama, e demonstram que o tratamento com T3 promoveu um aumento significativo na expressão dos dois fatores (MORETTO *et al.*, 2016). Dessa forma, a ativação do HIF-1 $\alpha$  dependente do hormônio tireoidiano: T3 e T4 induzem a atividade do HIF-1 $\alpha$  por mecanismos genômicos (aumentando a expressão do fator de leucemia hepática) e não genômicos, via a sinalização de fosfoinositase 3 quinase (PI3K) e em contrapartida, o HIF-1 regula positivamente a ação da DIO3, catalisando a conversão do T3 no T3r (metabolicamente inativo sobre o HIF-1 $\alpha$ ) (BURROWS *et al.*, 2011; MA *et al.*, 2004).

Recentemente, Rastogi *et al* (2018) avaliaram a eficácia do uso de T3r endovenoso como agente neuro protetor em modelos de ratos com lesão de isquemia-reperfusão induzida por oclusão da artéria cerebral média e demonstrou que a administração de T3r reduziu significativamente os marcadores de lesão neuronal, o estresse oxidativo [níveis de malondialdeído, glutathiona e espécies reativas de oxigênio (ERO)], o tamanho do infarto e o déficit neurológico após insulto isquêmico. A possível explicação dos autores seria a inibição da síntese da DIO2 induzida pelo T3r, com diminuição da ação do T3 a nível cerebral, reduzindo o consumo de O<sub>2</sub> e o estresse oxidativo (RASTOGI et al., 2018).

Dessa forma, na NTIS clássica, a elevação do T3r, teoricamente, teria efeito protetor duplo, diminuindo a ação periférica do T3 através da inibição da DIO2 e não favorecendo a constante ativação do HIF-1 $\alpha$  dependente do T3 (vide figura 9).

**Figura 9:** Mecanismo sugeridos para explicar os efeitos do COVID-19 nos hormônios tireoidianos. Pelo autor.



## 2.3 Desiodases, *Polimorfismo Thr92-Ala e COVID-19*

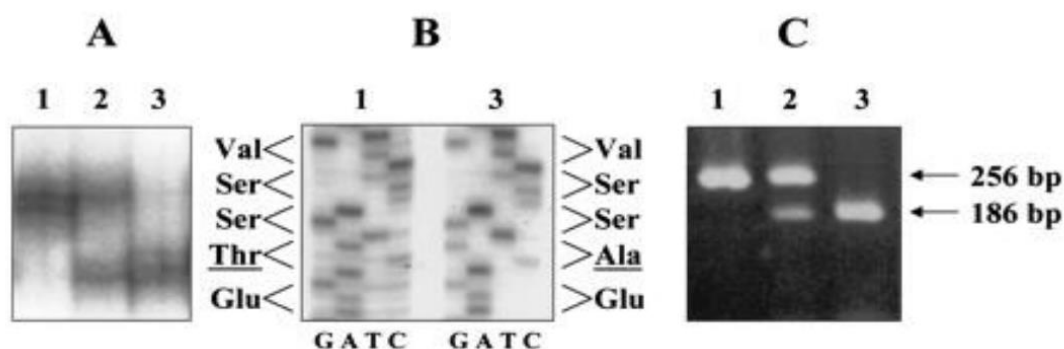
### 2.3.1 Desiodases e o *Polimorfismo Thr92-Ala*

Existem três tipos de iodotironina desiodase. A DIO1 é responsável tanto pela conversão do T4 em T3, como pela desativação do T4 em T3r, forma inativa dos hormônios tireoidianos. A DIO1 é expressa predominantemente no fígado, tireoide, rins e hipófise. A DIO2 tem efeito altamente expresso no sistema nervoso central (SNC), hipófise, músculos, tecido adiposo marrom, placenta e sistema reprodutor. A DIO2 é uma enzima que catalisa exclusivamente a desiodação do anel externo das iodotironinas, desempenhando um papel crítico na ativação do T4 através do T3 em diferentes tecidos, principalmente no SNC. A DIO3 catalisa apenas a desiodação do anel interno das moléculas de T4 e T3, resultando na formação do hormônio inativo T3r. A maior expressão da DIO3 ocorre na placenta, SNC e pele. Dessa forma, DIO1 e DIO2 ativam HT, enquanto DIO3 e, em menor grau DIO1, inativam T4 e T3 em T3r e T2. (BIANCO; KIM, 2006; PARAGLIOLA et al., 2020).

A DIO2 é uma enzima localizada no retículo endoplasmático. Em associação com o sistema simpático, a DIO2 contribui para a termogênese adaptativa e o controle metabólico. A meia-vida da DIO2 é relativamente curta (aproximadamente 40 minutos) e acelerada pela interação com o T4, que é seu substrato natural (PARAGLIOLA et al., 2020). O gene da enzima DIO2 está localizado no braço longo do cromossomo 14, na posição 14q.24.3. Até o momento, seis SNPs desses genes foram descritos na literatura, que são: rs225014 (Thr92Ala), ORFa-Gly3Asp, rs225010, rs225012, rs2267872 e rs1388378 (GUO et al., 2004; VERLOOP et al., 2014; ZHANG et al., 2012).

O polimorfismo Thr92-Ala ou rs225014 (troca de um aminoácido treonina por uma alanina na posição 92), localizado no exon 2 da DIO2, foi descrito pela primeira vez em 2002 (figura 10). Na oportunidade, a varredura molecular da DIO2 foi realizada em 50 indivíduos caucasianos com obesidade mórbida (IMC  $46 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>), o que demonstrou a nova variante Thr92Ala. O novo polimorfismo apresentava forte associação com a obesidade e a resistência à insulina, e sinergismo com o polimorfismo do receptor adrenérgico  $\beta$ -3 Trp64Arg (ADRB3) (MENTUCCIA et al., 2002).

**Figura 10:** Polimorfismo Thr92Ala-D2 (rs225010): 1. homozigoto Thr92; 2. heterozigoto; 3. homozigoto Ala92.



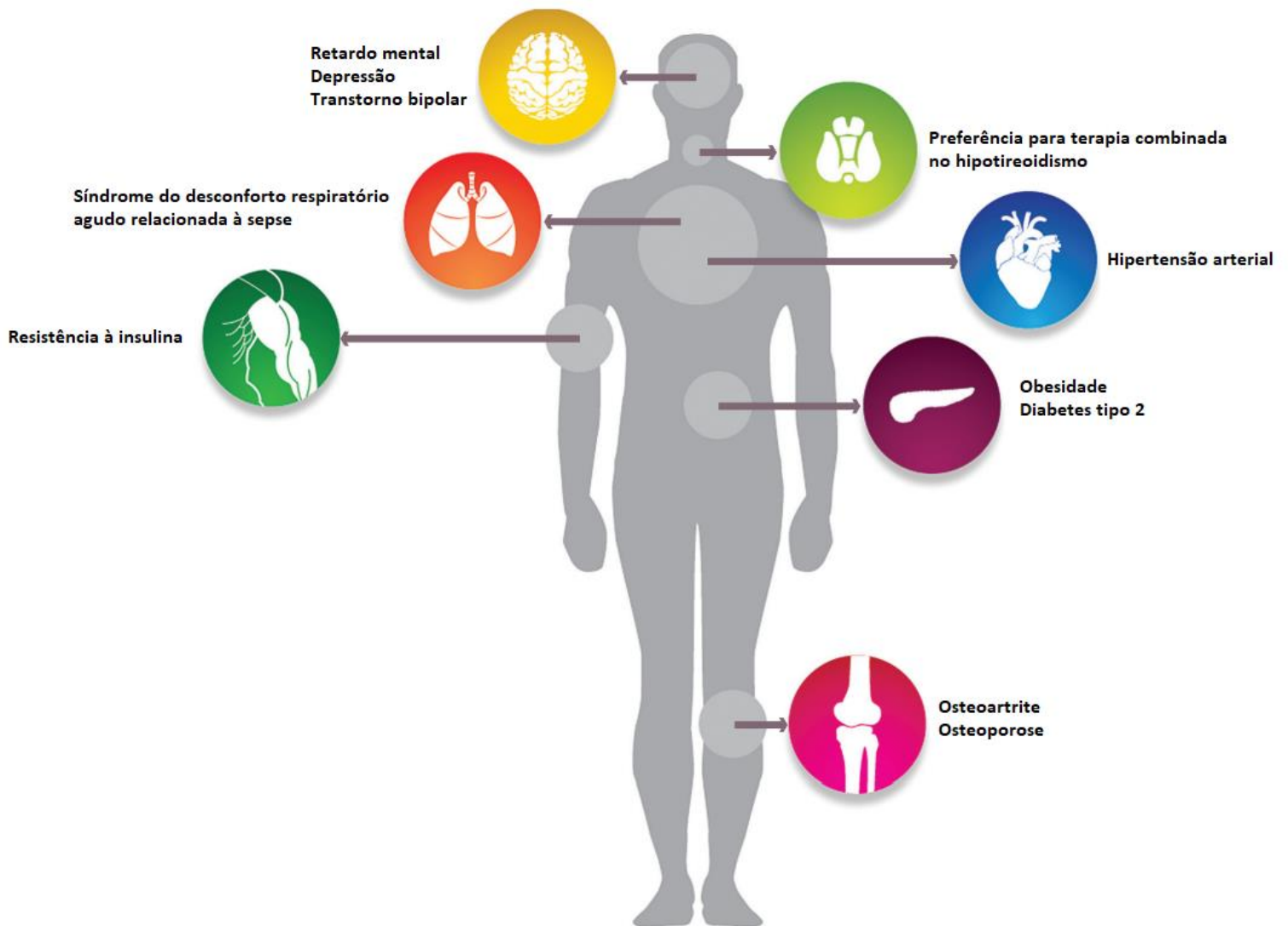
Fonte: MENTUCCIA et al. (2002).

O polimorfismo Thr92-Ala tem uma alta prevalência na população (38,8 a 47,6%) e causa aumento da meia-vida do DIO2 ectopicamente no aparelho de Golgi, com consequente aumento do estresse oxidativo intracelular e aumento da apoptose celular (JO et al., 2019). Vários artigos têm associado o polimorfismo rs225014 a doenças crônicas, como diabetes mellitus tipo 2 (CANANI et al., 2005; DORA et al., 2014; GRARUP et al., 2007; MAIA et al., 2007; NAIR et al., 2012), obesidade (GRARUP et al., 2007), hipertensão arterial (DEURE et al., 2009; GUMIENIAK et al., 2007), osteoartrite (MEULENBELT et al., 2008), osteoporose (KANG et al., 2020), demências (LUO et al., 2015; MCANINCH et al., 2018), distúrbios psiquiátricos ((GAŁECKA et al., 2016) e alterações nas concentrações de hormônios tireoidianos (MCANINCH; BIANCO, 2015).

No hipotireoidismo a atividade da DIO2 está aumentada, na tentativa de compensar a falta de T4. Dessa forma, o polimorfismo Thr92Ala-DIO2, por reduzir a ação da DIO2 está relacionado a falha terapêutica em pacientes com hipotireoidismo em reposição de apenas levotiroxina. Estudo dinamarquês prospectivo, duplo-cego e cruzado avaliou 45 pacientes com hipotireoidismo auto-imune. Os pacientes foram randomizados em 2 grupos de terapia L-T4 de 3 meses contínuos seguidos de terapia combinada (L-T4 + L-T3) de 3 meses ou vice-versa e concluíram que os pacientes com os polimorfismos DIO2 (rs225014) e transportador de monocarboxilato 10 (MCT10) (rs17606253) tiveram menos sintomas de hipotireoidismo em uso da terapia de reposição dupla de L-T4 + L-T3 do que a monoterapia com L-T4 (CARLÉ et al., 2017). Estudos in vitro mostram que Thr92Ala-D2 converte T4 em T3 com cinética normal, ou seja, nenhuma evidência de atividade catalítica reduzida foi relatada nos estudos (PEETERS et al., 2003). Entretanto, em estudos conduzidos em pacientes diabéticos, pacientes

homozigóticos (Ala/Ala) apresentaram maior resistência à insulina e nas amostras de tecidos da tireoide e músculo esquelético a velocidade DIO<sub>2</sub> foi significativamente menor do que em indivíduos com genótipos Ala/Thr e Thr/Thr (CANANI et al., 2005).

**Figura 11:** Doenças e desfechos clínicos relacionado ao polimorfismo Thr92Ala-D2 (rs225010):



Fonte: Adaptado de (MCANINCH; BIANCO, 2015)

### 2.3.2 Polimorfismo Thr92-Ala e COVID-19

A complicação mais temida do COVID-19 é a SRAG que apresenta uma prevalência intra-hospitalar de 17 a 29% (CHEN et al., 2020; PARK et al., 2020). A lesão pulmonar aguda (LPA) é uma das principais causas de insuficiência respiratória que, geralmente, se desenvolve em resposta a insultos maiores, como sepse, trauma, pneumonia viral ou bacteriana e múltiplas transfusões sanguíneas no internamento (HUDSON et al., 1995). Ma *et al* (2011) usando modelos pré-clínicos de LPA em camundongos modificados com níveis reduzidos de expressão de DIO2 (por silenciamento de RNA), demonstraram redução da tiroxina no plasma e aumento da lesão pulmonar (aumento da proteína do lavado broncoalveolar e leucócitos), sugerindo um papel protetor da DIO2 na LPA (MA et al., 2011). No mesmo estudo, os autores também avaliaram 15 polimorfismos relacionados às deiodinase, em dois grupos étnicos de pacientes de descendência europeia e africana, e no grupo europeu os autores observaram que apenas o alelo Ala do polimorfismo Thr92Ala protegiam os pacientes contra o desenvolvimento de LPA associada à sepse grave (MA et al., 2011).

MCANINCH *et al.* (2015) através de análise de expressão gênica por microarray e usando modelo de células embrionárias de rim humano (HEK-293), avaliaram 19 amostras de córtex cerebral humano post-mortem e evidenciaram que o polimorfismo Thr92-Ala causa aumento na meia-vida da DIO2 ectopicamente no aparelho de Golgi, com consequente aumento do estresse oxidativo intracelular e aumento do apoptose celular. E também concluíram que a expressão de Ala92-D2 e Thr92-D2 a nível celular interfere em outros 81 genes de alterações transcricionais que estão relacionados a vários processos celulares básicos envolvidos com a inflamação, o estresse oxidativo, apoptose, disfunção mitocondrial, reparo de DNA, sinalização do fator de crescimento e doenças neurodegenerativas. No mesmo estudo, usando a análise de correlação de Pearson, o genótipo heterozigótico se correlacionou fortemente com os genes da família de transportador de soluto 44 membro 2 (SLC44a2) ( $r= 0.858$ ,  $p= 0.013$ ) e receptor de quimiocinas do tipo CXC 4 (CXCR4) ( $r = 0.802$ ,  $p= 0.030$ ); o homozigótico Thr92-D2 se correlacionou com os genes quinase dependente de ciclina 2 (CDK2) ( $r= 0.984$ ,  $p <0.001$ ), Antígeno 2 da célula estromal da medula óssea (BST2) ( $r= 0.936$ ,  $p= 0.006$ ) e DIO3 ( $r= 0.821$ ,  $p= 0.046$ ); e o Ala92-D2 com CXCR4 ( $r= 0.932$ ,  $p= 0.007$ ), SLC44a22 ( $r= 0.928$ ,  $p= 0.008$ ) e BST2 ( $r= 0.905$ ,  $p= 0.013$ ). Os genes citados acima estão relacionados ao sistema imunológico e a trombogênese e, dessa forma, atualmente, estão sendo estudados por apresentar relação com a SARS-CoV-2. (MCANINCH et al., 2015).

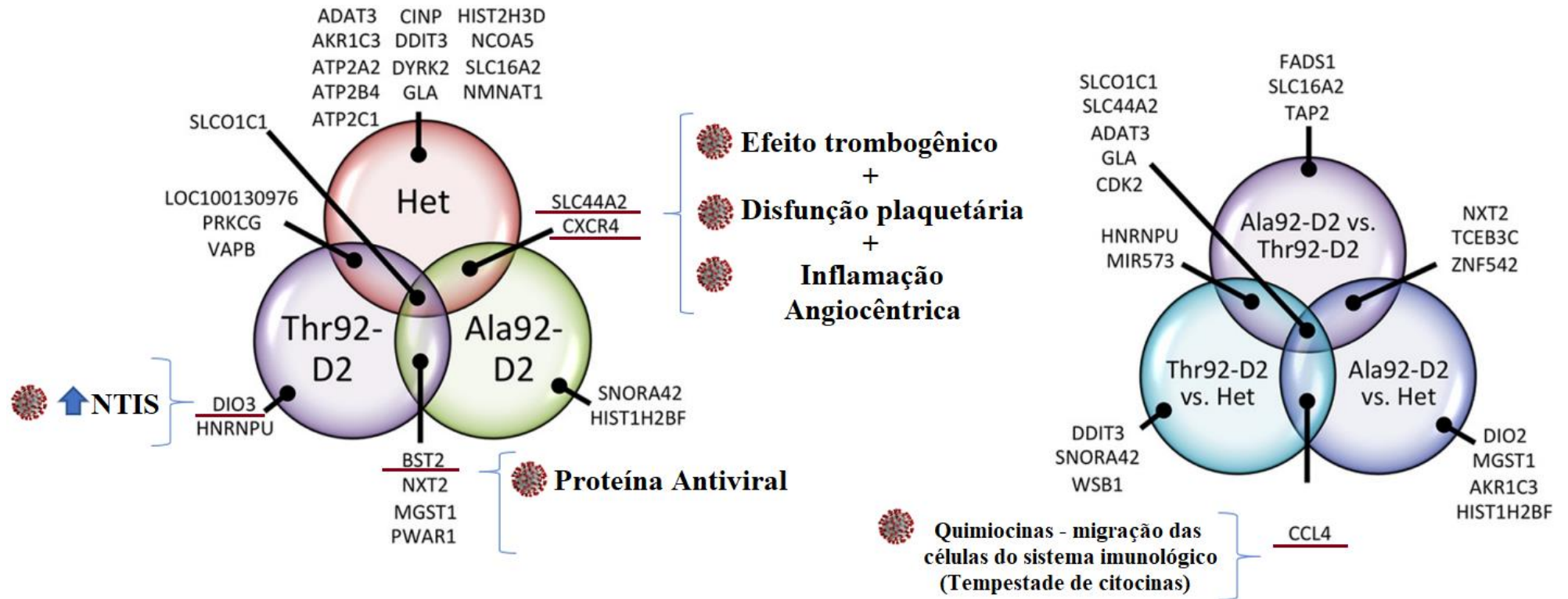
Estudos post-mortem vêm demonstrando que a insuficiência respiratória induzida por COVID-19 promove uma inflamação angiocêntrica, caracterizada por trombose generalizada com microangiopatia, vasoconstrição e distinta angiogênese intussusceptiva. Além disso, uma densa infiltração de células T foi vista nesses pulmões e relacionada ao aumento da expressão de Ligante de quimiocina CXC (CXCL) 12 e CXCR4 (ACKERMANN et al., 2020a, 2020b). Recentemente, a sinalização do eixo CXCL12 e CXCR4 foi identificada como um importante regulador molecular da angiogênese intussusceptiva e hipóxia (DIMOVA et al., 2019). O gene da proteína SLC44A2 está geneticamente ligado à trombose em humanos, e estudos com ratos sugerem que essa proteína regula diretamente a ativação das plaquetas, além de estar associada a disfunção plaquetária (BENNETT et al., 2020) e, recentemente, autores sugerem relação da proteína com o risco de trombose em pacientes com COVID-19 (TAYLOR et al., 2020).

Evidência recente mostrou que o SARS-CoV-2 aumenta a fosforilação de CDK2, resultando na parada do ciclo celular e que a inibição farmacológica das quinases p38, CK2, CDK, Receptor de Tirosina quinase AXL (AXL) e fosfoinosítídeo quinase, tipo FYVE de dedo de zinco (PIKFYVE) possui eficácia antiviral contra o COVID-19 (BOUHADDOU et al., 2020). O antígeno 2 da célula estromal da medula óssea (BST2) desempenha um papel importante na resposta antiviral celular durante a infecção por vírus envelopados, como no HIV e no vírus Ebola. Recentemente, estudo com células Vero demonstrou uma diminuição substancial da ação do SARS-CoV-2 em células com domínios BST2 transmembrana deletados, e os autores concluíram que a inibição dos receptores da BST2 pode, no futuro, ajudar no desenvolvimento de terapias antivirais (DOLSKIY et al., 2020).

Em outro achado do estudo de McAninch *et al.*, apresentado no artigo através de uma figura com um dendrograma (com os níveis de expressão dos genes indicados pelo mapa de calor) (figura 4), o gene Ligante C-C de quimiocinas (CCL) 4 apresentou menor expressão nos pacientes heterozigóticos do que nos pacientes homozigóticos Ala92-D2. Estudo recente, avaliando o sequenciamento do transcriptoma dos RNAs isolados de células mononucleares do sangue periférico e fluidos do lavado broncoalveolar em pacientes graves com COVID-19 vem demonstrando forte associação entre a patogênese de COVID-19 e a liberação excessiva de citocinas, principalmente as quimiocinas CCL2, CXCL10, CCL3, CCL4 e CCL7 (COPERCHINI et al., 2021; LIAO et al., 2020; MCANINCH et al., 2015; XIONG et al., 2020).

Dessa forma, fica evidente que o polimorfismo Thr92Ala da deiodinase tipo 2 pode interferir em outros processos metabólicos em diferentes sistemas. Inclusive, com ação direta e indireta no sistema imunológico e hemostático, sistemas esses, extremamente envolvidos na fisiopatogenia do COVID-19 (figura 3).

Figura 12 – Proteínas (expressão transcricional) estimuladas especificamente pelos diferentes alelos do polimorfismo D2 Thr92Ala e interrelação com a fisiopatologia do COVID-19: Proteínas: DIO3, BST2, SCL44A2, CXCR4 e CCL4 (sublinhadas em vermelho na figura).



Fonte: Adaptado de MCANINCH *et al.* (2015)

### **3 ABORDAGEM METODOLÓGICA**

#### **3.1 TIPO DE ESTUDO**

O estudo proposto é do tipo coorte, observacional, longitudinal e prospectivo, seguindo todos os protocolos de segurança e isolamento para casos suspeitos do COVID-19.

#### **3.2 QUESTÕES ÉTICAS**

O trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde (CCS) em conformidade com a Resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde em 12 de maio de 2020 (número do parecer: 4.024.145; CAAE 43097115.2.0000.5188). Todos os participantes maiores de 18 anos foram convidados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (vide anexos)

#### **3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA**

A amostra foi constituída por aproximadamente 274 pacientes confirmados para COVID-19 admitidos nas unidades de enfermaria, Semi-UTI ou UTI no hospital Hospital Metropolitano Dom José Maria Pires. Estes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) por demanda espontânea entre os meses de junho de 2020 e agosto de 2020.

Realizamos cálculos de potência com base no método de *Cohen* usando o *software GPower* 3.1.9.7. O tamanho da amostra atual (274 pacientes) mostrou mais de 90% de poder para detectar significância ( $\alpha < 0,05$ ) e um índice de tamanho de efeito de 0,3 foi usado.

#### **3.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DA AMOSTRA**

##### **3.4.1 Critérios de elegibilidade**

- a) pacientes com idade  $\geq 18$  anos de idade;
- b) pacientes confirmados para COVID-19 admitidos nas unidades de enfermaria, Semi-UTI ou UTI e que aceitaram em participar da pesquisa.
- c) pacientes que não apresentem história de doenças da tireoide, diagnóstico de gravidez e pacientes que fizeram uso de medicações que interfiram no metabolismo da tireoide

(inclusive corticoide e heparina) ou que fizeram uso de contraste iodado nos últimos 6 meses.

### **3.5 COLETA DE DADOS**

#### **3.5.1 Protocolo experimental**

Todos os pacientes que entraram no estudo obtiveram diagnóstico confirmados para SARS-CoV-2 através da reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa quantitativa (RT-PCR) de amostras do trato respiratório e nos casos RT-PCR negativos através de critérios clínicos, radiológicos e sorológicos (IgG para SARS CoV-2 positivo). Todos os casos foram divididos em duas classificações clínicas: graves e críticos. Casos graves (não-críticos), pacientes que atendam a qualquer um dos seguintes critérios: frequência respiratória > 30 ciclos/min, saturação de oxigênio < 93% em repouso, pressão arterial parcial de oxigênio (PaO<sub>2</sub>) / fração inspirada de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) < 300 mmHg e extensão da lesão pulmonar (vidro fosco) por COVID-19 estimada > 50%, e casos críticos, que atendam a algum dos seguintes critérios: ocorrência de insuficiência respiratória com necessidade de ventilação mecânica, presença de choque e outras falências orgânicas que necessitem de acompanhamento e tratamento em unidade de terapia intensiva. Desfechos críticos foram definidos como atendimento na UTI ou morte.

Hipotireoidismo foi definido para pacientes com TSH > 5 µUI/mL e T4L < 0,89 ng/dL, hipertireoidismo apresentando TSH < 0,4 µUI/mL e T4L > 1,72 ng/dL e síndrome do eutireoideo doente para pacientes com T3 livre sérico <2,3 pg/L acompanhado de níveis baixos ou normais de TSH.

Foram avaliadas na admissão dos pacientes as seguintes escalas: escala de Avaliação Sequencial de Falência Orgânica Rápida (qSOFA) que atribui uma pontuação de 1 ponto a cada um dos três parâmetros (frequência respiratória ≥ 22 incursões respiratórias por minuto, escala de coma de Glasgow < 15 e pressão arterial sistólica ≤ 100 mmHg), e a escala de Pontuação Nacional de Alerta Prévio 2 (NEWS2) que é composta por sete parâmetros: frequência cardíaca, saturação de oxigênio, uso de oxigênio suplementar, pressão arterial sistólica, frequência respiratória, temperatura e nível de consciência. Cada parâmetro é atribuído uma pontuação de 0–3 pontos.

### **3.5.2 Critérios para diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM):**

O diagnóstico de DM foi considerado em pelo menos uma das seguintes situações: Informação de DM na anamnese de admissão ou algum dos critérios: Glicemia (plasmática ou capilar) casual  $>$ de 200mg/dl e sintomas de Diabetes Mellitus; Glicemia de jejum  $\geq$ 126mg/dl, confirmada em um segundo exame associado ao exame de hemoglobina glicada (HbA1C)  $>$  6,5%. Sintomas de Diabetes: poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso inexplicável.

Na avaliação do paciente diabético, foram coletadas informações sobre a existência de tratamento medicamentoso prévio e atual (no internamento na semi-UTI ou UTI): Antidiabéticos Orais e suas variações: a) Medicamentos que reduzem a velocidade de absorção de glicídios (inibidores da alfa-glicosidase); b) Medicamentos que aumentam a ação da insulina: biguanidas e glitazonas; c) Medicamentos que incrementam a secreção pancreática de insulina: sulfoniluréias, glinidas, inibidores da Dipeptidil peptidase 4 (DPP-4) e análogos do Peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1); d) insulino terapia (tipo de insulina, esquema terapêutico).

### **3.5.3 Critérios para diagnóstico de obesidade:**

Avaliação antropométrica (estatura, peso) e todas as medidas foram realizadas após padronização dos equipamentos e procedimentos. Para aferição do peso e estatura foi utilizada balança eletrônica portátil com capacidade para 200 kg, com sensibilidade de 50g, Marte, modelo LC200PP. O Índice de massa corpórea (IMC) (calculado através da divisão do peso em kg pela altura em metros elevada ao quadrado,  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) é o cálculo mais usado para avaliação da adiposidade corporal. Convencionou-se chamar de sobrepeso o IMC de 25 a 29,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , e obesidade o IMC maior ou igual a 30  $\text{kg}/\text{m}^2$  (OBESITY, 2000).

### **3.5.4 Critérios para diagnóstico de SDRA:**

Definida como hipoxemia de início agudo, acompanhada de edema pulmonar não cardiogênico (alterações pulmonares bilaterais no exame radiológico), não completamente justificada por quadro de Insuficiência cardíaca congestiva (ICC). Com base nessa definição, a SDRA é classificada como leve ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  de 200 a 300mmHg), moderada ( $\text{PaO}/\text{FiO}$  100 a 200mmHg) ou grave ( $\text{PaO}/\text{FiO} <$  100mmHg). Os pacientes foram

categorizados, de acordo com o quadro clínico e achados radiológicos, em casos leves e graves: a) Leves: presença de febre, tosse, expectoração ou outro sintoma respiratório, sem anormalidades radiológicas (raio X de tórax), b) Graves: frequência respiratória > 30 insuflações respiratórias por minutos (irpm), hipóxia [Saturação arterial de oxihemoglobina (SAO<sub>2</sub>) ≤ 93%], gasometria com PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ≤ 300 mmHg, insuficiência respiratória ou de outros órgãos requerendo internamento em UTI ou choque. Outros desfechos coletados: tempo de internamento hospitalar, tempo de permanência na Semi-UTI e UTI, tempo de permanência em ventilação mecânica, óbitos, alta hospitalar.

### **3.5.5 Questionário sociodemográfico e de saúde:**

Para caracterização da população estudada, foram coletadas informações socioeconômicas, demográficas e de saúde através da aplicação de um questionário semi-estruturado contendo dados sobre: a) condições socioeconômicas (escolaridade, profissão, estado civil), b) localização do domicílio (rural ou urbano), c) renda em salários mínimos, d) biológicos e de saúde: sexo, idade, doenças pré-existentes, f) medicamentos em uso antes do internamento hospitalar, g) duração da doença e presença de complicações no momento do internamento hospitalar.

### **3.5.6 Questionário de comorbidades e uso de medicamentos:**

Informação sobre comorbidades diversas associadas foram coletadas no momento da internação em enfermaria, semi-UTI e UTI: doenças cardíacas crônicas, hipertensão, doença cardíaca congênita, ICC mal controlada, doença cardíaca isquêmica, doenças respiratórias crônicas e asma, doenças pulmonares intersticiais, fibrose cística, displasia broncopulmonar, doença renal crônica, condição de imunossupressão, transplante de órgãos sólidos e de medula óssea, imunossupressão por doenças e/ou medicamentos (em vigência de quimioterapia/radioterapia, entre outros medicamentos), doenças cromossômicas e com estados de fragilidade imunológica (ex.: Síndrome de Down), diabetes, obesidade, SAO, infecção pelo HIV, doença autoimune associada (*Lupus*, artrite reumatoide, outras), hipotireoidismo, deficiência de vitamina D, síndrome do ovário policístico, uso de anticoncepcional, uso de hidrocortisona ou corticosteroide e medicamentos de uso prolongado (levotiroxina, anti-hipertensivos, medicamentos para diabetes, suplemento de vitamina D, anticoncepcional, antialérgico, etc).

### **3.5.7 Questionário de características clínicas basais (referentes ao início do quadro de doença):**

Data de início de sintomas, sinais e sintomas presentes, duração média dos sintomas antes da admissão hospitalar, duração média dos sintomas antes da admissão na semi-UTI ou UTI, presença de sintomas respiratórios (tosse, dispnéia, odinofagia, produção de secreção respiratória, rinorréia, congestão nasal, anosmia), presença de sintomas sistêmicos (mialgia, febre, calafrios, anorexia, fadiga, cefaleia), histórico de viagem para zona endêmica, histórico de contato com pessoa sabidamente doente por COVID-19, sinais vitais na admissão hospitalar (frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura), sinais vitais na admissão na semi-UTI ou UTI (pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura), motivo principal para internamento em semi-UTI ou UTI.

### **3.5.8 Questionários de informações clínico-laboratoriais (referente à avaliação desde a admissão ou primeiro atendimento hospitalar):**

Primeira glicemia capilar na admissão hospitalar, glicemia capilar mais elevada, menor glicemia capilar desde admissão hospitalar, últimas 4 glicemias capilares, média das glicemias capilares nas últimas 48 horas, creatinina sérica mais elevada, uréia sérica mais elevada, presença de alteração hidro-eletrolítica, temperatura corporal mais elevada, frequência respiratória mais elevada, pressão arterial sistólica mais elevada, pressão arterial sistólica mais reduzida, troponina sérica mais elevada, transaminases séricas mais elevadas, menor contagem de plaquetas, maior contagem de leucócitos, valor inicial de hemoglobina glicada, maior valor de bilirrubina, maior valor de creatinoquinase (CK), resultados de sorologia e culturas (hemocultura, cultura de secreção, Influenza A e B, Vírus sincicial respiratório), achados radiológicos no Raio X de tórax (opções: pulmões limpos, infiltrados pulmonares bilaterais, derrame pleural), achados radiológicos na tomografia computadorizada de tórax (opções: padrão de vidro fosco, nódulos, derrame pleural), alterações eletrocardiográficas, peso corporal (em kg) na admissão hospitalar, tratamentos instituídos desde a admissão hospitalar (insulinoterapia, cânula nasal de oxigênio, pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP), ventilação mecânica (VM) invasiva, bloqueio neuromuscular, vasodilatadores pulmonares inalatórios, vasopressores, transfusões), necessidade e características de CPAP, necessidade e características da VM (se instituída)

(FI02, etc) e interrupção de medicamentos usados para tratamento do DM (metformina, inibidores SGLT2, etc).

### **3.5.9 Dosagem de Biomarcadores hormonais e imunológicos:**

Após admissão na enfermaria, semi-UTI ou UTI, os pacientes coletaram sangue para avaliação de parâmetros hematológicos, bioquímicos, virológicos e hormonais que foram avaliados como biomarcadores do estudo: a) Glicemia plasmática (material soro; método: química seca), b) Hemoglobina Glicada (material: sangue total, método: HPLC - cromatografia líquida de alta performance), c) Hemograma material (material: sangue total, método: automação), d) Testes de função tireoidiana: T3 livre, TSH, T4 livre, Anticorpo anti-peroxidase (Material: soro, método: quimioluminescência), e) Ferritina (material: soro, método: quimioluminescência), f) Função hepática: Proteína total e frações, Aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT) (material soro, método: química seca), g) função renal: creatinina e uréia (material: soro, método: química seca), h) Citocinas: IL-6 e leptina (material soro, método: quimioluminescência automatizada).

Os exames de imunoensaio por quimioluminescência foram realizado no aparelho MAGLUMI-2000-PLUS, Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Shenzhen, China, de acordo com o protocolo do fabricante. A contagem total de hemácias com diferencial foi realizada em analisador hematológico MEK-7300 (Nihon Kohden®, Tóquio, Japão). A razão neutrófilos / linfócitos (NLR) foi calculada pela contagem absoluta de neutrófilos dividida pela contagem absoluta de linfócitos.

**Tabela 5:** Principais exames laboratoriais que foram avaliados:

<b>Exames</b>	<b>Método utilizado</b>	<b>Valores de referência</b>
<b>TSH</b>	Quimioluminescência	0,4 – 4,3 µUI/mL
<b>T4 livre</b>	Quimioluminescência	0,89 – 1,72 ng/dL
<b>T3 livre</b>	Quimioluminescência	2,0 – 4,2 pg/dL
<b>Tireoglobulina</b>	Quimioluminescência	1,59 – 59,9 ng/dL
<b>Anticorpo anti-microsomal</b>	Quimioluminescência	Normal < 35,0 UI/mL
<b>Leptina</b>	Quimioluminescência	3,7 – 11,1 ng/dL
<b>Insulina</b>	Quimioluminescência	3,0 – 25,0 µUI/mL
<b>Glicose</b>	Enzimático	60 – 99 mg/dL
<b>Hemoglobina Glicada</b>	HPLC	< 5,7%
<b>25-OH-vitamina D</b>	Quimioluminescência	30 – 100 ng/mL
<b>PTH</b>	Quimioluminescência	15– 68,0 pg/dL
<b>Interleucina 6</b>	Quimioluminescência	< 3,4 pg/mL
<b>Perfil lipídico</b>	Colorimétrico enzimático	

### 3.5.10 Análise de genotipagem

O DNA genômico foi extraído do sangue total usando técnicas padrão. Neste estudo a verificação do polimorfismo foi realizada pelo método TaqMan® SNP Genotyping (7500 Real Time PCR Systems, Applied Biosystems, CA), utilizando ensaio de genotipagem com sondas e primers TaqMan®; em uma combinação de hibridização e atividade de DNA polimerase, associada à detecção de fluorescência (DE LA VEGA et al., 2005). Para essas análises, foi utilizada uma solução de 5 µl, contendo: 20 ng de DNA da amostra, 2,5 µl de Taqman PCR Master Mix universal (com concentração final 1X), 0,25 µl do ensaio (sonda e primers) para a concentração de 20X e 0,125 µl para a concentração de 40X (mantendo a concentração final de 1X), além de 2,25 µl de água Milli-q®. Para todas as reações, foi realizado um controle negativo e um controle positivo. Para a reação em cadeia da polimerase, foram utilizados ciclos de dez minutos a 95 ° C para a fase inicial de desnaturação, seguidos de 50 ciclos a 92 ° C por 15 segundos e 60 ° C por 90 segundos. Utilizou-se o software “Sequence Detection”, versão 1.3 (Applied Biosystems, CA) para a análise dos dados.

### 3.5.11 Tomografia de Tórax

Os pacientes foram submetidos, na admissão hospitalar, a Tomografia Computadorizada (TC) de tórax para diagnóstico de uma suspeita de pneumonia por SARS-CoV-2. Consideramos os seguintes padrões de TC de tórax: opacidade em vidro fosco, pavimentação em mosaico e consolidação. Em todos os casos, uma pontuação semiquantitativa da gravidade da TC proposta por Pan *et al* (2020) foi calculada para cada um dos 5 lobos, considerando a extensão do envolvimento anatômico, como segue: 0, nenhum envolvimento; 1, <5% de envolvimento; 2, 5-25% de envolvimento; 3, envolvimento de 26–50%; 4, 51-75% de envolvimento; e 5, > 75% de envolvimento (Fig. 1) A pontuação da TC global resultante foi a soma de cada pontuação lobar individual (0 a 25) (PAN et al., 2020).

## 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste D'Agostino-Pearson expressou uma distribuição não-gaussiana para a maioria das variáveis empregadas nesse estudo. Consequentemente, foram empregados testes não paramétricos para todas as análises e os dados foram expressos como mediana  $\pm$  intervalo interquartil (IQR). Os testes de Mann-Whitney, Qui-quadrado e Cochran-Armitage foram usados para variáveis não paramétricas. Para os testes de comparação (com mais de 2 grupos) usamos a análise de teste de Kruskal-Wallis seguida pelo teste post hoc de Dunn com correções de comparação múltipla de Benjamini-Hochberg.

O método de Kaplan-Meier e o teste de *log-rank* foram usados em nosso estudo para investigar a relação entre as variáveis e o prognóstico do COVID-19.

Para avaliar o risco relativo de mortalidade, utilizamos curva Característica de Operação do Receptor (ROC) e regressão logística univariada e multivariada. O nível de significância de  $p < 0,05$  foi aceito como estatisticamente significativo. O programa estatístico *GraphPad Prism*, v.7.00 (2016), foi utilizado para a realização dos testes estatísticos. O nível de significância de  $p < 0,05$  foi aceito como estatisticamente

## RESULTADOS

O artigo apresentado no Apêndice A (**Título: Os níveis de hormônio tireoidiano durante a internação hospitalar informam a gravidade e mortalidade da doença em pacientes com COVID-19**) foi publicado na revista científica *Thyroid Journal* (Fator de impacto: 6.568; Qualis A1) O estudo observou que, durante o internamento, 154 (62,5%) pacientes apresentaram disfunções tireoidianas, sendo diagnosticados 67 (27,3%) casos de tireotoxicose e 16 (6,5%) casos de NTIS. Cinquenta e oito pacientes (23,6%) foram internados na unidade de terapia intensiva e 41 (16,7%) faleceram. Os níveis de fT3 foram mais baixos em pacientes críticos em comparação com pacientes não críticos [T3l: 2,82 (2,46-3,29) pg / mL vs. 3,09 (2,67-3,63) pg/mL,  $p = 0,007$ ]. A regressão logística univariada, revelou correlação entre mortalidade hospitalar e níveis séricos de T3l (OR:0,47; IC 95% 0,29–0,74;  $p = 0,0019$ ), níveis de T3r (OR: 0,09; IC 95% 0,01–0,49;  $p = 0,006$ ). Um nível de corte sérico de fT3 ( $< 2,6$  pg / mL) e rT3 ( $< 0,38$  ng / mL) foram associados a 3,46 e 5,94 OR de mortalidade, respectivamente. Síndrome de doença não tireoidiana (fT3  $< 2,0$  pg/mL) foi associado a 7,05 OR de mortalidade ([CI 1,78-28,3],  $p = 0,005$ ) e o produto T3l X T3r  $< 1,29$  com um OR de 8,08 de mortalidade (IC 3,14–24,2,  $p < 0,0001$ ). Dessa forma, concluímos que a nossa casuística apresentou uma prevalência de tireoidite maior que os estudos anteriores, e descrevemos o valor potencial da avaliação da função tireoidiana durante a hospitalização, principalmente T3 livre e T3 reverso para estratificação de risco de pacientes internados com COVID-19.

O artigo no Apêndice B (**Título: Vantagem heterozigota do polimorfismo Thr92Ala de deiodinase tipo II na mortalidade intra-hospitalar de COVID-19**) foi submetido para publicação na revista *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* (Fator de impacto: 5.958; Qualis A1). O artigo corresponde a um estudo de coorte prospectivo longitudinal, envolvendo 220 pacientes hospitalizados com COVID-19. As apresentações dos alelos do polimorfismo DIO2 Thr92Ala, presente na coorte, foram Thr / Thr ( $n = 79$ ), Thr / Ala ( $n = 119$ ) e Ala / Ala ( $n = 23$ ). Em relação ao polimorfismo DIO2 Thr92Ala, a mortalidade foi menor em pacientes com alelos heterozigotos Ala / Thr (12,6%) do que em homozigotos Thr / Thr (21,7%) e alelos Ala / Ala (23%) ( $P = 0,05$ ). A análise de sobrevida de Kaplan-Meier mostrou sobrevida significativamente maior em pacientes com o alelo heterozigoto (Ala / Thr) quando comparada com pacientes com alelos homozigotos (HR 0,53,  $p = 0,048$ ), e a diminuição da mortalidade variou de 51 a 66% na regressão logística univariada e multivariada ajustada para as variáveis laboratoriais e

marcadores de inflamação, e modelos propostos. Em paralelo realizamos uma metanálise de 22 estudos para avaliar a importância da vantagem heterozigótica em outras doenças crônicas relacionadas ao polimorfismo. Nossos achados sugerem que a expressão do alelo Thr/Ala heterozigoto através da avaliação da metanálise demonstra que esse efeito protetor pode ser mais amplo e incluir várias outras condições crônicas e doenças graves (Random OR: 0,93 [0,87-1,0],  $p = 0,05$ ), como acidente vascular cerebral isquêmico, infarto do miocárdio e hipertrofia ventricular esquerda. Dessa forma, fornecemos evidências robustas de um papel protetor desempenhado pela heterozigosidade Thr92Ala-DIO2 em pacientes com COVID-19.

## **PERSPECTIVAS**

1. Esclarecer se dosagens de hormônios tireoidianos, sobretudo T3 livre e T3 reverso, são bons marcadores biológicos de gravidade de doença ou mortalidade em pacientes com COVID-19 leve-moderada.

2. Determinar se a Síndrome do Eutireoideo Doente (ou Síndrome do T3 baixo) tem impacto prognóstico em todas as fases da infecção pelo SARS-CoV2.

2. Avaliar se outros polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo dos hormônios tireoidianos (Exemplo: DIO1, MCT10, TSHR) possuem associação com morbimortalidade da COVID-19.

3. Esclarecer mecanismos fisiopatogênicos da ação dos hormônios tireoidianos em tecidos relacionados à resposta à infecção pelo SARS-Cov2.

4. Realizar estudos prospectivos longitudinais que avaliem a função tireoidiana na fase pós-infecção da COVID-19.

## REFERÊNCIAS

ABDELMASSIH, A. *et al.* Hypoxia-inducible factor (HIF): The link between obesity and COVID-19. **Obesity Medicine**, p. 100317, 2020.

ACKERMANN, M. *et al.* Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. **New England Journal of Medicine**. v. 383, n. 2, p. 120–128, 2020.

ACKERMANN, M. *et al.* Inflammation and intussusceptive angiogenesis in COVID-19: Everything in and out of flow. **European Respiratory Journal European Respiratory Society**. 2020. DOI: 10.1183/13993003.03147-2020. Disponível em: /pmc/articles/PMC7530910/. Acesso em: 13 jun. 2021.

AL-SHAMSI, H. O. *et al.* A Practical Approach to the Management of Cancer Patients During the Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic: An International Collaborative Group. **The Oncologist**. 25, n. 6, p. 936–945, 2020.

AZINHEIRA N. C. *et al.* Angiotensin-Converting Enzyme 2 in the Pathogenesis of Renal Abnormalities Observed in COVID-19 Patients. **Frontiers in Physiology**. DOI: 10.3389/FPHYS.2021.700220. Acesso em: 22 set. 2021.

BENIGNI, A; CASSIS, P; REMUZZI, G. Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. **EMBO Molecular Medicine**. v. 2, n. 7, p. 247–257, 2010.

BENNETT, J. A. *et al.* The choline transporter Slc44a2 controls platelet activation and thrombosis by regulating mitochondrial function. **Nature Communications**. v. 11, n. 1, p. 1–9, 2020.

BENVENGA, S. *et al.* The Role of Inositol in Thyroid Physiology and in Subclinical Hypothyroidism Management. **Frontiers Endocrinology**. V. 12, n.1, p. 1–9, 2021.

BIANCO, A. C.; KIM, B. W. Deiodinases: Implications of the local control of thyroid hormone action. **Journal of Clinical Investigation American Society for Clinical Investigation**, 2006. DOI: 10.1172/JCI29812. Disponível em: /pmc/articles/PMC1578599. Acesso em: 21 nov. 2020.

BORGES, N. I. J. *et al.* Novel Coronavirus Infection (COVID-19) in Humans: A Scoping Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine**. v. 9, n. 4, p. 941, 2020.

BOUHADDOU, M. *et al.* The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection. **Cell**. v. 182, n. 3, p. 685- 712.e19, 2020.

BRANCATELLA, A. *et al.* Subacute Thyroiditis After Sars-COV-2 Infection. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 105, n. 7, p. 2367–2370, 2020.

BURROWS, N. *et al.* Hypoxia-inducible factor in thyroid carcinoma. **Journal of Thyroid Research**, 2011. DOI: 10.4061/2011/762905. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21765994/. Acesso em: 17 mar. 2021.

CAMPI, I. *et al.* The spectrum of thyroid function tests during hospitalization for SARS COV-2 infection. **European Journal of Endocrinology**. v. 184, n. 5, p. 699–709, 2021.

CANANI, L. H. *et al.* The Type 2 Deiodinase A/G (Thr92Ala) Polymorphism Is Associated with Decreased Enzyme Velocity and Increased Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 90, n. 6, p. 3472–3478, 2005.

CARLÉ, A. *et al.* Hypothyroid Patients Encoding Combined MCT10 and DIO2 Gene Polymorphisms May Prefer L-T3 + L-T4 Combination Treatment – Data Using a Blind, Randomized, Clinical Study. **European Thyroid Journal**. v. 6, n. 3, p. 143–151, 2017.

CHATTERJEE, P. *et al.* The 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic: A review of the current evidence. **Indian Journal of Medical Research**. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR\_519\_20. Disponível em: <http://www.ijmr.org.in/preprintarticle.asp?id=281608;type=0>. Acesso em: 6 set. 2020.

CHEN, M; ZHOU, W; XU, W. Thyroid Function Analysis in 50 Patients with COVID-19: A Retrospective Study. **Thyroid**. DOI: 10.1089/thy.2020.0363. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/thy.2020.0363>. Acesso em: 21 nov. 2020.

CHEN, T. *et al.* Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study. **The BMJ**. v. 368, 2020.

COPERCHINI, F. *et al.* The cytokine storm in COVID-19: Further advances in our understanding the role of specific chemokines involved. **Cytokine and Growth Factor Reviews**. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.12.005. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7837329/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32237206/). Acesso em: 13 jun. 2021.

CORRÊA, T. D.; TAKALA, J.; JAKOB, S. M. Angiotensin II in septic shock. **Critical Care**. v. 19, n. 1, p. 1–6, 2015.

DE LA VEGA, F M *et al.* Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan® SNP Genotyping Assays and the SNPlex™ Genotyping System. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**. v. 573, n. 1–2, p. 111–135, 2005.

DEURE, W. M.; Theo J. *et al.* Impact of thyroid function and polymorphisms in the type 2 deiodinase on blood pressure: the Rotterdam Study and the Rotterdam Scan Study. **Clinical Endocrinology**. v. 71, n. 1, p. 137–144, 2009.

DIETZ, Q; SANTOS-BURGOA, C. Obesity and its Implications for COVID-19 Mortality Obesity. **Obesity (Silver Spring)**. DOI: 10.1002/oby.22818. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32237206/>. Acesso em: 6 set. 2020.

DIMOVA, I *et al.* SDF-1/CXCR4 signalling is involved in blood vessel growth and remodelling by intussusception. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. v. 23, n. 6, p. 3916–3926, 2019.

DOLSKIY, A. A. *et al.* Deletion of BST2 Cytoplasmic and Transmembrane N-Terminal Domains Results in SARS-CoV, SARS-CoV-2, and Influenza Virus Production Suppression in a Vero Cell Line. **Frontiers in Molecular Biosciences**. v. 7, p. 616798, 2020.

DORA, J. M. *et al.* Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism is associated with disrupted placental activity but not with dysglycemia or adverse gestational outcomes: A genetic association study. **Fertility and Sterility**. v. 101, n. 3, 2014.

DUTTA, A. *et al.* Low FT3 is an independent marker of disease severity in patients hospitalized for COVID-19. **Endocrine Connections**, v. 10, n. 11, p. 1455–1462, 2021.

FLIERS, E.; BIANCO, A. C.; BOELEN, A. *et al.* Endocrine and metabolic considerations in critically ill patients 4: Thyroid function in critically ill patients HHS Public Access. **Lancet Diabetes Endocrinol**. v. 3, n. 10, p. 816–825, 2015.

GAŁECKA, E. *et al.* Polymorphisms in the type I deiodinase gene and frontal function in recurrent depressive disorder. **Advances in Medical Sciences**. v. 61, n. 2, p. 198–202, 2016.

GAO, W. *et al.* Thyroid hormone concentrations in severely or critically ill patients with COVID-19. **Journal of Endocrinological Investigation**. 2020. DOI: 10.1007/s40618-020-01460-w. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33140379/>. Acesso em: 17 mar. 2021.

GIOVANETTI, M. *et al.* A doubt of multiple introduction of SARS-CoV-2 in Italy: A preliminary overview. **Journal of Medical Virology**. v. 92, n. 9, p. 1634–1636, 2020.

GRARUP, N. *et al.* Studies of the Common DIO2 Thr92Ala Polymorphism and Metabolic Phenotypes in 7342 Danish White Subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 92, n. 1, p. 363–366, 2007.

GRASSELLI, G.; PESENTI, A.; CECCONI, M. *et al.* Critical Care Utilization for the COVID-19 Outbreak in Lombardy, Italy. **JAMA**. v. 323, n. 16, p. 1545, 2020.

GRUNFELD, C. *et al.* Indices of thyroid function and weight loss in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. **Metabolism**. v. 42, n. 10, p. 1270–1276, 1993.

GUMIENIAK, O. *et al.* Ala92 type 2 deiodinase allele increases risk for the development of hypertension. **Hypertension**. v. 49, n. 3, p. 461–466, 2007.

GUO, T. *et al.* Positive association of the DIO2 (deiodinase type 2) gene with mental retardation in the iodine-deficient areas of China. **Journal of Medical Genetics**. v. 41, n. 8, p. 585, 2004.

GUPTA, R. *et al.* Clinical considerations for patients with diabetes in times of COVID-19 epidemic. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**. 2020. DOI: 10.1016/j.dsx.2020.03.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32172175/>. Acesso em: 6 set. 2020.

GÜVEN, M.; GÜLTEKIN, H. The prognostic impact of thyroid disorders on the clinical severity of COVID-19: Results of single-centre pandemic hospital. **International Journal of Clinical Practice**, v. 75, n. 6, p. e14129, 2021.

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, 2020.

HU, B. *et al.* Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nature Reviews Microbiology**. v. 19, n. 3, p. 141–154, 2020.

HUDSON, L. D. *et al.* Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. v. 151, n. 2 I, p. 293–301, 1995.

JO, S. *et al.* Type 2 deiodinase polymorphism causes ER stress and hypothyroidism in the brain. **Journal of Clinical Investigation**. v. 129, n. 1, p. 230, 2019.

JONKLAAS, J. *et al.* Outcomes of Patients With Hypothyroidism and COVID-19: A Retrospective Cohort Study. **Frontiers in Endocrinology**. v. 1, p. 565, 2020.

KANG, Y. E. *et al.* Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism is associated with a reduction in bone mineral density: A community-based Korean genome and epidemiology study. **Clinical Endocrinology**. v. 93, n. 3, p. 238–247, 2020.

KHOO, B. *et al.* Thyroid Function Before, During, and After COVID-19. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 106, n. 2, p. e803–e811, 2021.

LANG, S. *et al.* Association between Thyroid Function and Prognosis of COVID-19: A Retrospective Observational Study. **Endocrine Research**, v. 20, p. 1–8, 2021.

LANIA, A. *et al.* Thyrotoxicosis in patients with COVID-19: the THYRCOV study. **European Journal of Endocrinology**, v. 183, n. 4, p. 381–387, 2020.

LEE, C.; CHOI, W. J. Overview of COVID-19 inflammatory pathogenesis from the therapeutic perspective. **Archives of Pharmacal Research**. v. 44, n. 1, p. 99–116, 2021.

LEISMAN, D. E. *et al.* Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes. **The Lancet Respiratory Medicine**. 2020. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30404-5. Disponível em: [www.thelancet.com/respiratory](http://www.thelancet.com/respiratory). Acesso em: 29 nov. 2020.

LI, M. Y. *et al.* Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. **Infectious Diseases of Poverty**. v. 9, n. 1, 2020.

LIAO, M. *et al.* Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. **Nature Medicine**. v. 26, n. 6, p. 842–844, 2020.

LOPRESTI, J. S. *et al.* Unique alterations of thyroid hormone indices in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Annals of Internal Medicine**. v. 110, n. 12, p. 970–975, 1989.

LUI, D. T. W. *et al.* Role of non-thyroidal illness syndrome in predicting adverse outcomes in COVID-19 patients predominantly of mild-to-moderate severity. **Clinical Endocrinology**. 2021. DOI: 10.1111/cen.14476. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cen.14476>. Acesso em: 12 jun. 2021.

LUO, M. *et al.* Type II deiodinase polymorphisms and serum thyroid hormone levels in patients with mild cognitive impairment. **Genetics and Molecular Research**. v. 14, n. 2, p. 5407–5416, 2015.

MA, S. F. *et al.* Type 2 deiodinase and host responses of sepsis and acute lung injury. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**. v. 45, n. 6, p. 1203–1211, 2011.

MA, Y. *et al.* Thyroid hormone induces erythropoietin gene expression through augmented accumulation of hypoxia-inducible factor-1. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**. v. 287, n. 3 56-3, 2004.

MADDALONI, E; BUZZETTI, R. Covid-19 and diabetes mellitus: unveiling the interaction of two pandemics. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**. 2020. DOI: 10.1002/dmrr.3321. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32233018/>. Acesso em: 6 set. 2020.

MAIA, A. L. *et al.* The type 2 deiodinase (DIO2) A/G polymorphism is not associated with glycemic traits: The Framingham Heart Study. **Thyroid**. v. 17, n. 3, p. 199–202, 2007.

MALONE, B. *et al.* Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. v. 23, n. 1, p. 21–39, 2021.

MATTAR, S. A. M. *et al.* Subacute thyroiditis associated with COVID-19. **BMJ case reports**. v. 13, n. 8, p. 237336, 2020.

MCANINCH, E. A. *et al.* Prevalent polymorphism in thyroid hormone-activating enzyme leaves a genetic fingerprint that underlies associated clinical syndromes. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 100, n. 3, p. 920–933, 2015.

MCANINCH, E. A.; BIANCO, A. C. The Thr92AlaD2 polymorphism may play a novel role in hypothyroidism. **US Endocrinology**. v. 11, n. 2, p. 92–94, 2015.

MCANINCH, E. A. *et al.* A Common DIO2 Polymorphism and Alzheimer Disease Dementia in African and European Americans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 103, n. 5, p. 1818–1826, 2018.

MEBIS, L.; VAN DEN BERGHE, G. Thyroid axis function and dysfunction in critical illness. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 745–757, 2011.

MELQUIST, S. *et al.* COVID-19 presenting as fulminant hepatic failure: A case report. **Medicine**. v. 99, n. 43, p. e22818, 2020.

MENTUCCIA, D. *et al.* Association between a novel variant of the human type 2 deiodinase gene Thr92Ala and insulin resistance: Evidence of interaction with the Trp64Arg variant of the  $\beta$ -3-adrenergic receptor. **Diabetes**. v. 51, n. 3, p. 880–883, 2002.

MEULENBELT, I. *et al.* Identification of DIO2 as a new susceptibility locus for symptomatic osteoarthritis. **Human Molecular Genetics**. v. 17, n. 12, p. 1867–1875, 2008.

MIKUSIC, N. L. *et al.* Angiotensin-(1-7) and Mas receptor in the brain. **Exploration of Medicine**. v. 2, n. 3, p. 268–293, 2021.

MORETTO, F. C. F. *et al.* Triiodothyronine (T3) induces HIF1A and TGFA expression in MCF7 cells by activating PI3K. **Life Sciences**. v. 154, p. 52–57, 2016.

MULLER, I. *et al.* SARS-CoV-2-related atypical thyroiditis. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**. 2020. DOI: 10.1016/S2213-8587(20)30266-7. Disponível em: [www.thelancet.com/diabetes-endocrinology](http://www.thelancet.com/diabetes-endocrinology). Acesso em: 24 mar. 2021.

MULLUR, R.; LIU, Y. Y.; BRENT, G. A. Thyroid hormone regulation of metabolism. **Physiological Reviews**. v. 94, n. 2, p. 355–382, 2014.

MUNIYAPPA, R.; GUBBI, S. COVID-19 pandemic, coronaviruses, and diabetes mellitus. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**. 2020. DOI: 10.1152/ajpendo.00124.2020. Disponível em: <http://www.ajpendo.org>. Acesso em: 6 set. 2020.

NAIR, S. *et al.* Association analyses of variants in the DIO2 gene with early-onset type 2 diabetes mellitus in Pima Indians. **Thyroid**. v. 22, n. 1, p. 80–87, 2012.

NETO, A. M.; ZANTUT-WITTMANN, D. E. Abnormalities of Thyroid Hormone Metabolism during Systemic Illness: The Low T3 Syndrome in Different Clinical Settings. **International Journal of Endocrinology**, DOI: 10.1155/2016/2157583. Disponível em: [/pmc/articles/PMC5075641/](http://pmc/articles/PMC5075641/). Acesso em: 29 set. 2021.

National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. Overweight, Obesity, and Health Risk. **Archives of Internal Medicine**. v. 160, n. 7, p. 898–904, 2000.

PAN, F. *et al.* Time course of lung changes at chest CT during recovery from Coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Radiology**. v. 295, n. 3, p. 715–721, 2020.

PARAGLIOLA, R. M. *et al.* Iodothyronine deiodinases and reduced sensitivity to thyroid hormones. **Frontiers in Bioscience – Landmark**. v. 25, n. 2, p. 201–228, 2020.

PARK, M. *et al.* Systematic Review of COVID-19 Epidemiology Based on Current Evidence. **Journal of Clinical Medicine**. v. 9, n. 4, p. 967, 2020.

PEETERS, R. P. *et al.* Polymorphisms in Thyroid Hormone Pathway Genes Are Associated with Plasma TSH and Iodothyronine Levels in Healthy Subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 88, n. 6, p. 2880–2888, 2003.

POSTON, J. T.; PATEL, B. K.; DAVIS, A. M. Management of Critically Ill Adults with COVID-19. **JAMA - Journal of the American Medical Association**. 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.4914. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32215647/>. Acesso em: 6 set. 2020.

RABI, F. A. *et al.* Sars-cov-2 and coronavirus disease 2019: What we know so far. **Pathogens**. 2020. DOI: 10.3390/pathogens9030231. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32245083/>. Acesso em: 6 set. 2020.

RAMOS-LOPEZ, O. *et al.* Exploring host genetic polymorphisms involved in SARS-CoV infection outcomes: Implications for personalized medicine in covid-19. **International Journal of Genomics**, 2020. DOI: 10.1155/2020/6901217. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/6901217>. Acesso em: 6 set. 2020.

RASTOGI, L. *et al.* Reverse triiodothyronine (rT3) attenuates ischemia-reperfusion injury. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 506, n. 3, p. 597–603, 2018.

RICO-MESA, J. S.; WHITE, A.; ANDERSON, A. S. Outcomes in Patients with COVID-19 Infection Taking ACEI/ARB. **Current Cardiology Reports**. v. 22, n. 5, p. 1–4, 2020.

ROCHE, J. A.; ROCHE, R. A hypothesized role for dysregulated bradykinin signaling in COVID-19 respiratory complications. **The FASEB Journal**. v. 34, n. 6, p. 7265–7269, 2020.

ROTONDI, M. *et al.* Detection of SARS-COV-2 receptor ACE-2 mRNA in thyroid cells: a clue for COVID-19-related subacute thyroiditis. **Journal of Endocrinological Investigation**. 2020. DOI: 10.1007/s40618-020-01436-w. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7538193/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32237212/). Acesso em: 24 mar. 2021.

RYAN, D. H.; RAVUSSIN, E.; HEYMSFIELD, S. COVID 19 and the Patient with Obesity – The Editors Speak Out. **Obesity (Silver Spring, Md.)**. 2020. DOI: 10.1002/oby.22808. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32237212/>. Acesso em: 6 set. 2020.

SIMONIDES, W. S. *et al.* Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats. **Journal of Clinical Investigation**. v. 118, n. 3, p. 975–983, 2008.

TAYLOR, A. *et al.* The novel roles of choline transporter-like 1 and 2 in ethanolamine transport. **BioRxiv**. 2020. DOI: 10.1101/2020.08.27.270223. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.08.27.270223v1>. Acesso em: 15 set. 2021.

TRIMBOLI, P. et al. Thyroid sequelae of COVID-19: a systematic review of reviews. **Reviews in endocrine & metabolic disorders**. v. 22, n. 2, p. 485–491, 2021.

VAN DEN BERGHE, G. Non-thyroidal illness in the ICU: A syndrome with different faces. **Thyroid**. v. 24, n. 10, p. 1456–1465, 2014.

VERLOOP, H. *et al.* Genetics in endocrinology: Genetic variation in deiodinases: A systematic review of potential clinical effects in humans. **European Journal of Endocrinology**. 2014. DOI: 10.1530/EJE-14-0302. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24878678/>. Acesso em: 24 maio. 2021.

WANG, W.; YE, YX; YAO, H. Evaluation and observation of serum thyroid hormone and parathyroid hormone in patients with severe acute respiratory syndrome. **J Chin Antituberculous Assoc**. 2003. Disponível em: [https://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-ZFLZ200304012.htm](https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-ZFLZ200304012.htm). Acesso em: 3 set. 2021.

WEI, L. *et al.* Pathology of the thyroid in severe acute respiratory syndrome. **Human Pathology**. v. 38, n. 1, p. 95–102, 2007.

WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data. 2021. **WHO**. 2021. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 21 set. 2021.

WOOLF, S. H. et al. Excess Deaths From COVID-19 and Other Causes in the US, March 1, 2020, to January 2, 2021. **JAMA**, v. 325, n. 17, p. 1786–1789.

XIONG, Y. *et al.* Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. **Emerging Microbes and Infections**. v. 9, n. 1, p. 761–770, 2020.

YE, Q. *et al.* Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. **Journal of Medical Virology**. 2020. DOI: 10.1002/jmv.25813. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32237160/>. Acesso em: 6 set. 2020.

ZEISER, F. A. et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 6, p. 100107, 2022.

ZHANG, K. *et al.* A Family-based Association Study of DIO2 and children mental retardation in the Qinba region of China. **Journal of Human Genetics**. v. 57, n. 1, p. 14–17, 2012.

ZHU, N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**. v. 382, n. 8, p. 727–733, 2020.

ZOU, R. *et al.* Euthyroid Sick Syndrome in Patients With COVID-19. **Frontiers in Endocrinology**. v. 11, p. 566439, 2020.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A – ARTIGO I

**Os níveis de hormônio tireoidiano durante a internação hospitalar informam a  
gravidade e mortalidade da doença em pacientes com COVID-19**

---

Artigo foi submetido ao Periódico **Thyroid**

ISSN: 1050-7256, Fator de impacto: 6,56

## Thyroid Hormone Levels During Hospital Admission Inform Disease Severity and Mortality in COVID-19 Patients

Fabyan Esberard de Lima Beltrão,<sup>1-3</sup> Daniele Carvalhal de Almeida Beltrão,<sup>3</sup> Giulia Carvalhal,<sup>4,1</sup> Fabricia Elizabeth de Lima Beltrão,<sup>3</sup> Amanda da Silva Brito,<sup>1</sup> Kamilla Helen Rodrigues da Capistrano,<sup>2</sup> Isis Henriques de Almeida Bastos,<sup>5</sup> Fabio Hecht,<sup>6</sup> Carla Hilário da Cunha Daltro,<sup>5,7</sup> Antonio Carlos Bianco,<sup>8,11</sup> Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves,<sup>2</sup> and Helton Estrela Ramos<sup>5,9,10,11</sup>

**Background:** Illness severity in patients infected with COVID-19 is variable.

**Methods:** Here, we conducted an observational, longitudinal, and prospective cohort study to investigate serum thyroid hormone (TH) levels in adult COVID-19 patients, admitted between June and August 2020, and to determine whether they reflect the severity or mortality associated with the disease.

**Results:** Two hundred forty-five patients [median age: 62 (49–75) years] were stratified into non-critical (181) and critically ill (64) groups. Fifty-eight patients (23.6%) were admitted to the intensive care unit, and 41 (16.7%) died. Sixteen (6.5%) exhibited isolated low levels of free triiodothyronine (fT3). fT3 levels were lower in critically ill compared with non-critical patients [fT3: 2.82 (2.46–3.29) pg/mL vs. 3.09 (2.67–3.63) pg/mL,  $p=0.007$ ]. Serum reverse triiodothyronine (rT3) was mostly elevated but less so in critically ill compared with non-critical patients [rT3: 0.36 (0.28–0.56) ng/mL vs. 0.51 (0.31–0.67) ng/mL,  $p=0.001$ ]. The univariate logistic regression revealed correlation between in-hospital mortality and serum fT3 levels (odds ratio [OR]: 0.47; 95% confidence interval [CI] 0.29–0.74;  $p=0.0019$ ), rT3 levels (OR: 0.09; [CI] 0.01–0.49;  $p=0.006$ ) and the product fT3 × rT3 (OR: 0.47; [CI] 0.28–0.74;  $p=0.0026$ ). Serum thyrotropin, free thyroxine, and fT3/rT3 values were not significantly associated with mortality and severity of the disease. A serum cutoff level of fT3 ( $\leq 2.6$  pg/mL) and rT3 ( $\leq 0.38$  ng/mL) was associated with 3.46 and 5.94 OR of mortality, respectively. We found three COVID-19 mortality predictors using the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC score): serum fT3 (AUC=0.66), rT3 (AUC=0.64), and the product of serum fT3 × rT3 (AUC=0.70). Non-thyroidal illness syndrome (fT3 < 2.0 pg/mL) was associated with a 7.05 OR of mortality ([CI] 1.78–28.3),  $p=0.005$ ) and the product rT3 × fT3  $\leq 1.29$  with an 8.08 OR of mortality ([CI] 3.14–24.2),  $p < 0.0001$ ).

**Conclusions:** This prospective study reports data on the largest number of hospitalized moderate-to-severe COVID-19 patients and correlates serum TH levels with illness severity, mortality, and other biomarkers to critical illness. The data revealed the importance of early assessment of thyroid function in hospitalized patients with COVID-19, given the good prognostic value of serum fT3, rT3, and fT3 × rT3 product. Further studies are necessary to confirm these observations.

**Keywords:** COVID-19, free T3, reverse T3, SARS-CoV-2, thyroid, thyroid hormones

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Lauro Wanderley University Hospital, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

<sup>2</sup>Post-Graduation Program in Nutritional Sciences, Department of Nutrition, Center for Health Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, João Pessoa, Brazil.

<sup>4</sup>Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Campina Grande, Campina Grande, Brazil.

<sup>5</sup>Post-Graduate Program in Medicine and Health, Medical School of Medicine; <sup>7</sup>Department of Nutrition Sciences; <sup>9</sup>Postgraduate Program in Interactive Processes of Organs and Systems, Health & Science Institute; <sup>10</sup>Bioregulation Department, Health and Science Institute; Federal University of Bahia, Salvador, Brazil.

<sup>6</sup>The Institute of Biophysics Carlos Chagas Filho, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>8</sup>Section of Endocrinology and Metabolism, Division of the Biological Sciences, University of Chicago, Chicago, Illinois, USA.

<sup>11</sup>ORCID ID (<https://orcid.org/0000-0003-3386-5855>).

<sup>11</sup>ORCID ID (<https://orcid.org/0000-0001-7737-6813>).

<sup>11</sup>ORCID ID (<https://orcid.org/0000-0002-2900-2099>).

## Introduction

**S**ARS-CoV-2 IS THE ETIOLOGIC AGENT of a syndrome that mostly affects the respiratory system, first detected in Wuhan, China, in December 2019 (1). Patients with COVID-19, particularly those with advanced age, diabetes, and/or hypertension, exhibited overcritical health status at admission, with death occurring within two to three weeks after disease onset (2–6). While most patients developed non-thyroidal illness syndrome (NTIS), and some subacute thyroiditis (SAT), it is not clear whether serum thyroid hormone (TH) reflects or impacts the severity or mortality associated with the disease (7–10).

The SARS-CoV-2 spike protein uses the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2) as a receptor and thyroid surgical specimens have a high level of ACE-2 mRNA, making it a potential target for the SARS-COV-2 (11). In May 2020, the first SAT case after a SARS-CoV-2 infection was reported (12). A subsequent study that analyzed fifty COVID-19 patients' records found that 56% had low thyrotropin (TSH) serum levels and that the decreases in TSH and total triiodothyronine levels correlated positively with the severity of the disease. These abnormal thyroid function parameters are suggestive of NTIS (13). In another study, 85 COVID-19 patients admitted to the intensive care unit (ICU) had clinical SAT sign, and 15% had suppressed serum TSH and elevated free thyroxine (fT4) levels (14).

Just as with any other severe illness, TH levels may be abnormal in COVID-19 patients, with predominantly a reduction in serum triiodothyronine (T3) (serum thyroxine [T4], may be decreased as well) and an elevation in reverse triiodothyronine (rT3) levels (15–19). This combination in the setting of a life-threatening disorder that depends on the support of vital organ function is known as NTIS. The reduction in serum T3 levels is due to decreased thyroidal secretion and slower conversion of T4 to T3, whereas the elevation in rT3 levels is usually caused by a slower clearance rate and, in some cases, accelerated inner ring deiodination of T4 (16). These changes in TH economy might have a

decisive role in the earliest phase of critical illness and routinely reflect the illness' severity (7,8,10,15). In the case of COVID-19 patients, the drop in serum T3 could also have prognostic function given that T3 modulates lung function and alveolar drainage (20–22), and cellular immunity (17,23).

In the specific case of COVID-19 patients, the increased levels of cytokines and glucocorticoids, from either endogenous or exogenous sources, are potential mediators of thyroid axis suppression (24). Indeed, it has been reported that in COVID-19 patients there is an association between low free triiodothyronine (fT3) and disease severity, 28-day mortality rate, and hospitalization expenses in ICU (8–10). However, these studies were limited by the small cohort size, criteria definition for NTIS, for being retrospective analyses, and inconsistency as to when thyroid function tests were obtained (25–27).

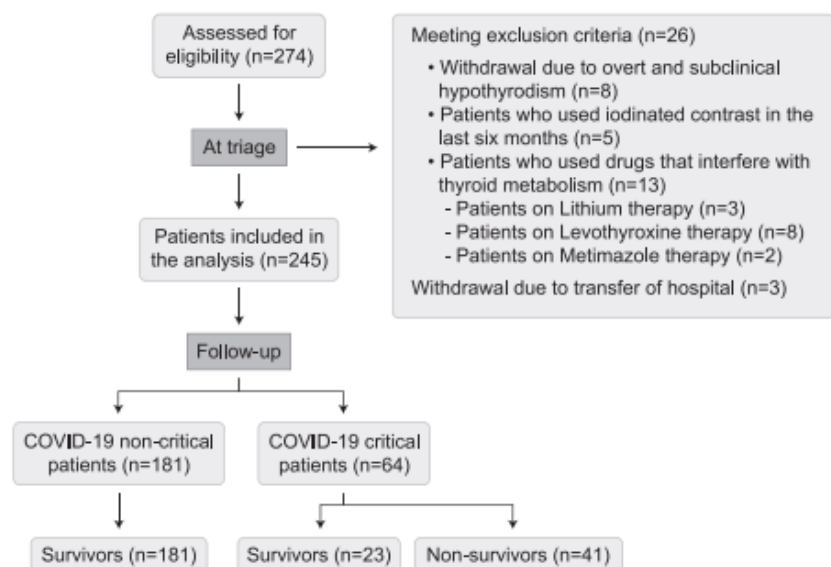
While the COVID-19 epidemic in Brazil grows, details of its clinical characteristics remain poorly understood. Early recognition of patients at a high risk of developing serious illness is essential to improve disease outcomes (28,29). Here, we investigated changes in TH economy and the incidence of NTIS in SARS-CoV-2 patients admitted to a tertiary hospital and whether there is an association between TH levels with serum pro-inflammatory biomarkers and COVID-19 severity and mortality.

## Methods

### Subjects and data collection

An observational, longitudinal, and prospective cohort study was conducted between June and August 2020, and we enrolled 245 consecutive patients with confirmed COVID-19 admitted to the Metropolitan Hospital Dom José Maria Pires, a tertiary referral hospital in João Pessoa, Paraíba, Brazil (Fig. 1). A written consent form was obtained from the participants or legal representative. The study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Lauro Wanderley University Hospital (CAAE:31562720.9.0000.5183).

**FIG. 1.** Flowchart of the study.



#### Inclusion and exclusion criteria

All patients tested positive for SARS-CoV-2 using the quantitative real-time reverse-transcriptase-polymerase chain reaction (rRT-qPCR) with samples from the respiratory tract and, in cases of negative rRT-qPCR, using clinical, radiological (ground-glass opacities, with or without consolidation, located near visceral pleural surfaces, and multifocal bilateral distribution—CO-RADS 5) (30), and serological (IgG positive for SARS-CoV-2) criteria. The rRT-PCR kit used Biomol OneStep/COVID-19, IBMP, Paraná, Brazil. Patients with a history of thyroid disease, diagnosis of pregnancy, and who used iodinated contrast in the past six months or drugs that interfere with thyroid metabolism were excluded.

#### Outcomes

The primary goal of the study was to determine the incidence of NTIS (serum fT3 levels <2.0 pg/mL, fT4 and TSH levels within or below the normal reference ranges) in consecutive SARS-CoV-2 patients admitted to a tertiary hospital specialized in COVID-19. Additional exploratory analyses to study the predictive value of NTIS and serum TH levels were collected during the first 48 hours of admission, for disease severity and patient mortality.

#### Procedures

The detailed clinical information of each patient was obtained by physicians using a standard questionnaire. Two severity scoring systems were used on admission: (i) the quick Sepsis-related Organ Failure Assessment, (ii) the National Early Warning Score 2. Patients underwent chest computed tomography (CT) at hospital admission to investigate a suspected SARS-CoV-2 pneumonia. In all cases, a semi-quantitative CT severity score proposed by Pan *et al.* (31) was calculated for each of the five lobes, considering the extent of anatomical involvement.

All cases were divided into two clinical classifications: severe and critical. Severe (non-critical) cases were classified for patients who met any of the following criteria: respiratory rate >30 cycles/min, oxygen saturation <93% at rest, partial arterial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>)/concentration of oxygen (FiO<sub>2</sub>) <300 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), and extent of lung injury (ground-glass opacity) estimated >50%. Critical cases were considered for patients who meet any of the following criteria: manifestation of respiratory failure requiring mechanical ventilation, presence of shock, and other organic failures that need follow-up and treatment in an ICU. For patients who met the inclusion criteria, blood samples were collected before interventions or therapy that could potentially interfere or alter TH or cytokines serum levels, always performed within the first 48 hours of admission.

#### Serum biochemistry

The complete blood cells count, and measurement of the lymphocyte and neutrophils subpopulations were measured by using a hematological analyzer MEK-7300 (Nihon Kohden®, Tokyo, Japan). Alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase, creatinine, high-sensitive C-reactive protein (CRP), D-dimer and lactate dehydrogenase (LDH), thyroid function (fT3, fT4, rT3, TSH), thyroglobulin, anti-thyroid peroxidase antibodies, interleukin 6 (IL-6), and

ferritin were measured by chemiluminescence immunoassay (MAGLUMI-2000-PLUS; Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Shenzhen, China) according to the manufacturer's protocol.

#### Statistical analyses

A statistical power analysis was performed for sample size estimation. The effect size in this study was conservatively selected at the  $f^2=0.10$ . With an  $\alpha=0.05$  and power=0.95, the projected sample size needed with this effect size using GPower 3.1.9.7 is approximately  $N=158$  for a linear regression analysis with two predictors. Thus, our sample size of 245 was more than adequate for the primary outcome of this study and should also allow for expected attrition. The data were expressed as median  $\pm$  interquartile range. Mann-Whitney, Chi-square, or Fisher's test were used for non-parametric variables. To assess the relative risk of mortality, we used univariate and multivariate logistic regression. We evaluated each variable as a potential biomarker by using receiver operating characteristic (ROC) curves. The significance level of  $p < 0.05$  was accepted as statistically significant. The statistical program GraphPad Prism, v.7.00 (2016), was used to perform statistical tests.

#### Results

Two hundred seventy-four adult patients consecutively admitted with COVID-19 were considered for potential enrollment in the study, and after assessment of inclusion and exclusion criteria, 245 were enrolled (Fig. 1). The median age was 62 (49–74.5) years, and 145 patients (59.1%) were males. The average hospital stay was 8.3 days. Fifty-eight patients (23.6%) were admitted to the ICU, of whom 41 (16.7%) later died. Table 1 summarizes baseline sociodemographic and clinical characteristics.

#### TH levels

On admission (first 48 hours), 54 (22.0%) patients presented with normal serum TSH, fT3, fT4 and rT3 levels. The remaining 191 patients exhibited multiple alterations in TH levels, which could be stratified in two major groups: (i) 154 (62.8%) patients with elevated serum rT3 levels, of whom 31 and 18 also had elevated or reduced serum fT4 levels, respectively; (ii) 18 individuals with isolated high serum fT4 levels (Fig. 2A, B). A smaller number of individuals ( $n=16$ ) exhibited low serum fT3 levels associated with fT4 and TSH levels within or lower than normal range, which were in most cases ( $n=11$ ) associated with high serum rT3 levels. Lastly, there were 15 individuals with suppressed serum TSH and elevated serum rT3 levels (Fig. 2). None of the patients enrolled exhibited clinical signs of hypothyroidism or thyrotoxicosis.

The utilization of clinical and biochemical criteria led us to stratify all 245 patients, within the first 48 hours, into 181 non-critical and 64 critically ill patients (Table 2). Whereas serum TSH and fT4 serum levels were similar in both groups, critically ill patients exhibited lower serum fT3 and high-normal rT3 levels, which, although elevated, were not as high as compared with non-critical patients (Fig. 3 and Table 2).

TABLE 1. DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE COHORT IN PATIENTS NON-CRITICAL AND CRITICAL AND THEIR ASSOCIATION WITH MORTALITY

Variable	Total (n=245)	Severity		p	Mortality		p
		Non-critical (n=181)	Critical (n=64)		Survivor (n=204)	Non-survivor (n=41)	
Age (years), median (IQR)	62 (49–74.5)	62 (49–74)	63.5 (50–75)	0.2981	62 (49–73.7)	63 (49–76.5)	0.298
Age >60 years, n (%)	133 (54.3)	94 (52)	39 (60.9)	0.2441	109 (53.4)	24 (58.5)	0.6084
Sex male, n (%)	145 (59.1)	109 (60)	36 (56.2)	0.6574	122 (59.8)	23 (56.1)	0.7285
Comorbidities, n (%)							
Hypertension	163 (66.5)	116 (64)	47 (73.4)	0.2177	135 (66.1)	28 (68.3)	0.857
Diabetes mellitus	107 (44.6)	76 (41.9)	31 (48.4)	0.3829	87 (42.6)	20 (48.7)	0.4939
Cardiopathy	34 (13.8)	27 (14.9)	7 (10.9)	0.5305	32 (15.7)	2 (4.8)	0.0828
Neoplasia	2 (0.8)	1 (0.5)	1 (1.5)	0.4550	1 (0.5)	1 (2.4)	0.3073
Chronic pneumopathy	11 (4.4)	10 (5.5)	1 (1.5)	0.2970	10 (4.9)	1 (2.4)	0.6964
Positivity for TPOAb	28 (11)	19 (10.5)	8 (12.5)	0.6473	22 (10.8)	5 (12.2)	0.7860
Complications							
Use of vasoactive drugs, n (%)	30 (12.2)	1 (0.5)	29 (45.3)	<0.0001	5 (2.4)	25 (61)	<0.0001
Length of hospital stay (days), median (IQR)	6 (4–10)	5 (4–7)	11 (7.25–17)	<0.0001	6 (4–8)	13 (8–17)	<0.0001
ICU admission, n (%)	58 (23.6)	0 (0)	59 (90.6)	<0.0001	23 (11.2)	35 (85.3)	<0.0001
Scores systems, median (IQR)							
NEWS2 score	6 (5–7)	6 (4–7)	5 (5–7)	0.3610	6 (4–7)	6 (5–7.5)	0.3122
qSOFA score	1 (1–1)	1 (1–1)	1 (1–1)	0.3547	1 (1–1)	1 (1–1)	0.1716
CT COVID score	20 (15–20)	20 (15–20)	20 (15–20)	0.1051	20 (15–20)	20 (15–20)	0.0619
Thyroid function tests, n (%)							
Low TSH and/or high fT4	67 (27.3)	52 (28.7)	15 (23.4)	0.5143	57 (27.9)	10 (24.4)	0.7050
High thyroglobulin	13 (5.3)	11 (6.1)	2 (3.1)	0.5232	12 (5.9)	1 (2.4)	0.7013
NTIS	16 (6.5)	9 (5)	7 (10.9)	0.136	9 (4.4)	7 (17)	0.008
High rT3	154 (62.8)	121 (66.8)	33 (51.5)	0.035	131 (64.2)	12 (29.2)	<0.0001
Low fT3+high rT3	12 (4.9)	7 (3.8)	5 (7.8)	0.3085	7 (3.4)	5 (12.2)	0.033

Low TSH = TSH <0.4 mIU/L; high fT4 = fT4 >1.7 ng/dL; high thyroglobulin = thyroglobulin >59.9 ng/mL; NTIS = serum fT3 levels <2.0 pg/mL, fT4, and TSH levels within or lower than the normal ranges at diagnosis; high rT3 = rT3 >0.35 ng/mL. Mann–Whitney test was performed for continuous variables (age, NEWS2, qSOFA and CT COVID score) while Fisher's exact test was performed for all other variables.

CT, computed tomography; fT3, free triiodothyronine; fT4, free thyroxine; ICU, intensive care unit; IQR, interquartile range; NEWS2, National Early Warning Score 2; NTIS, non-thyroidal illness syndrome; qSOFA, quick Sepsis Related Organ Failure Assessment; rT3, reverse triiodothyronine; TPOAb, thyroperoxidase antibodies; TSH, thyrotropin.

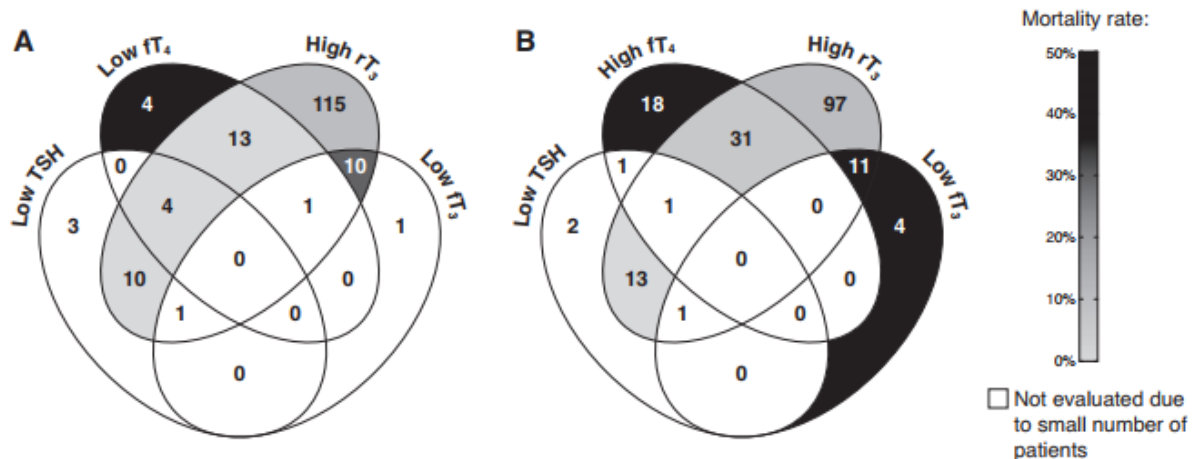


FIG. 2. Venn diagram with the main TH levels alterations distribution observed in 191 COVID-19 hospitalized patients with abnormal results at admission and relationship with disease mortality rate. (A) With low fT<sub>4</sub>, low TSH, high rT<sub>3</sub> and low fT<sub>3</sub>; (B) With high fT<sub>4</sub>, low TSH, high rT<sub>3</sub> and Low fT<sub>3</sub>. Low TSH, TSH <0.4 mIU/L; high fT<sub>4</sub>, low fT<sub>4</sub>, fT<sub>4</sub> <0.89 ng/dL; low fT<sub>3</sub>, fT<sub>3</sub> <2.0 pg/mL; high rT<sub>3</sub>, rT<sub>3</sub> >0.35 ng/mL. fT<sub>3</sub>, free triiodothyronine; fT<sub>4</sub>, free thyroxine; rT<sub>3</sub>, reverse triiodothyronine; TH, thyroid hormone; TSH, thyrotropin.

TABLE 2. VARIABLES MEASURED IN NON-CRITICAL AND CRITICAL AND THEIR ASSOCIATION WITH MORTALITY

Parameters (normal range)	Mann-Whitney test severity						Univariate logistic regression mortality			
	Total		Non-critical		Critical		p	OR	[CI]	p
	N	Median (IQR)	N	Median (IQR)	N	Median (IQR)				
TSH (0.4–5.8 $\mu$ U/mL)	245	1.69 (0.97–3.00)	181	1.62 (0.90–3.00)	64	1.76 (1–2.50)	0.863	0.958	[0.776–1.156]	0.676
fT4 (0.89–1.72 ng/dL)	245	1.34 (1.05–1.68)	181	1.34 (1.05–1.70)	64	1.34 (1.01–1.55)	0.371	0.855	[0.435–1.619]	0.641
fT3 (2.0–4.2 pg/mL)	245	2.98 (2.64–3.53)	181	3.09 (2.67–3.63)	64	2.82 (2.46–3.29)	0.007	0.476	[0.293–0.749]	0.0019
rT3 (0.1–0.35 ng/mL)	245	0.49 (0.30–0.66)	181	0.51 (0.31–0.67)	64	0.36 (0.28–0.56)	0.001	0.099	[0.017–0.492]	0.0068
fT3 $\times$ rT3 (0.2–1.47)	245	1.32 (0.82–2.13)	181	1.46 (0.86–2.26)	64	0.99 (0.70–1.65)	0.003	0.475	[0.281–0.744]	0.0026
fT3/rT3 ratio (5.7–42)	245	6.61 (4.70–9.84)	181	6.35 (4.70–9.72)	64	6.92 (4.73–10.38)	0.402	1.016	[0.964–1.063]	0.5039
Thyroglobulin (1.59–59.9 ng/mL)	245	15.2 (6.4–28.4)	181	16 (6.5–27.6)	64	13.3 (5.35–31.3)	0.565	0.995	[0.980–1.006]	0.5037
IL-6 (<3.4 pg/mL)	244	49.1 (21.3–93.2)	180	48.2 (19.8–84.2)	64	56.4 (32.7–124.2)	0.145	0.999	[0.998–1.000]	0.7624
D-dimer (<500 ng/mL)	241	785.4 (497–1628)	179	760.2 (488.5–1339)	64	1038 (536–3529)	0.025	1.000	[0.999–1.000]	0.0111
LDH (207–414 U/L)	234	743 (549–1013)	172	715.5 (548–973)	62	839 (559–1253)	0.011	1.001	[1.000–1.002]	0.0023
Albumin (3.5–5.5 g/dL)	245	3.3 (2.9–3.6)	181	3.3 (3–3.7)	64	3.3 (2.7–3.6)	0.020	0.387	[0.195–0.744]	0.0052
CRP (<5.0 mg/dL)	223	85.2 (37.6–151)	162	68.3 (34.7–139.1)	61	139.7 (45.7–178.5)	0.007	1.010	[1.005–1.016]	0.0004
ALT (8–42 U/L)	238	61.0 (39–101.3)	175	67.0 (42.0–105.0)	63	49.0 (32.0–94.0)	0.019	0.994	[0.987–1.000]	0.1204
AST (8–42 U/L)	238	54.0 (38.7–81.2)	175	54.0 (39.0–81.0)	63	52.0 (38.0–84.0)	0.839	0.997	[0.989–1.003]	0.4375
Creatinine (0.7–1.2 mg/dL)	237	1.1 (0.89–1.37)	177	1.1 (0.9–1.36)	60	1.09 (0.86–1.41)	0.834	1.025	[0.777–1.207]	0.7732
Neutrophil (1935–6700 $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	245	7371 (5221–9561)	181	6768 (5057–8977)	64	8740 (6399–11199)	0.0004	1.000	[1.000–1.000]	0.060
N/L ratio (1–3)	245	9.11 (6.04–14.5)	181	8.5 (5.28–13.7)	64	10.8 (8.23–17.6)	0.001	1.064	[1.018–1.114]	0.0059
Hemoglobin (13.5–18 g/dL)	245	13.4 (12.3–14.4)	181	13.5 (12.4–14.5)	66	13.1 (11.7–14.1)	0.077	0.799	[0.667–0.955]	0.0136

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; 95% CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin 6; N/L ratio, neutrophil-lymphocyte ratio; OR, odds ratio.

### Clinical outcome

Of the 245 enrolled patients, 41 patients died of COVID-19 complications about 13 days later. This is in contrast with the group of survivors who were discharged about six days after admission (Table 1). Based on these numbers, we asked how well different clinical and biochemical parameters obtained in the first 48 hours of admission predicted the clinical outcome. The parameters included length-of-stay, ICU admission, CT COVID score, use of vasoactive drugs, and unspecific markers of inflammation (Tables 1 and 2). We used univariate logistic regression analysis and found that among the 11 markers of inflammation, tissue damage, or blood count parameters, 8 were predictors of disease severity and prognosis of mortality: IL-6, D-dimer, LDH, albumin, CRP, neutrophils, neutrophil-lymphocyte ratio, and hemoglobin ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3). The Fisher's exact test confirmed higher mortality risk for all these same markers (Tables 2 and 3).

Next, we asked whether TH levels obtained on admission could predict clinical outcomes and, if so, how well they compared with the classical predictors assessed above. Using the univariate logistic regression, serum levels of  $ft3$ ,  $rT3$  and the product  $ft3 \times rT3$  showed strong correlation with disease severity and prognosis of mortality (Table 2). Unexpectedly, the  $ft3/rT3$  ratio did not yield statistically significant predictive power (Table 2). Figure 4A shows TSH,  $ft4$ ,  $ft3$ ,  $rT3$ , and  $ft3 \times rT3$  results among survivor and non-survivor patients. We also plotted an ROC curve, to calculate the mortality predictive power of each parameter. The top parameters based on the area under the curve (AUC  $> 0.65$ ) were the product  $ft3 \times rT3$ , followed by N/L ratio, CRP, neutrophil count, and serum  $ft3$  (Table 3 and Fig. 4B). Next, using the cutoff value for each parameter we calculated the odds ratio (OR) of mortality using the Fisher's exact test. The parameters with top ORs included the product  $ft3 \times rT3$ , followed by CRP, neutrophil count, serum  $ft3$  and N/L ratio (Table 3). Notably, some parameters with a low ROC AUC exhibited a significant OR of mortality, that is, serum  $rT3$ , IL-6, albumin, and D-dimer (Table 3).

We next used univariate and multivariate regression analysis to calculate the mortality OR by using cutoff values obtained from the ROC curve (Table 4). Whereas serum TSH,  $ft4$ , and  $ft3/rT3$  values did not yield a significant OR, we observed that serum  $ft3$ ,  $rT3$ , and  $ft3 \times rT3$  yielded highly significant ORs (Table 4). We noticed that the calculated cutoff value for serum  $ft3$ —based on the ROC curve—was 2.6 pg/mL, which is within the normal reference range of the method used. Thus, we recalculated the univariate regression analysis by using 2.0 pg/mL (the lower limit of normal), and we obtained an even higher OR for mortality. These analyses were followed by a multivariate logistic regression analysis, which corrects the OR based on eight co-variables (Table 4). The resulting ORs were higher and followed the same pattern observed for the univariate analysis.

Next, the mortality rates was bubble plotted considering the  $rT3$  and  $ft3$  serum levels. It is notable that survival and shorter

length of stay segregated with normal serum T3 and  $rT3$  levels, whereas mortality and longer length of stay segregated with high serum  $rT3$  levels (Fig. 4C). A bar graph of the same data also illustrates these points (Fig. 4D). In addition, Figure 4E–I show differences in TSH,  $ft4$ ,  $ft3$ ,  $rT3$ , and  $ft3 \times rT3$  values among survivor and non-survivor patients.

### Discussion

To our knowledge, this is the largest prospective study of hospitalized patients with COVID-19 whose TH serum levels were assessed, including serum TSH,  $ft4$ ,  $ft3$ ,  $rT3$ , and Tg levels. An elevation in serum  $rT3$  levels was the most frequent alteration observed in these patients ( $\sim 63\%$ ), followed by high serum  $ft4$  ( $\sim 21\%$ ) and low serum TSH levels ( $\sim 7.3\%$ ). Unexpectedly, NTIS were only observed in  $\sim 6.5\%$  patients. No patients exhibited clinical signs or symptoms of SAT, despite that 5.3% of patients exhibited an elevation in serum Tg levels. Remarkably, serum  $ft3$ ,  $rT3$  and the product  $ft3 \times rT3$  exhibited substantial predictive value for disease severity and mortality, with the product  $ft3 \times rT3$  performing slightly better than classical parameters such as D-dimer, LDH, albumin, CRP, ALT, neutrophil count, neutrophil/lymphocyte (N/L) ratio, and hemoglobin levels.

Only two studies (total of 482 patients) (10,32) prospectively investigated the hypothesis that serum TH levels in COVID-19 patients could serve as biomarkers of maladaptive response and unfavorable outcomes. In one study, a cohort of 367 Chinese mild-to-moderate COVID-19 patients revealed that 16.9% of patients had abnormal thyroid function test. Serum  $rT3$  was not evaluated, but serum  $ft3$  was obtained in 367 patients and NTIS was identified in 27 (7.4%) patients, although 75.2% had mild disease (10). More recently, an Italian longitudinal prospective observation study of severely ill COVID-19 patients found that 20 of 115 patients (9%) had low serum  $ft3$  levels (32). Notably, both studies concluded that reduced  $ft3$  serum levels are associated with adverse outcomes, for example, inflammatory response, but the impact of the studies was limited by the small sample size, the lack of statistical power, the predominance of mild or severe-illness, and the presence of confounders such as treatment drugs (Table 5) (10,32).

Indeed, Chen *et al.* retrospectively observed that COVID-19 patients who died had lower serum  $ft3$  levels on admission (33). Guo *et al.* recently reported  $ft3$  serum levels as a possible prognostic marker of mortality with AUC = 0.863 in 121 critically ill patients with COVID-19 (27). Another retrospective study of 287 patients identified a 20.2% prevalence of TSH below the reference range ( $< 0.33$  mU/L) and an inverse correlation between TSH and IL-6 ( $r = -0.41$ ;  $p < 0.001$ ). However,  $ft3$  and  $ft4$  levels were measured only in 73 patients among the 287 included (34). Recently, in a retrospective study, Lang *et al.* (35) evaluated 127 hospitalized patients and low T3 levels ( $< 3.1$  pmol/L) in the univariate Cox regression

**FIG. 3.** TH levels, biochemical and hemocromocytometric parameters in 245 critically and non-critically ill COVID-19 hospitalized patients during the first 48 hours of admission. Gray areas in plots represent normal reference ranges. Statistics used: Mann-Whitney test. ALT, alanine transaminase; Anti-TPO, anti-thyroid peroxidase; AST, aspartate transaminase; CRP, C-reactive protein;  $ft3 \times rT3$ , the product of  $ft3$  and  $rT3$ ; IL-6, interleukin 6; LDH, lactate dehydrogenase; N/L ratio, neutrophil-lymphocyte ratio.

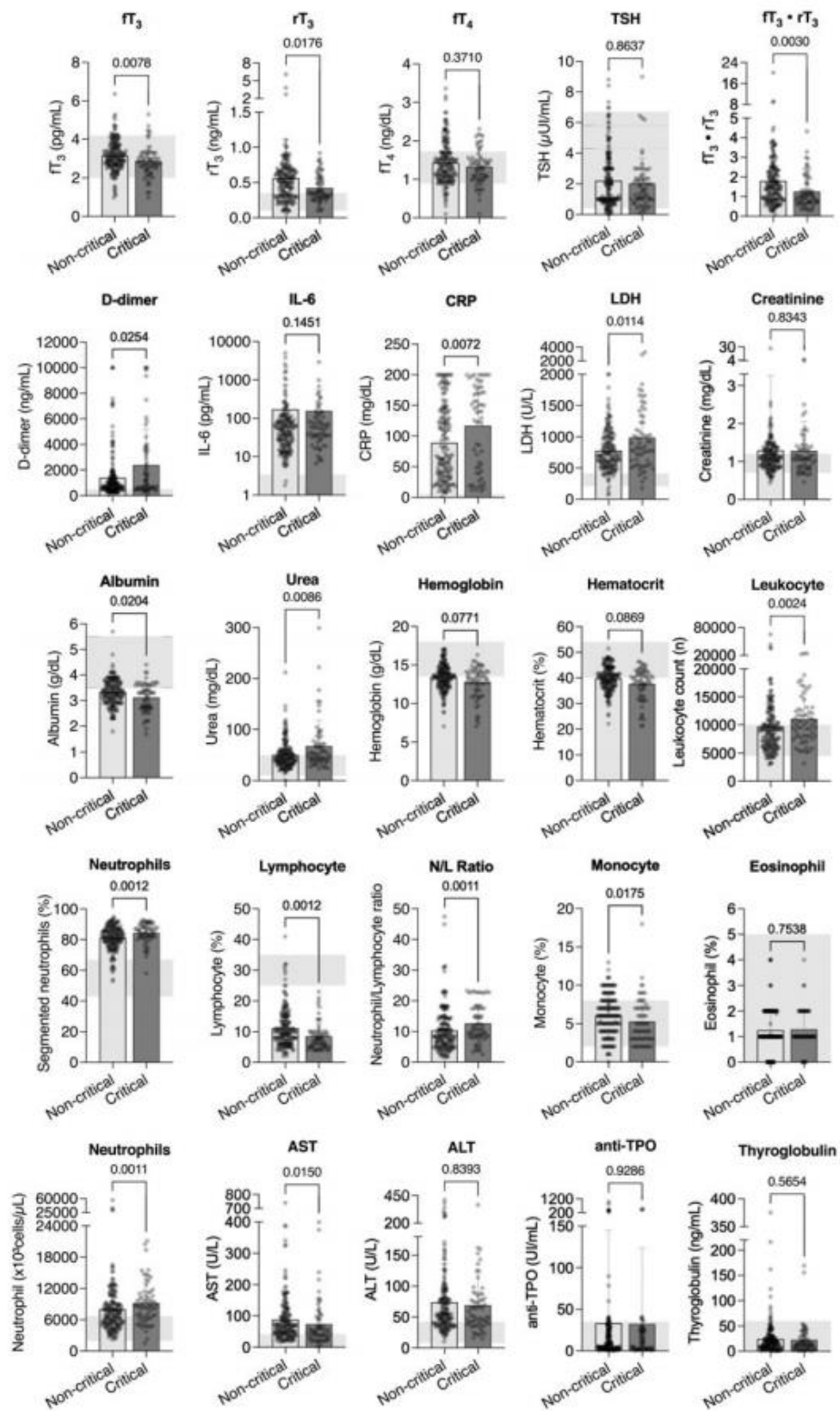


TABLE 3. VARIABLES ANALYZED AS POTENTIAL BIOMARKERS FOR MORTALITY: RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC CURVE

Variable	ROC curve		Risk factor cutoff characterization				Fisher's exact test		
	AUC	[CI]	Cutoff	Sensitivity	Specificity	p	OR	[CI]	p
TSH ( $\mu$ IU/mL)	0.50	[0.41–0.59]	$\geq 1.91$	0.51	0.53	0.98	1.20	[0.62–2.33]	0.61
fT4 (ng/dL)	0.51	[0.41–0.60]	$\leq 1.27$	0.46	0.56	0.95	1.11	[0.56–2.14]	0.86
fT3 (pg/mL)	0.66	[0.56–0.75]	$\leq 2.6$	0.46	0.80	0.0013	3.54	[1.69–7.24]	0.0006
rT3 (ng/mL)	0.64	[0.55–0.73]	$\leq 0.38$	0.71	0.64	0.0045	4.43	[2.18–9.05]	<0.0001
fT3 $\times$ rT3	0.69	[0.60–0.78]	$\leq 1.29$	0.80	0.57	<0.0001	5.43	[2.41–11.6]	<0.0001
fT3/rT3 ratio	0.54	[0.44–0.64]	$\geq 7.52$	0.53	0.62	0.51	1.95	[1.01–3.85]	0.056
IL-6 (pg/mL)	0.60	[0.51–0.70]	$\geq 130$	0.34	0.87	0.03	3.55	[1.70–7.44]	0.0019
D-dimer (ng/mL)	0.59	[0.49–0.70]	$\geq 1230$	0.52	0.70	0.057	2.59	[1.30–5.26]	0.0095
CRP (mg/dL)	0.67	[0.58–0.77]	$\geq 120$	0.70	0.65	0.0004	4.41	[2.13–9.15]	<0.0001
LDH (U/L)	0.63	[0.53–0.74]	$\geq 714$	0.74	0.48	0.006	2.69	[1.26–5.57]	0.0128
Albumin (g/dL)	0.62	[0.52–0.72]	$\leq 2.85$	0.42	0.83	0.0147	3.77	[1.89–7.87]	0.0006
Neutrophil ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	0.67	[0.58–0.76]	$\geq 8.185$	0.68	0.65	0.0003	4.03	[2.02–7.95]	<0.0001
N/L ratio	0.68	[0.59–0.77]	$\geq 10.5$	0.63	0.63	0.0002	2.98	[1.53–5.93]	0.002

AUC, area under the curve; LDH, lactate dehydrogenase; ROC, receiver operating characteristic.

analysis, showing a strong association with in-hospital mortality (Hazard Ratio [HR] 14,607, 95% confidence interval [CI] [3873–55,081],  $p < 0.001$ ).

NTIS is considered an adaptive response of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis to severe illness, including in patients with COVID-19 (8,10,15,27,28,36). Previous studies have demonstrated that blood levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines correlate with disease's severity and mortality (32). The release of high levels of pro-inflammatory cytokines during the acute response of critical illness could contribute to TH alterations, including the reported drop in serum fT3 (15,25). In our study, the rapid decline in the circulating fT3 serum levels (below the lower limit of the reference range) was observed in only a small percentage of patients, whereas an elevation in serum rT3 levels was frequent; it was the most common alteration in serum TH levels among hospitalized COVID-19 patients.

We found that both, the combination of low fT3 and elevated rT3 serum levels, were robustly associated with inflammatory response, disease severity, and mortality. Serum fT3 levels had good specificity reflecting low false-positive rates, indicating that it might be of practical predictive value once it can be obtained up to two to three hours after hospital entrance. Notwithstanding, the usefulness of fT3 serum levels as a biomarker needs to be further explored given that its alteration might be affected by the degree and phase of inflammatory response, by reduced levels of TH binding proteins and accelerated hormone clearance caused on SARS-COV-2 infection (8,10,27,36,37).

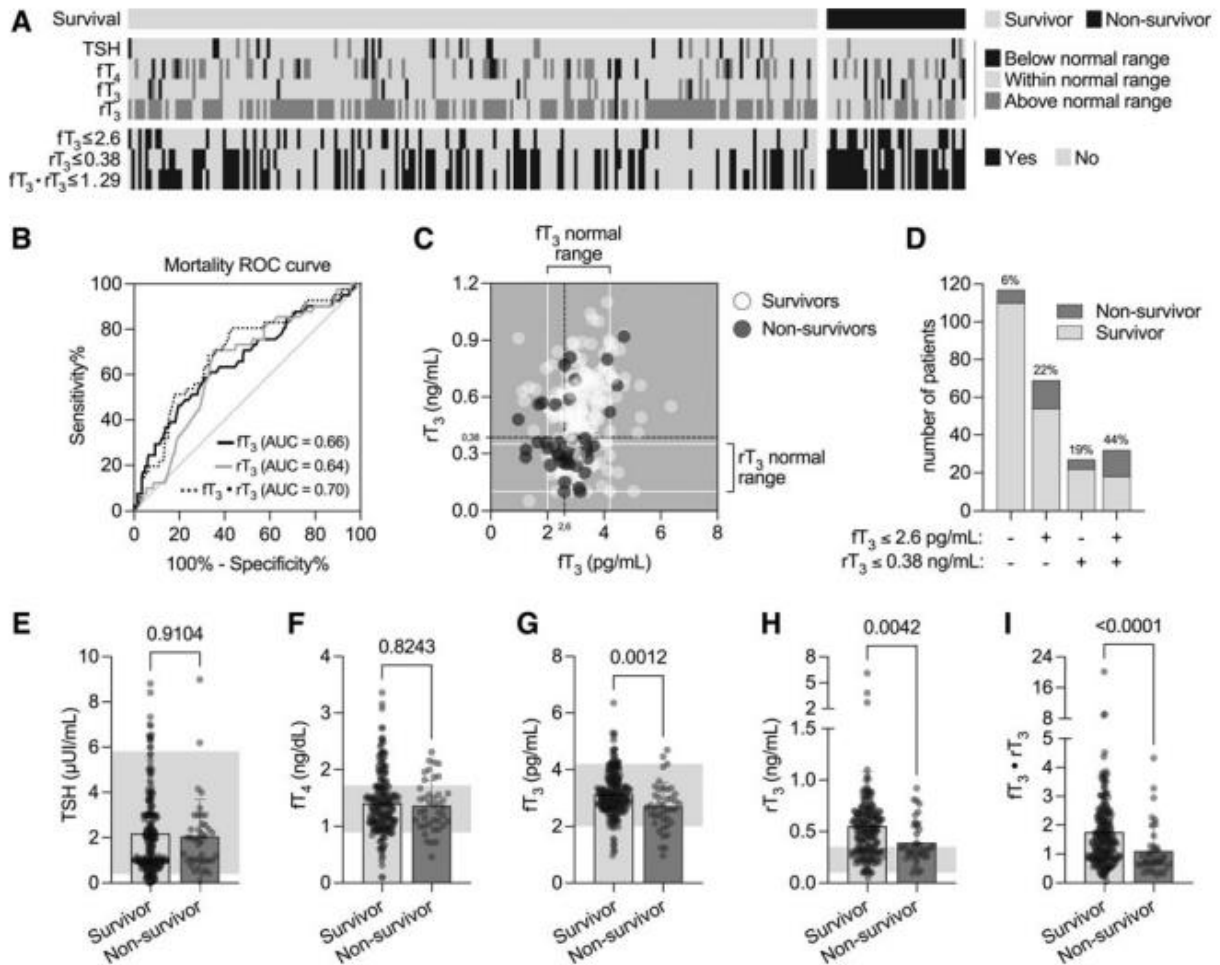
Progressive defect in the T4 to T3 conversion and increment in T4-binding globulin have been previously associated with low levels of serum T3 at admission and disease severity related to human immunodeficiency virus infection. Indeed, rT3 decline was associated with in-hospital mortality (38,39). To our knowledge, the prognostic value of rT3 serum levels in COVID-19 patients has not been investigated in previous studies. Although frequently elevated, patients who ultimately did not survive presented with not as high serum rT3 levels when compared with patients who survived. Consequently, here we made the novel observation that the fT3  $\times$  rT3 product exhibited the highest prognostic value of all parameters ex-

amined, including inflammation biomarkers, with a sensitivity of 80% and specificity of 57%. The mortality predictive values for serum fT3, rT3, and the fT3  $\times$  rT3 product exhibited strong agreement among univariate, multivariate, and sensitivity analyses (Chi-square, Fisher's exact and Mann-Whitney test). However, the predictive capacity of these variables was still modest (area under the ROC curve between 0.6 and 0.7), probably secondary to the homogeneity of the studied population, mainly composed of moderate-to-severe COVID-19 cases referred to a specialized COVID-19 center.

The fact that TSH serum levels remained within normal range in most patients suggests that thyroidal T4 and T3 production might not have been greatly reduced. Whereas the changes in TH serum levels have been interpreted as largely adaptive, it is conceivable that in this situation they might play an expanded role. For example, TH has multiple effects on lung physiology, including alveolar type II cells function and control of *in vivo* alveolar fluid clearance (AFC) (20,40). It has been proposed that T3 directly instilled into lungs could raise AFC, supporting oxygenation and dribbling the exigency for expanded mechanical ventilation (20,21). Therefore, lower T3 availability in the acute respiratory distress syndrome context could have a negative impact in the diaphragm muscle contraction physiology and impair ventilation (41).

Pos-mortem examination in ICU patients has found that serum rT3 values correlate with reduced liver D1 and increased D3 activities (42). Notably, D3 is inducible by hypoxia-inducible factor (HIF1a), but little is known about the role of HIF in COVID-19 (43). Whereas the elevation in serum rT3 typically noted in NTIS patients is generally interpreted as the result of impaired D1-mediate clearance of rT3, D3 reactivation could be playing a role as well. The worse outcomes observed in patients with less robust elevation in rT3 levels are puzzling and could indicate a failure of D3 reactivation and/or normal D1 activity.

The limitations of this study include, first, that the analysis was limited to a hospitalized moderate-to-severe COVID-19 patients and these results may not apply to individuals with COVID-19 who are not hospitalized. Second, it is unclear whether a decrease in caloric intake, a weight loss, or a combination of these factors are the cause of decreased fT3 levels in COVID-19 critically ill patients.



**FIG. 4.** TH levels of 245 COVID-19 hospitalized patients collected during the first 48 hours of admission. **(A)** Heatmap showing serum levels (TSH, fT<sub>4</sub>, fT<sub>3</sub>, and rT<sub>3</sub>) classification below, within, and above normal range in patients with COVID-19 (survivors vs. non-survivors). And a heatmap showing the presence or absence of parameter below cutoff (fT<sub>3</sub> ≤ 2.6pg/ml, rT<sub>3</sub> ≤ 0.38ng/ml, fT<sub>3</sub> × rT<sub>3</sub> ≤ 1.29) in patients with COVID-19 (survivors vs. non-survivors). Each row indicates a single parameter and each column indicates a patient. **(B)** Mortality risk ROC curve and AUC score with parameters of fT<sub>3</sub>, rT<sub>3</sub>, and fT<sub>3</sub> × rT<sub>3</sub>. **(C)** Bubble plot displaying the rT<sub>3</sub> level against the fT<sub>3</sub> level in patients with COVID-19 (survivors vs. non-survivors). The normal reference range is illustrated. **(D)** Bar chart depicting sample number with (+) and without (-) the parameter below the cutoff (fT<sub>3</sub> ≤ 2.6pg/ml, rT<sub>3</sub> ≤ 0.38ng/ml) in patients with COVID-19 (survivors vs. non-survivors) and highlighting the proportion of non-survivor. **(E–I)** Bar chart showing TH levels (TSH<sub>μ</sub>UI/mL, fT<sub>4</sub>ng/dL, fT<sub>3</sub>pg/mL, rT<sub>3</sub>ng/ml, fT<sub>3</sub> × rT<sub>3</sub>) of COVID-19 patients (survivor vs. non-survivor) and the p-value. The columns represent the parameter median, the gray areas represent the normal reference ranges, the bubbles represent the samples. Statistics used: Mann-Whitney test and ROC curve. AUC, area under the curve; fT<sub>3</sub>, free tri-iodothyronine; fT<sub>4</sub>, free tetraiodothyronine; ROC, receiver operating characteristic; rT<sub>3</sub>, reverse tri-iodothyronine; TH, thyroid hormone.

**TABLE 4.** UNIVARIATE AND MULTIVARIABLE REGRESSION ANALYSES BETWEEN THYROID FUNCTION AND VARIABLES

Variable	Univariate logistic regression mortality			Multiunivariate logistic regression mortality <sup>a</sup>		
	OR	[CI]	p	OR	[CI]	p
TSH ≥ 1.91 $\mu$ UI/mL	1.20	[0.61–2.37]	0.58	1.32	[0.60–2.90]	0.47
fT <sub>4</sub> ≤ 1.27 ng/dL	1.11	[0.56–2.18]	0.74	1.04	[0.46–2.35]	0.90
fT <sub>3</sub> ≤ 2.6 pg/mL	3.54	[1.74–7.18]	0.0004	3.48	[1.51–8.12]	0.0033
rT <sub>3</sub> ≤ 0.38 ng/mL	4.43	[2.17–9.51]	<0.0001	5.94	[2.52–15.3]	<0.0001
fT <sub>3</sub> × rT <sub>3</sub> ≤ 1.29	5.43	[2.50–13.18]	<0.0001	8.08	[3.14–24.2]	<0.0001
fT <sub>3</sub> /rT <sub>3</sub> ≥ 7.52 ratio	1.95	[0.99–3.86]	0.052	1.92	[0.88–4.26]	0.10
NTIS (fT <sub>3</sub> < 2.0 pg/mL)	4.46	[1.5–12.79]	0.005	7.05	[1.78–28.3]	0.005

<sup>a</sup>Adjusted for age, neutrophil ( $\times 10^3$  cells/ $\mu$ L), N/L ratio, albumin, high-sensitivity CRP, LDH, D-dimer and IL-6.

TABLE 5. PROSPECTIVE STUDIES IN COVID-19 PATIENTS ANALYZING ASSOCIATION BETWEEN THYROID FUNCTION TESTS MEASURED AT ADMISSION AND DISEASE SEVERITY OR FATALITY

Authors, country (no. of participants)	Clinicodemographic characteristics	Thyroid function tests	COVID-19 severity	Thyroid function abnormalities at admission	Mortality (%)	Outcomes/mortality predictive value
Lui et al. (10), China (n = 367)	Male (46.9%) Mean age: 54 (IQR: 38–65) Hypertension: 24.3%	TSH, fT4, fT3 TPOAb, TgAb, TRAb	Mild (75.2%) Moderate (21%) Severe (3.8%)	TSH: ↓ (5.7%), ↑ (0.5%) fT4: ↓ (0.5%), ↑ (1.4%) fT3: ↓ (7.4%), ↑ (0.5%) rT3: not performed	1.0	<sup>a,b</sup> NTIS (↓fT3) associated with: (i) inflammatory markers, (ii) clinical deterioration; No association with mortality No cutoff levels
Campi et al. (32), Italy (n = 115)	Male (67%) Mean age: 68.1 ± 14 years Hypertension: 64%	TSH, fT4, fT3 TgAb Tg	Severe (100%)	TSH: ↓ (10.4%), ↑ (0.0%) fT4: ↓ (0%), ↑ (0.0%) fT3: ↓ (33%), ↑ (0.0%) rT3: not performed	25	<sup>a</sup> ↓ fT3 and ↓ fT4 associated with inflammatory markers; <sup>a,b</sup> ↓ fT3 associated with mortality No cutoff levels
Beltrão et al., Brazil (n = 245)	Male (59.1%) Mean age: 61.2 ± 15 years Hypertension: 66%	TSH, fT4, fT3, rT3 TPOAb Tg	Moderate (73.9%) Severe (26.1%)	TSH: ↓ (7.3%), ↑ (11%) fT4: ↓ (10.2%), ↑ (20.8%) fT3: ↓ (6.5%), ↑ (7.3%) rT3: ↓ (0.4%), ↑ (62.8%)	16.7	<sup>a,b</sup> ↓ fT3, ↓ fT3• rT3 associated with: (i) inflammatory markers, (ii) severity; (iii) mortality; <sup>a,b</sup> ↓ fT3, ↓ fT3• rT3 associated with mortality <sup>a,b</sup> Less ↑ rT3 associated with severity and mortality. Cutoff levels were determined

↓, reduced serum levels; ↑, elevated serum levels.

<sup>a</sup>Univariate analysis.

<sup>b</sup>Multivariate analysis.

Tg, thyroglobulin; TgAb, thyroglobulin antibodies; TRAb, thyrotropin receptor antibodies.

In summary, this prospective study reports data on the largest number of hospitalized moderate-to-severe COVID-19 patients and correlates serum TH levels with illness severity, mortality, and other biomarkers to critical illness. The data revealed the importance of early assessment of thyroid function in hospitalized patients with COVID-19, given the good prognostic value of serum fT3, rT3, and fT3 × rT3 product. Further studies are necessary to confirm these observations.

#### Author Disclosure Statement

A.C.B. is a consultant for Synthomics, BLA technology, and Allergan. The other authors declare no conflicts of interest.

#### Funding Information

No funding was received.

#### References

- Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. 2020 A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* **382**:727–733.
- de Jesus JG, Sacchi C, Candido D da S, et al. 2020 Importation and early local transmission of covid-19 in Brazil, 2020. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* **62**:e30.
- Clark A, Jit M, Warren-Gash C, et al. 2020 Global, regional, and national estimates of the population at increased risk of severe COVID-19 due to underlying health conditions in 2020: a modelling study. *Lancet Glob Health* **8**:e1003–e1017.
- Rabi FA, al Zoubi MS, Al-Nasser AD, et al. 2020 Sars-cov-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far. *Pathogens* **9**:231.
- Park M, Cook AR, Lim JT, et al. 2020 A systematic review of COVID-19 epidemiology based on current evidence. *J Clin Med* **9**:967.
- Ye Q, Wang B, Mao J, et al. 2020 Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. *J Med Virol* **92**:755–769.
- Guo J, Hong Y, Wang Z, et al. 2020 Prognostic value of thyroid hormone FT3 in general patients admitted to the intensive care unit. *Biomed Res Int* **2020**:6329548.
- Lui DTW, Lee CH, Chow WS, et al. 2021 Thyroid dysfunction in relation to immune profile, disease status, and

- outcome in 191 patients with COVID-19. *J Clin Endocrinol Metab* **106**:e926–e935.
9. Zou R, Wu C, Zhang S, *et al.* 2020 Euthyroid sick syndrome in patients with COVID-19. *Front Endocrinol* **11**:566439.
  10. Lui DTW, Lee CH, Chow WS, *et al.* 2021 Role of non-thyroidal illness syndrome in predicting adverse outcomes in COVID-19 patients predominantly of mild-to-moderate severity. *Clin Endocrinol*. <https://doi.org/10.1111/cen.14476>.
  11. Rotondi M, Coperchini F, Ricci G, *et al.* 2020 Detection of SARS-COV-2 receptor ACE-2 mRNA in thyroid cells: a clue for COVID-19-related subacute thyroiditis. *J Endocrinol Invest* **44**:1085–1090.
  12. Brancatella A, Ricci D, Viola N, *et al.* 2020 Subacute thyroiditis after Sars-COV-2 infection. *J Clin Endocrinol Metab* **105**:2367–2370.
  13. Chen M, Zhou W, Xu W 2020 Thyroid function analysis in 50 patients with COVID-19: a retrospective study. *Thyroid* **31**:8–11.
  14. Muller I, Cannavaro D, Dazzi D, *et al.* 2020 SARS-CoV-2-related atypical thyroiditis. *Lancet Diabetes Endocrinol* **8**: 739–741.
  15. Fliers E, Bianco AC, Langouche L, *et al.* 2015 Thyroid function in critically ill patients. *Lancet Diabetes Endocrinol* **3**:816–825.
  16. van den Berghe G 2014 Non-thyroidal illness in the ICU: a syndrome with different faces. *Thyroid* **24**:1456–1465.
  17. Rubingh J, van der Spek A, Fliers E, *et al.* 2020 The role of thyroid hormone in the innate and adaptive immune response during infection. *Compr Physiol* **10**:1277–1287.
  18. van der Spek AH, Fliers E, Boelen A 2017 Thyroid hormone metabolism in innate immune cells. *J Endocrinol* **232**: R67–R81.
  19. van der Spek AH, Surovtseva Ov, Jim KK, *et al.* 2018 Regulation of intracellular triiodothyronine is essential for optimal macrophage function. *Endocrinology* **159**:2241–2252.
  20. Flory CM, Norris BJ, Larson NA, *et al.* 2021 A preclinical safety study of thyroid hormone instilled into the lungs of healthy rats—an investigational therapy for ARDS. *J Pharmacol Exp Ther* **376**:74–83.
  21. Bhargava M, Runyon MR, Smirnov D, *et al.* 2008 Triiodo-L-thyronine rapidly stimulates alveolar fluid clearance in normal and hyperoxia-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med* **178**:506–512.
  22. Yu G, Tzouveleki A, Wang R, *et al.* 2018 Thyroid hormone inhibits lung fibrosis in mice by improving epithelial mitochondrial function. *Nat Med* **24**:39–49.
  23. de Vito P, Incerci S, Pedersen JZ, *et al.* 2011 Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. *Thyroid* **21**:879–890.
  24. Scappaticcio L, Pitoia F, Esposito K, *et al.* 2020 Impact of COVID-19 on the thyroid gland: an update. *Rev Endocr Metab Disord* **1**–13. DOI: 10.1007/s11154-020-09615-z
  25. Garg MK, Gopalakrishnan M, Yadav P, *et al.* 2020 Endocrine involvement in COVID-19: mechanisms, clinical features, and implications for care. *Indian J Endocrinol Metab* **24**:381–386.
  26. Kumari K, Chainy GBN, Subudhi U 2020 Prospective role of thyroid disorders in monitoring COVID-19 pandemic. *Heliyon* **6**:e05712.
  27. Guo W, Ran L, Zhu J, *et al.* 2021 Identifying critically ill patients at risk of death from coronavirus disease. *World J Emerg Med* **12**:18.
  28. Chen W, Tian Y, Li Z, *et al.* 2021 Potential interaction between SARS-CoV-2 and thyroid: a review. *Endocrinology* **162**:bqab004.
  29. Speer G, Somogyi P 2021 Thyroid complications of SARS and coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Endocr J* **68**:129–136.
  30. Penha D, Pinto EG, Matos F, *et al.* 2021 CO-RADS: coronavirus classification review. *J Clin Imaging Sci* **11**:9.
  31. Pan F, Ye T, Sun P, *et al.* 2020 Time course of lung changes at chest CT during recovery from coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Radiology* **295**:715–721.
  32. Campi I, Bulgarelli I, Dubini A, *et al.* 2021 The spectrum of thyroid function tests during hospitalization for SARS COV-2 infection. *Eur J Endocrinol* **184**:699–709.
  33. Chen T, Wu D, Chen H, *et al.* 2020 Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ* **368**:m1091.
  34. Lania A, Sandri MT, Cellini M, *et al.* 2020 Thyrotoxicosis in patients with COVID-19: the THYRCOV study. *Eur J Endocrinol* **183**:381–387.
  35. Lang S, Liu Y, Qu X, *et al.* 2021 Association between thyroid function and prognosis of COVID-19: a retrospective observational study. *Endocr Res* **1**–8. DOI: 10.1080/07435800.2021.1924770
  36. Sciacchitano S, Giovagnoli S, D'Ascanio M, *et al.* 2020 Low FT3 values during the acute phase of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection correlate to the severity indexes of the disease. *SSRN Electron J* <https://doi.org/10.2139/ssrn.3605267>.
  37. Gao W, Guo W, Guo Y, *et al.* 2020 Thyroid hormone concentrations in severely or critically ill patients with COVID-19. *J Endocrinol Invest* **44**:1031–1040.
  38. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, *et al.* 1993 Indices of thyroid function and weight loss in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Metabolism* **42**:1270–1276.
  39. LoPresti JS, Fried JC, Spencer CA, *et al.* 1989 Unique alterations of thyroid hormone indices in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Ann Intern Med* **110**:970–975.
  40. Folkesson HG, Norlin A, Wang Y, *et al.* 2000 Dexamethasone and thyroid hormone pretreatment upregulate alveolar epithelial fluid clearance in adult rats. *J Appl Physiol* **88**:416–424.
  41. Bloise FF, van der Spek AH, Surovtseva Ov, *et al.* 2016 Differential effects of sepsis and chronic inflammation on diaphragm muscle fiber type, thyroid hormone metabolism, and mitochondrial function. *Thyroid* **26**:600–609.
  42. Peeters RP, Wouters PJ, Kaptein E, *et al.* 2003 Reduced activation and increased inactivation of thyroid hormone in tissues of critically ill patients. *J Clin Endocrinol Metab* **88**:3202–3211.
  43. Simonides WS, Mulcahey MA, Redout EM, *et al.* 2008 Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats. *J Clin Invest* **118**:975–983.

Address correspondence to:  
 Helton Estrela Ramos, MD, PhD  
 Bioregulation Department  
 Health and Science Institute  
 Federal University of Bahia  
 Avenida Reitor Miguel Calmon,  
 S/N. Vale do Canela, Room 325  
 Salvador 40110-102  
 Brazil

E-mail: ramoshelton@gmail.com

**APÊNDICE B – ARTIGO II**

**Vantagem heterozigótica do polimorfismo Thr92Ala da desidase  
tipo II na mortalidade intra-hospitalar da COVID-19**

---

Artigo foi submetido ao Periódico:

**The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**

ISSN: 0021-972X, Fator de impacto: 5,958

## **Heterozygote Advantage of the Type II deiodinase Thr92Ala Polymorphism on Intrahospital Mortality of COVID-19**

**Abbreviations:** AIDS: acquired immunodeficiency syndrome, ALI: acute lung injury, ALT: Alanine transaminase, AMI: acute myocardial infarction, anti-TPO: anti-thyroid peroxidase antibodies, ARDS: Acute respiratory distress syndrome, AST: aspartate aminotransferase, BST2: Bone marrow stromal antigen 2, CCL: C-C Motif Chemokine Ligand, CDK2: Cyclin-dependent kinase 2, CI: Confidence Interval, COVID-19: Coronavirus disease 19, CRP: C-reactive protein, CT: computed tomography, C-X-C chemokine receptor type 4: CXCR4, DIO2: Type II deiodinase, DIO3: Type III deiodinase, ER: emergency department, fT<sub>3</sub>: free triiodothyronine, fT<sub>4</sub>: free thyroxine, HLA: human leukocyte antigen, HR: hazard ratio, ICU: Intensive Care Unit, IL-6: interleukin 6, IQR: Interquartile range, IS: ischemic stroke, LDH: Lactate dehydrogenase, LVH: left ventricular hypertrophy, M-H: Mantel Haenszel, NEWS2: National Early Warning Score 2, NLR: neutrophil-lymphocyte ratio, NTIS: nonthyroidal illness syndrome, OR: Odds ratio, qSOFA: Quick Sepsis-related Organ Failure Assessment, rRT-PCR: real-time reverse-transcriptase-polymerase chain reaction, SARS: severe acute respiratory syndrome, SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SNP: single nucleotide polymorphisms, SLC44a2: Solute carrier family 44 member 2; TH: thyroid hormones, fT<sub>3</sub>: free triiodothyronine, TSH: thyroid-stimulating hormone.

**Word count:** 3.259, 6 figures, 5 tables

**Keywords:** Thyroid, Type II deiodinase, Polymorphism and COVID-19.

**Abstract (219 words)**

**Introduction:** The type 2 deiodinase and its Thr92Ala-DIO2 polymorphism have been linked to clinical outcomes in acute lung injury and pulmonary fibrosis.

**Methods:** Here we conducted an observational, longitudinal, and prospective cohort study to investigate a possible association between the Thr92Ala-DIO2 polymorphism and intra-hospital mortality from COVID-19 in adult patients admitted between June and August 2020. Blood biochemistry, thyroid function tests, length of stay, comorbidities, complications, and severity scores were also studied according to Thr92Ala-DIO2 polymorphism.

**Results:** 220 consecutive patients [median age: 62 (48–74) years] were stratified into three subgroups: Thr/Thr (n=79), Thr/Ala (n=119) and Ala/Ala (n=23). While the overall mortality was 17.3%, the lethality was lower in Ala/Thr patients (12.6%) when compared to Thr/Thr patients (21.7%) or Ala/Ala patients (23%). The heterozygous genotype (Thr/Ala) was associated with a 47% reduced risk of intra-hospital mortality whereas the univariate and multivariate logistic regression adjusted for multiple covariates, revealed a reduction that ranged from 51-66%. The association of the Thr/Ala genotype with better clinical outcomes was confirmed in a metaanalysis of 5 studies, including the present.

**Conclusion:** Here we provide robust evidence for a protective role played by the Thr92Ala-DIO2 heterozygosity in patients with COVID-19. This protective effect follows an inheritance model known as overdominance, in which the phenotype of the heterozygote lies outside the phenotypical range of both homozygous.

## Introduction

The Coronavirus 2019 (COVID-19) pandemic, caused by the Sars-Cov-2 virus, has created a major global health crisis. Despite having infected hundreds of millions and killed more than 5 million, gaps remain in our understanding of the pathophysiology of the disease<sup>1</sup>. SARS-Cov-2 infection can cause pulmonary and systemic inflammation, leading to multiple organ dysfunction in high-risk populations such as the elderly, pregnant women, patients with obesity, hypertension, diabetes, and those on long-term immunosuppressive therapy<sup>2-5</sup>. The lethality among hospitalized patients ranges from 11% and 15%<sup>2,6,7</sup>.

The most feared complication of COVID-19 is the severe acute respiratory syndrome (SARS) which has an in-hospital prevalence of 17 to 29%<sup>2,7</sup>. Acute lung injury (ALI) is one of the main causes of respiratory failure that usually develops in response to major insults, such as sepsis, trauma, viral or bacterial pneumonia, and multiple blood transfusions during hospitalization<sup>8</sup>. While different strategies have been employed to minimize ALI and improve lung function, we note a growing interest in treating lung disease with thyroid hormone (TH) in pulmonary edema and acute respiratory distress syndrome (ARDS). From a systemic perspective, recent studies have shown a strong association between reduced levels of free T3 (fT<sub>3</sub>) at the admission of hospitalized patients due to COVID-19 with intra-hospital severity and mortality<sup>9-13</sup>.

Nonetheless, instillation of the thyroid hormone (TH) T<sub>3</sub> increased alveolar fluid clearance in rat lungs with hypoxia-induced lung injury<sup>14</sup>. In addition, TH exhibits antifibrotic properties that are associated with the protection of alveolar epithelial cells and restoration of mitochondrial function. TH can reach the lungs via systemic circulation but can also be activated locally, within type-II pulmonary alveolar epithelial cells, through the activity of the iodothyronine deiodinase 2 (DIO2). Remarkably, DIO2 expression and activity were elevated in lungs from patients with idiopathic pulmonary fibrosis, and its knockout worsened bleomycin-induced lung fibrosis in mice<sup>15</sup>.

Accordingly, Ma et al. (2011) reported increased severity of ALI in mice with reduced DIO2 expression (through RNA silencing), suggesting a protective role of DIO2 in ALI. They also reported that carrying a polymorphism in DIO2 (Thr92Ala) confers protection against ALI. Increased DIO2 expression may dampen the ALI inflammatory response, thereby strengthening

the premise that thyroid hormone metabolism is intimately linked to the integrated response to inflammatory injury in critically ill patients <sup>16</sup>.

DIO2 is located on the long arm of chromosome 14, at position 14q.24.3. To date, six single nucleotide polymorphisms (SNPs) of these genes have been described in the literature, including rs225014, ORFa-Gly3Asp, rs225010, rs225012, rs2267872, and rs1388378 <sup>17-19</sup>. The rs225014 SNP, also known as Thr92Ala-DIO2 polymorphism is located in exon 2 of DIO2. It causes the substitution of threonine for an alanine at position 92 <sup>20</sup> and the ectopic expression of D2 in the Golgi apparatus, which has reduced activity and prolonged half-life <sup>21</sup>.

The minor allele Ala92-Dio2 has a high prevalence in the population (38.8 to 47.6 %). Several studies have analysed its association with multiple chronic diseases, such as type 2 diabetes mellitus<sup>20,22-24</sup>, obesity<sup>25</sup>, arterial hypertension<sup>26,27</sup>, osteoarthritis<sup>28</sup>, osteoporosis <sup>29</sup>, and dementias <sup>30</sup>, many of which are risk factors for a worse prognosis for COVID-19 <sup>31-33</sup>, but controversy has prevented the formulation of a unifying hypothesis as to its role. Here we tested whether the Thr92Ala-DIO2 polymorphism is associated with intra-hospital mortality from COVID-19.

## **Material and Methods**

### ***Subjects***

This study was performed at the Dom José Maria Pires Metropolitan Hospital (João Pessoa, Paraíba, Brazil). Adults ( $\geq 18$  years) who presented to the emergency department (ED) between June-August 2020 with COVID-19 symptoms and were assessed through blood biochemistry were preliminarily recruited into this observational, longitudinal, and prospective cohort study. The study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Lauro Wanderley University Hospital (CAAE:31562720.9.0000.5183). This study was performed in agreement with the Declaration of Helsinki and in compliance with local and national regulations.

### ***Inclusion and exclusion criteria***

220 consecutive patients with a positive result on standard of care reverse transcriptase polymerase chain reaction test (RT-qPCR - Biomol OneStep/COVID-19, IBMP, Paraná, Brazil) for SARS-CoV-2 in naso-pharyngeal swab, or, in cases of negative RT-qPCR, having clinical, radiological, and serological (IgG positive for SARS-CoV-2) criteria. Samples were centrifuged at 2,000 g for 15 min at 4 °C and subsequently frozen at  $-80$  °C until measurement. Exclusion criteria were: (i) patient younger than 18 years, (ii) patient with a history of thyroid disease and diagnosis of pregnancy, and (iii) patient who used iodinated contrast in the last six months or drugs that interfere with thyroid metabolism.

### ***Severity Scoring***

Within the first 48h of admission, patient severity was first defined using three scoring systems: (i) the quick Sepsis-related Organ Failure Assessment (qSOFA), the National Early Warning Score 2 (NEW2), and chest computed tomography (CT) severity score proposed by Pan et al<sup>34</sup>.

### ***Blood Biochemistry***

Blood samples (50 mL) were collected within first 48 hours of hospital admission (before interventions or therapy that could potentially interfere or alter TH or cytokines serum levels). Plasma concentrations of interleukin 6 (IL-6), high-sensitive C-reactive protein (CRP), D-dimer, creatinine, alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), and Lactate Dehydrogenase (LDH), thyroid function [fT<sub>3</sub>, free thyroxine (fT<sub>4</sub>), reverse triiodothyronine (rT<sub>3</sub>), thyroid-stimulating hormone (TSH)], thyroglobulin, anti-thyroid peroxidase antibodies (anti-TPO), and albumin were assessed using measured by chemiluminescence immunoassay

(MAGLUMI-2000-PLUS, Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Shenzhen, China), according to the manufacturer's protocol. The complete blood cells count with differential was performed on a MEK-7300 hematological analyzer (Nihon Kohden®, Tokyo, Japan). The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) was calculated by the absolute neutrophil count divided by the absolute lymphocyte count.

### ***Genotyping analysis***

Genomic DNA was extracted from whole blood using standard techniques. In this study the polymorphism was determined by the TaqMan® SNP Genotyping method (7500 Real Time PCR Systems, Applied Biosystems, CA), using the assay for genotyping with TaqMan® probes and primers; in a combination of hybridization and DNA polymerase activity, associated with fluorescence detection<sup>35</sup>. For these analyzes, a 5 µl solution will be used, containing: 20 ng of sample DNA, 2.5 µl of universal Taqman PCR Master Mix (with final concentration 1X), 0.25 µl of the assay (probe and primers) for the concentration of 20X and 0.125 µl for the concentration of 40X (maintaining a final concentration of 1X), in addition to 2.25 µl of Milli-q® water. For all reactions, a negative and a positive control were performed. For the polymerase chain reaction (PCR), cycles of ten minutes at 95 ° C were used for the initial denaturation phase, followed by 50 cycles at 92 ° C for 15 seconds and 60 ° C for 90 seconds. We used the software “Sequence Detection”, version 1.3 (Applied Biosystems, CA) to analyze the data.

### ***Outcomes***

**Primary:** Cumulative mortality during admission according to Thr92Ala-DIO2 polymorphism.

**Secondary:** Blood biochemistry, thyroid function tests, length of stay, comorbidities, complications, severity scores according to Thr92Ala-DIO2 polymorphism.

### ***Statistical analysis***

To study mortality, we performed power calculations based on Cohen's method using GPower 3.1.9.7 software. The current sample size showed more than 90% power to detect significance ( $\alpha < 0.05$ ) in association with allele and haplotype under study conditions, and an effect size index of 0.3 was used. Chi-squared tests were used to determine whether samples were in Hardy-Weinberg equilibrium.

The data were expressed as median  $\pm$  interquartile range (IQR). We used Kruskal–Wallis test analysis followed by Dunn’s post hoc test with Benjamini-Hochberg multiple comparison corrections. Mann-Whitney, Chi-square, or Cochran-Armitage test were used for non-parametric variables. The Kaplan-Meier method and log-rank test were used in our study to investigate the relationship between variables and COVID-19 prognosis.

To assess the relative risk of mortality [odds ratio (OR)], we used univariate and multivariate logistic regression. The significance level of  $p < 0.05$  was accepted as statistically significant. The statistical program GraphPad Prism, v.7.00 (2016), was used to perform statistical tests.

Next, we used uni- and multivariate logistic regression analysis on the total group (220 patients) to investigate the potential association between the heterozygous allele (Thr/Ala) versus the homozygous alleles (Thr/Thr and Ala/Ala) with mortality. Five multivariate logistic regression models were estimated to individualize mortality by prognostic factors. In the first model (Model 1), the following sociodemographic variables and clinical characteristics were included: male gender, age  $> 60$  years, diabetes, arterial hypertension, and length of hospital stay. The second and third models (Model 2 and 3) aimed to evaluate laboratory tests; Model 2 (where the thyroid function was assessed - TSH, fT<sub>4</sub>, fT<sub>3</sub>, and rT<sub>3</sub>) and Model 3 (where markers of inflammation, tissue damage or hemochromocytometric parameters were analyzed - IL6, CRP, D-dimer, neutrophils, and DHL). Finally, Model 4 was adjusted for Models 1 and 3, and Model 5, for all variables of the analyzed models.

### ***Meta-analysis***

A systematic review was conducted according to the recommendations outlined in the PRISMA<sup>36</sup>. The electronic databases Pubmed, Cochrane, and SciELO were combed for studies of genetic association between the Thr92Ala-DIO2 polymorphism and diseases. We limited the search to humans and used the following strategy: ‘rs225014’ or rs225014-T/C or ‘thr92ala’ or ‘dio2 a/g’ or ‘T92A’. Only studies observing these three inclusion criteria were selected: i) observational studies (cohort, case–control, and cross-sectional studies) on the Thr92Ala-DIO2 polymorphism, ii) studies that included patients with diseases non-related to thyroid dysfunction, and iii) presence of control group. Data were independently extracted by two authors (FELB, GC) using a pre-determined structured form. Disagreements were solved through discussion or when needed by consulting a third author (HER).

**Statistics:** The strength of the association between Thr92Ala-DIO2 polymorphism and diseases was measured by odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (95% CIs) for dominant (Thr/Thr vs Thr/Ala + Ala/Ala), recessive (Ala/Ala vs Thr/Ala + Thr/Thr), and overdominant (Thr/Ala vs Thr/Thr + Ala/Ala). The Chi square-based Q-test was used to assess the between-study heterogeneity and a P-value of 0.1 was considered to indicate significant heterogeneity among studies.  $I^2$  statistic and Cochran Q test were applied to examine the heterogeneity and the pooled OR estimation of each study was calculated by the fixed and random-effects model (the Mantel–Haenszel method). The  $I^2$  statistic was specifically documented for the percentage of study variability observed due to heterogeneity rather than chance ( $I^2 = 0–25\%$ , no heterogeneity;  $I^2 = 25–50\%$ , moderate heterogeneity;  $I^2 = 50–75\%$ , high heterogeneity;  $I^2 = 75–100\%$ , extreme heterogeneity)<sup>37</sup>. All statistical tests were performed using Review Manager 5.4 (The Cochrane Collaboration, UK). A P value  $<0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### *Patient Demographics and Clinical Characteristics*

274 consecutive patients admitted with COVID-19 were evaluated for potential enrollment in the study. 245 patients met the inclusion criteria and were considered as potential subjects for the study. An additional 25 patients were excluded for lack of genotype determination. The remaining 220 patients completed the study (Fig. 1). The median age was 62 (48–74) years, and 135 patients (61.3%) were male. Baseline sociodemographic and clinical characteristics are summarized in Table 1. Most patients had underlying diseases, including hypertension (65.4%), diabetes (42.3%), and cardiopathy (12.7%), neoplasia (0.9%) and chronic pneumopathy (4.5%). The group of 220 patients was stratified into three subgroups: Thr/Thr (n = 79), Thr/Ala (n = 119) and Ala/Ala (n=23) (Fig. 1). The Thr allele frequency was 0.62 and the Ala allele frequency was 0.37, with a distribution that was in Hardy-Weinberg equilibrium [ $p=0.07$  (chi-squared test)].

### *Clinical outcomes*

#### *Primary*

The overall mortality, regardless of genotype, was 38 (17.3%) (Fig. 2). Mortality was lower in Ala/Thr patients (12.6%) when compared to Thr/Thr patients (21.7%) or Ala/Ala patients (23%) (Fig. 2). Logistic regression analysis confirmed that the presence of the Thr/Ala allele was associated with reduced mortality when compared to Thr/Thr, even after correcting for 14 comorbidities and other covariates (Table 3).

The Cochran-Armitage test was used to assess the relationship between genotype and mortality according to four inheritance models. The dominant, recessive, and codominant models did not predict a relationship, although the latter revealed a borderline statistical significance for the heterozygous group (Fig. 2). At the same time, an association between lower mortality and Thr92Ala-DIO2 heterozygosity was statistically significant when the over-dominant model was utilized. This is illustrated in the Kaplan-Meier survival analysis (Fig. 3). Logistic regression analysis confirmed that the presence of the Thr/Ala allele was associated with reduced mortality when compared to Thr/Thr and Ala/Ala, even after accounting for comorbidities (Table 3).

#### *Secondary*

As a group, the median hospital stay was 6 (4-10) days. The severity score systems indicated that patients were moderately/gravely affected by the disease, with developments such as admission to intensive care unit (ICU) (25%), cardiovascular shock (12.7%), and/or endotracheal intubation (13.2%). As expected, length of stay, ICU admission, cardiovascular shock, and endotracheal intubation correlated with mortality as assessed through univariate logistic regression analysis (Table 1). The analyses of these parameters in the three genotype subgroups, i.e., Thr/Thr, Ala/Thr, Ala/Ala, did not reveal significant differences except for hypertension as an underlying condition, which was higher in the Thr/Thr group (Table 1).

Blood biochemistry is shown in Table 2. Several thyroid function tests and markers of inflammation, tissue damage, or hemochromocytometric parameters were found to predict mortality using the univariate logistic regression (Table 2). Most parameters were not affected by the patient's genotype except for  $fT_3$ , ALT, and hemoglobin levels (Table 2).

### ***Meta-analysis***

The results of the systematic search and selection led us to 97 studies, which after application of the inclusion and exclusion criteria, were reduced to 21 studies totaling 8400 cases and 20165 controls (Fig. 4). The analysis focused on two major types of studies: (i) those that reported the frequency of the two different alleles (Ala and Thr) for each disease and (ii) those that reported clinical outcomes for each disease as a function of these two different alleles.

In the frequency analysis, the reported allele frequency was analyzed according to the three inheritance models, dominant, overdominant, and recessive. The summary of the resulting fixed and random-effects meta-analysis for the haplotypic association of DIO2 SNPs (Thr/Thr, Thr/Ala, and Ala/Ala) with the different diseases, as well as heterogeneity test, are shown in Table 4 and Figure 5. The application of the recessive model revealed that the Ala/Ala genotype was associated with a greater risk of having any of the diseases (Random OR: 1.19 [1.01-1.41],  $p=0.04$ ). At the same time, the application of the over-dominant model revealed that carrying the Thr/Ala genotype was associated with a smaller risk of having the diseases (Random OR: 0.93 [0.87-1.0],  $p=0.05$ ). No significant associations were observed when the dominant model was applied. Notably, both the Q statistical test ( $Chi^2 = 53.7$ ,  $P < 0.0001$ ) and the  $I^2$  statistic ( $I^2 = 68\%$ ) showed high heterogeneity for the recessive model, whereas the dominant ( $Chi^2 = 22.4$ ,

P =0.17, I<sup>2</sup>=24%) and over-dominant models exhibited no heterogeneity (Chi<sup>2</sup> = 21.6, P =0.20, I<sup>2</sup>=21%) (Table 4, Figure 5).

A similar analysis was performed while considering the clinical outcomes. The reported outcome was also analyzed according to the three inheritance models. The summary of the resulting fixed and random-effects meta-analysis for the haplotypic association of DIO2 SNPs with the different outcomes, as well as heterogeneity test, are shown in Table 5 and Figure 6. The dominant inheritance model revealed that carrying the Thr/Thr genotype was associated with a worse outcome (Fixed OR: 2.18 [1.43-3.3], p=0.0003). At the same time, the over-dominant model revealed an inverse association between the Thr/Ala genotype and the severity of the clinical outcome (Fixed OR: 0.54 [0.40-0.75], p=0.0002). No significant associations between genotype and clinical outcomes were observed after using the recessive inheritance model (Fixed OR: 1.27 [0.88-1.83], p=0.20) (Table 5 and Figure 6).

## Discussion

To our knowledge, this is the first prospective study of patients hospitalized with COVID-19 in which the primary clinical outcome (mortality) was analyzed according to the Thr92Ala-DIO2 polymorphism. Our findings revealed that carrying the Thr/Ala genotype was associated with lower mortality rates. The Kaplan-Meier curve shows that the heterozygous genotype (Thr/Ala) was associated with a 47% reduced risk of intra-hospital mortality (Figure 3). The univariate and multivariate logistic regression, adjusted for multiple covariates, indicated a reduction in mortality that ranged from 51-66% (Table 3).

These results were unexpected and prompted us to examine other studies that correlated the Thr92Ala-DIO2 polymorphism with other clinical outcomes. The metaanalysis of 5 studies (including the present study) involving 1062 patients revealed that carriers of the Thr/Ala genotype exhibited significantly better clinical outcomes. In addition, the metaanalysis of 16 studies involving 27503 patients revealed that carriers of the Thr/Ala genotype were less likely to be found among patients with 12 medical conditions. These results shed light on a previously unappreciated aspect of the Thr92Ala-DIO2 polymorphism, which is a likely advantage for carriers of the heterozygous genotype. Such a condition, in which the phenotype of the heterozygote lies outside the phenotypical range of both homozygous, is known as overdominance.

Overdominance has been described for other conditions as well. For example, there is evidence that genetic heterozygosity in humans provides greater resistance to certain viral infections. A study that evaluated human leukocyte antigen (HLA) polymorphisms in patients with HIV revealed that heterozygosity of one or more loci was associated with a slower progression to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and reduced mortality<sup>38</sup>. Heterozygosity advantage of HLA polymorphisms has also been reported for hepatitis B virus and hepatitis C infections<sup>39,40</sup>.

Sequencing DIO2 from archaic human subspecies led some to conclude that Neanderthals and Denisovans displayed only the Ala92-DIO2 allele, suggesting that those hominines were homozygous for Ala92-DIO2<sup>41</sup>. The fact that Ala92-D2 is about 20% less catalytically active<sup>21</sup> suggests that the minor allele could have protected against iodine deficiency because it metabolizes less T4. The Thr92-DIO2 appeared for the first time during the Upper Pleistocene

and has been conserved during the Neolithic age. The fact that the Thr92-DIO2 allele became the major one observed in the modern human suggests that its existence confers an evolutionary advantage.

The present studies suggest that such an evolutionary advantage is identified by the increased survival of Thr/Ala patients during admission for COVID-19. In fact, the meta-analyses suggest that this protective effect might be broader and include multiple other chronic conditions and severe diseases, such as ischemic stroke, myocardial infarct, and left ventricular hypertrophy. While the strength of these associations needs to be confirmed in other settings, one can only speculate as to the mechanistic explanation involved. COVID-19-induced respiratory failure promotes angiocentric inflammation, characterized by generalized thrombosis with microangiopathy, vasoconstriction, and distinct intussusceptive angiogenesis<sup>42</sup>. A series of genes involved in these pathogenetic mechanisms of COVID-19 have been recently identified, including CXCR4<sup>42,43</sup> and SLC44A2<sup>44-46</sup>. Genes involved in the activation of the immune response and secretion of cytokines, such as CDK2<sup>47</sup>, BST2<sup>48</sup>, and CCL4<sup>49-51</sup>, have also been identified.

While studying post-mortem samples of the human temporal lobe and HEK-293 cells stably expressing Ala92-DIO2, it was observed in both models that the expression of different DIO2 alleles correlates with the expression of 81 genes related to inflammation, oxidative stress, apoptosis, mitochondrial dysfunction, DNA repair, growth factor signaling, and neurodegenerative diseases<sup>52</sup>. Remarkably, the Thr/Ala genotype exhibited a strong positive correlation with the expression of CXCR4, SLC44a2 in both cells and human brain samples; the Thr/Thr genotype correlated positively with the expression of CDK2, BST2; and Ala/Ala genotype correlated positively with CXCR4, SLC44a2, and BST2.

This study is limited by the sample size, which has an effect size index of 0.3 (best if below 0.2). In addition, the study was limited to patients hospitalized with COVID-19 with moderate to severe conditions. Individuals with mild disease were not evaluated.

## **Conclusion**

Here we provide robust evidence for a protective role played by the Thr92Ala-DIO2 heterozygosity in patients with COVID-19. An accompanying meta-analysis suggests that this advantage is extended to other conditions.

## Acknowledgments

We gratefully acknowledge the contributions and efforts of all patients who participated in this study and the physicians, residents, students, nutritionists, pharmacists, and healthcare professionals involved in data collection and patient care. We thank the hospital management of Dom José Maria Pires Metropolitan Hospital, the Teaching and Research Management of Lauro Wanderley University Hospital, and University Center of João Pessoa - UNIPE. We thank Samuel Refetoff.

## Disclosures

AB is a consultant for Abbvie, Synthonics, and Allergan. The other authors declare no relevant disclosures.

## Joint corresponding authors

Helton E. Ramos, M.D., Ph.D. Department of Bioregulation, Federal University of Bahia, Avenida Reitor Miguel Calmon, S/N. Vale do Canela. Room 325. Salvador-BA, Brazil. 40110-102. Tel. +55-071-3283-8908 FAX. +55-071-3283-8908  
**E-mail:** ramoshelton@gmail.com.

## Reference

1. Yazdanpanah F, Hamblin MR, Rezaei N. The immune system and COVID-19: Friend or foe? *Life Sciences*. 2020;256.
2. Chen T, Wu D, Chen H, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study. *The BMJ*. 2020;368.
3. Giovanetti M, Angeletti S, Benvenuto D, Ciccozzi M. A doubt of multiple introduction of SARS-CoV-2 in Italy: A preliminary overview. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(9):1634-1636.
4. Guan W jie, Ni Z yi, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(18):1708-1720.
5. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*. 2020;584(7821):430-436.

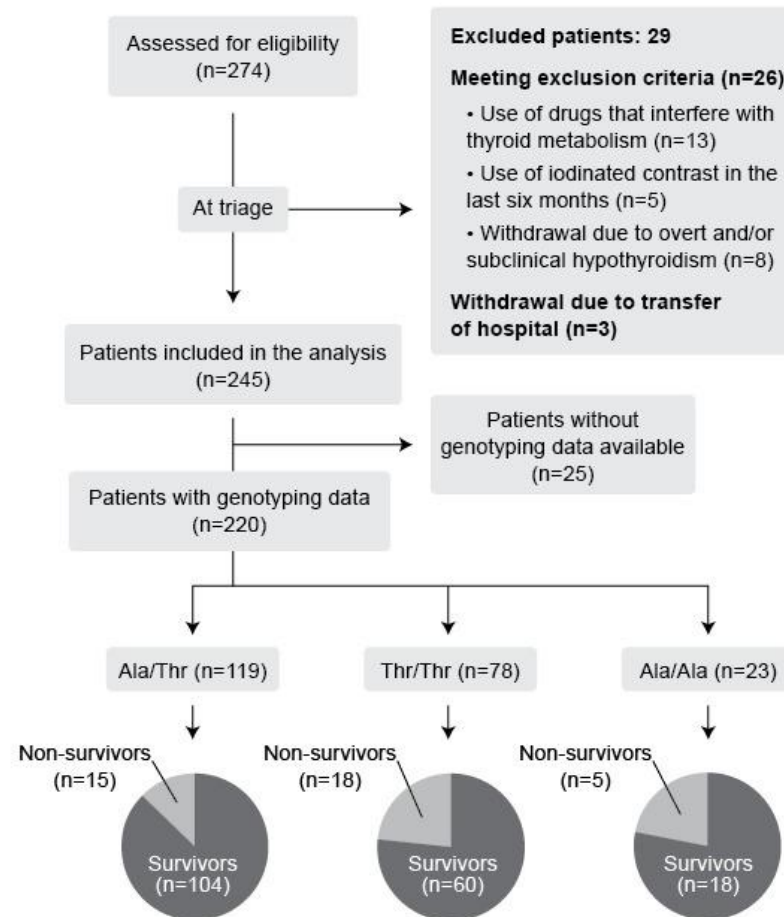
6. Kim ES, Chin BS, Kang CK, et al. Clinical course and outcomes of patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: A preliminary report of the first 28 patients from the Korean cohort study on COVID-19. *Journal of Korean Medical Science*. 2020;35(13).
7. Park M, Cook AR, Lim JT, Sun Y, Dickens BL. A Systematic Review of COVID-19 Epidemiology Based on Current Evidence. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(4):967.
8. Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, Maunder RJ. Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1995;151(2 Pt 1):293-301. doi:10.1164/ajrccm.151.2.7842182
9. Gao W, Guo W, Guo Y, et al. Thyroid hormone concentrations in severely or critically ill patients with COVID-19. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2021;44(5):1031-1040.
10. Chen M, Zhou W, Xu W. Thyroid Function Analysis in 50 Patients with COVID-19: A Retrospective Study. *Thyroid*. 2021;31(1):8-11.
11. Zou R, Wu C, Zhang S, et al. Euthyroid Sick Syndrome in Patients With COVID-19. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:566439.
12. Beltrão FE de L, Beltrão DC de A, Carvalhal G, et al. Thyroid Hormone Levels During Hospital Admission Inform Disease Severity and Mortality in COVID-19 Patients. *Thyroid*. 2021;31(11):1639-1649.
13. Campi I, Bulgarelli I, Dubini A, et al. The spectrum of thyroid function tests during hospitalization for SARS COV-2 infection. *European Journal of Endocrinology*. 2021;184(5):699-709.
14. Bhargava M, Runyon MR, Smirnov D, et al. Triiodo-L-thyronine rapidly stimulates alveolar fluid clearance in normal and hyperoxia-injured lungs. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2008;178(5):506-512.
15. Yu G, Tzouvelekis A, Wang R, et al. Thyroid hormone inhibits lung fibrosis in mice by improving epithelial mitochondrial function. *Nature Medicine*. 2018;24(1):39-49.
16. Ma SF, Xie L, Pino-Yanes M, et al. Type 2 deiodinase and host responses of sepsis and acute lung injury. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2011;45(6):1203-1211.
17. Bianco AC, Kim BW. Deiodinases: Implications of the local control of thyroid hormone action. *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(10):2571-2579.

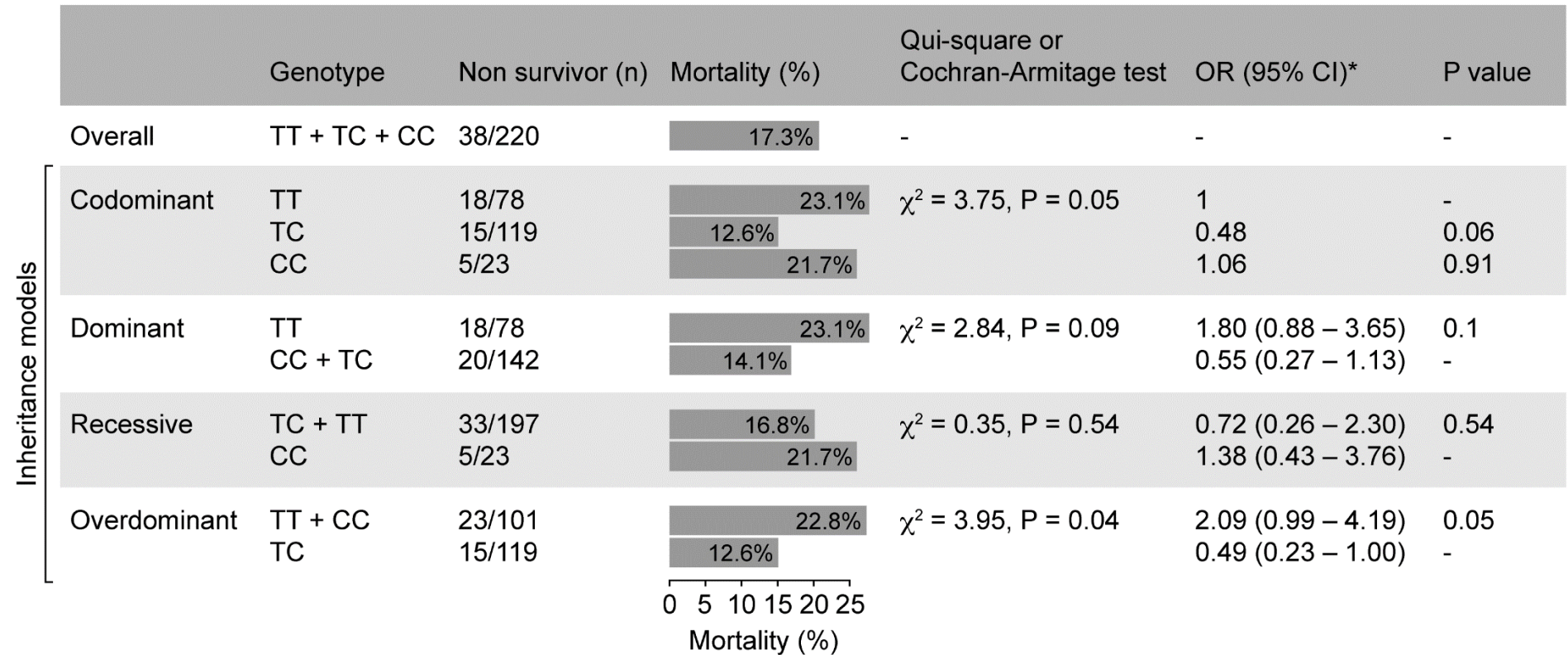
18. Guo TW, Zhang FC, Yang MS, et al. Positive association of the DIO2 (deiodinase type 2) gene with mental retardation in the iodine-deficient areas of China. *Journal of Medical Genetics*. 2004;41(8):585-590.
19. Zhang K, Xi H, Wang X, et al. A Family-based Association Study of DIO2 and children mental retardation in the Qinba region of China. *Journal of Human Genetics*. 2012;57(1):14-17.
20. Mentuccia D, Proietti-Pannunzi L, Tanner K, et al. Association between a novel variant of the human type 2 deiodinase gene Thr92Ala and insulin resistance: Evidence of interaction with the Trp64Arg variant of the  $\beta$ -3-adrenergic receptor. *Diabetes*. 2002;51(3):880-883.
21. Jo S, Fonseca TL, Bocco BMLC, et al. Type 2 deiodinase polymorphism causes ER stress and hypothyroidism in the brain. *Journal of Clinical Investigation*. 2019;129(1):230.
22. Dora JM, Machado WE, Rheinheimer J, Crispim D, Maia AL. Association of the type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism with type 2 diabetes: case-control study and meta-analysis. *European Journal of Endocrinology*. 2010;163(3):427-434.
23. Nair S, Muller YL, Ortega E, Kobes S, Bogardus C, Baier LJ. Association analyses of variants in the DIO2 gene with early-onset type 2 diabetes mellitus in Pima Indians. *Thyroid*. 2012;22(1):80-87.
24. Canani LH, Capp C, Dora JM, et al. The Type 2 Deiodinase A/G (Thr92Ala) Polymorphism Is Associated with Decreased Enzyme Velocity and Increased Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(6):3472-3478.
25. Grarup N, Andersen MK, Andreasen CH, et al. Studies of the Common DIO2 Thr92Ala Polymorphism and Metabolic Phenotypes in 7342 Danish White Subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(1):363-366.
26. Gumieniak O, Perlstein TS, Williams JS, et al. Ala92 Type 2 Deiodinase Allele Increases Risk for the Development of Hypertension. *Hypertension*. 2007;49(3):461-466.
27. Deure WM van der, Peeters RP, Uitterlinden AG, et al. Impact of thyroid function and polymorphisms in the type 2 deiodinase on blood pressure: the Rotterdam Study and the Rotterdam Scan Study. *Clinical Endocrinology*. 2009;71(1):137-144.
28. Meulenbelt I, Min JL, Bos S, et al. Identification of DIO2 as a new susceptibility locus for symptomatic osteoarthritis. *Human Molecular Genetics*. 2008;17(12):1867-1875.
29. Kang YE, Kang YM, Park B, Shong M, Yi HS. Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism is associated with a reduction in bone mineral density: A community-based korean genome and epidemiology study. *Clinical Endocrinology*. 2020;93(3):238-247.

30. Luo M, Zhou XH, Zou T, Keyim K, Dong LM. Type II deiodinase polymorphisms and serum thyroid hormone levels in patients with mild cognitive impairment. *Genetics and Molecular Research*. 2015;14(2):5407-5416.
31. Lim S, Bae JH, Kwon HS, Nauck MA. COVID-19 and diabetes mellitus: from pathophysiology to clinical management. *Nature Reviews Endocrinology*. 2021;17(1):1.
32. Friedman AN, Guirguis J, Kapoor R, Gupta S, Leaf DE, Timsina LR. Obesity, inflammatory and thrombotic markers, and major clinical outcomes in critically ill patients with COVID-19 in the US. *Obesity*. 2021;29(10):1719-1730.
33. Ye Q, Wang B, Mao J, et al. Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(7):755-769.
34. Pan F, Ye T, Sun P, et al. Time course of lung changes at chest CT during recovery from Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Radiology*. 2020;295(3):715-721.
35. de La Vega FM, Lazaruk KD, Rhodes MD, Wenz MH. Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan® SNP Genotyping Assays and the SNPlex™ Genotyping System. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2005;573(1-2):111-135.
36. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372.
37. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*. 2003;327(7414):557-560.
38. Carrington M, Nelson GW, Martin MP, et al. HLA and HIV-1: Heterozygote advantage and B\*35-Cw\*04 disadvantage. *Science*. 1999;283(5408):1748-1752.
39. Thursz MR, Thomas HC, Greenwood BM, Hill A v. Heterozygote advantage for HLA class-II type in hepatitis B virus infection. *Nature genetics*. 1997;17(1):11-12.
40. Hraber P, Kuiken C, Yusim K. Evidence for human leukocyte antigen heterozygote advantage against hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2007;46(6):1713-1721.
41. Ricci C, Kakularam KR, Marzocchi C, et al. Thr92Ala polymorphism in the type 2 deiodinase gene: an evolutionary perspective. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2020;43(12):1749-1757.
42. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(2):120-128.

43. Ackermann M, Mentzer SJ, Kolb M, Jonigk D. Inflammation and intussusceptive angiogenesis in COVID-19: Everything in and out of flow. *European Respiratory Journal*. 2020;56(5).
44. Gordon DE, Jang GM, Bouhaddou M, et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature* 2020 583:7816. 2020;583(7816):459-468.
45. Nair TS, Kakaraparthi BN, Yang L, et al. Slc44a2 deletion alters tetraspanin and N-cadherin expression: Reduced adhesion and enhanced proliferation in cultured mesenchymal lung cells. *Tissue and Cell*. 2021;73:101599.
46. Bennett JA, Mastrangelo MA, Ture SK, et al. The choline transporter Slc44a2 controls platelet activation and thrombosis by regulating mitochondrial function. *Nature Communications*. 2020;11(1):1-9.
47. Bouhaddou M, Memon D, Meyer B, et al. The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection. *Cell*. 2020;182(3):685-712.e19.
48. Dolskiy AA, Bodnev SA, Nazarenko AA, et al. Deletion of BST2 Cytoplasmic and Transmembrane N-Terminal Domains Results in SARS-CoV, SARS-CoV-2, and Influenza Virus Production Suppression in a Vero Cell Line. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2020;7:616798.
49. Xiong Y, Liu Y, Cao L, et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerging Microbes and Infections*. 2020;9(1):761-770.
50. Liao M, Liu Y, Yuan J, et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nature Medicine*. 2020;26(6):842-844.
51. Coperchini F, Chiovato L, Ricci G, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: Further advances in our understanding the role of specific chemokines involved. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2021;58:82-91.
52. McAninch EA, Jo S, Preite NZ, et al. Prevalent polymorphism in thyroid hormone-activating enzyme leaves a genetic fingerprint that underlies associated clinical syndromes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2015;100(3):920-933.

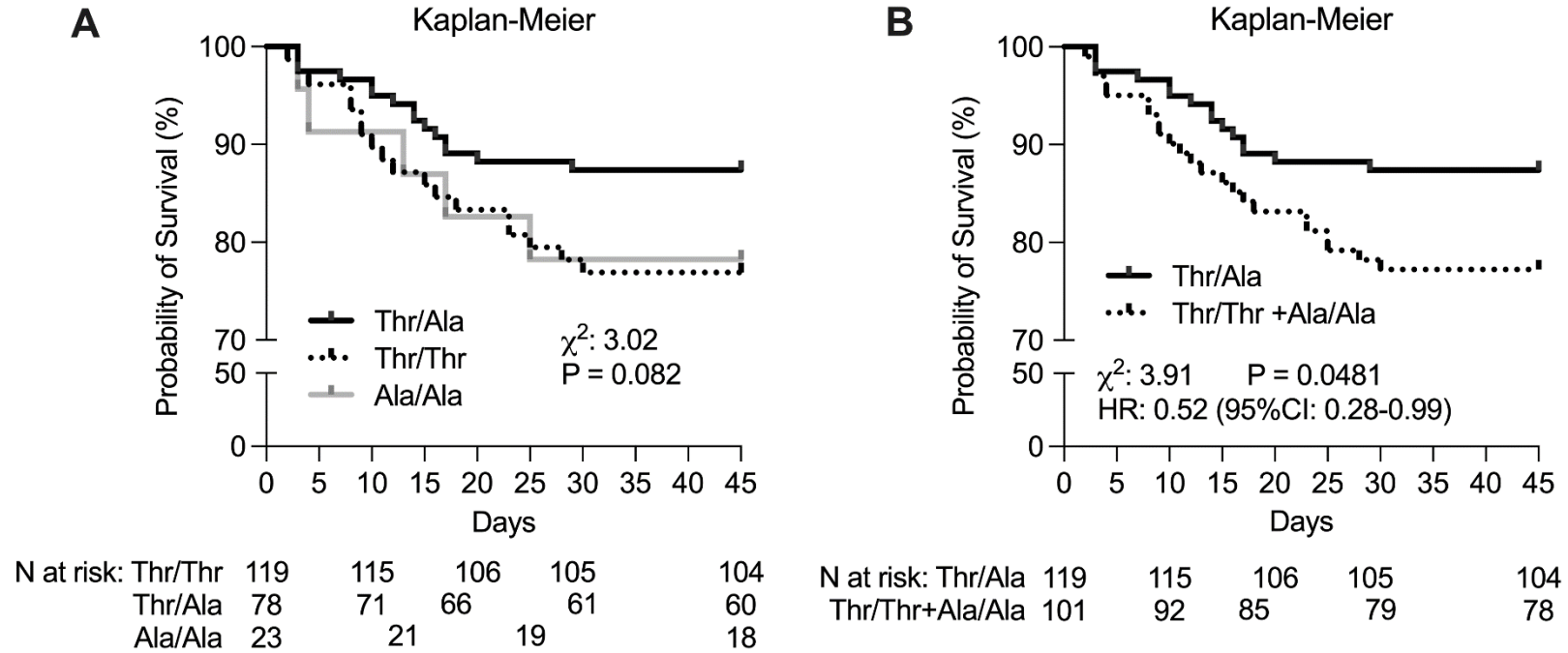
**Figure 1.** Flowchart of the study.



**Figure 2.** DIO2 Thr92Ala polymorphism and mortality (Cochran-Armitage test and Chi-square test).

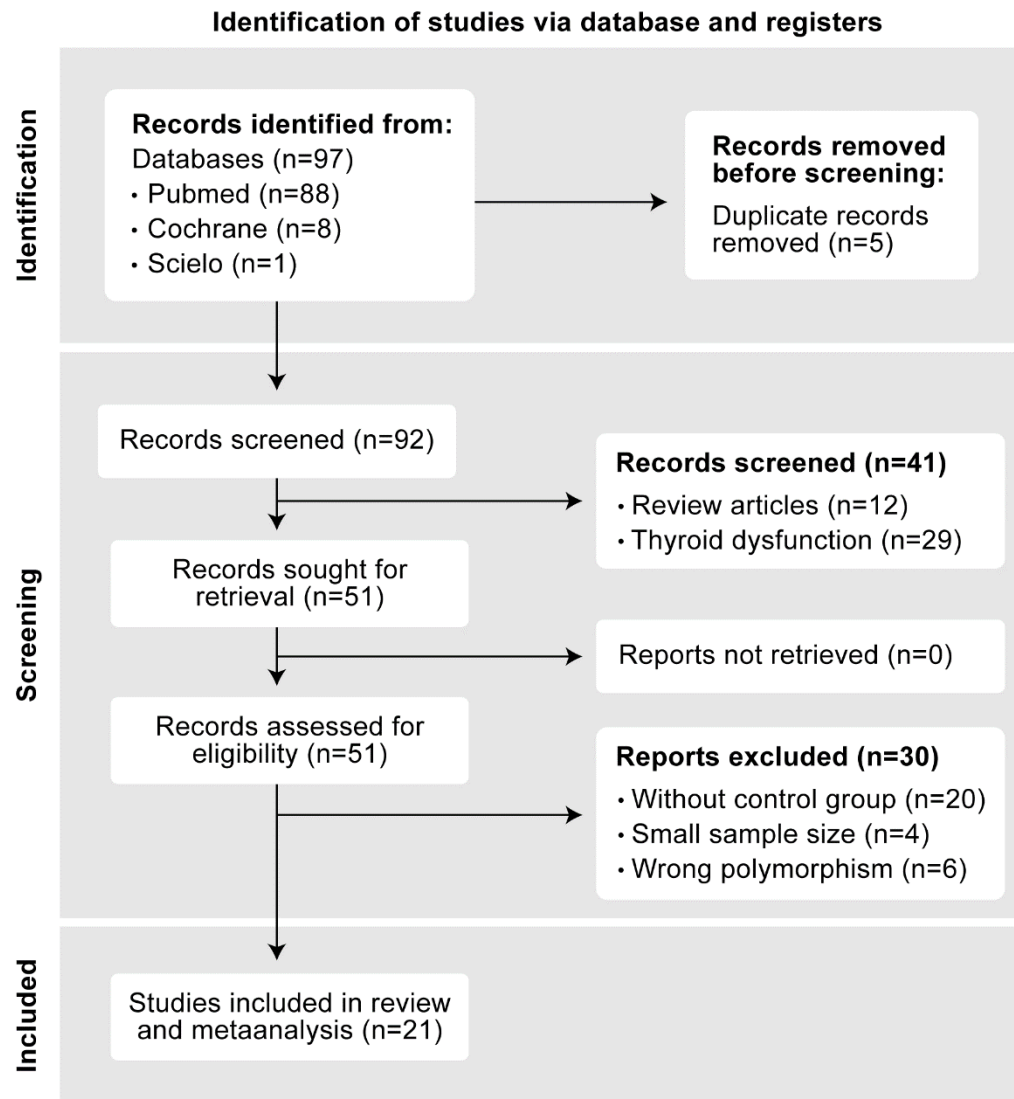
CI, confidence interval; OR, odds ratio;  $\chi^2$ , Chi-Square

**Figure 3.** Kaplan-Meier survival curve and their association with mortality

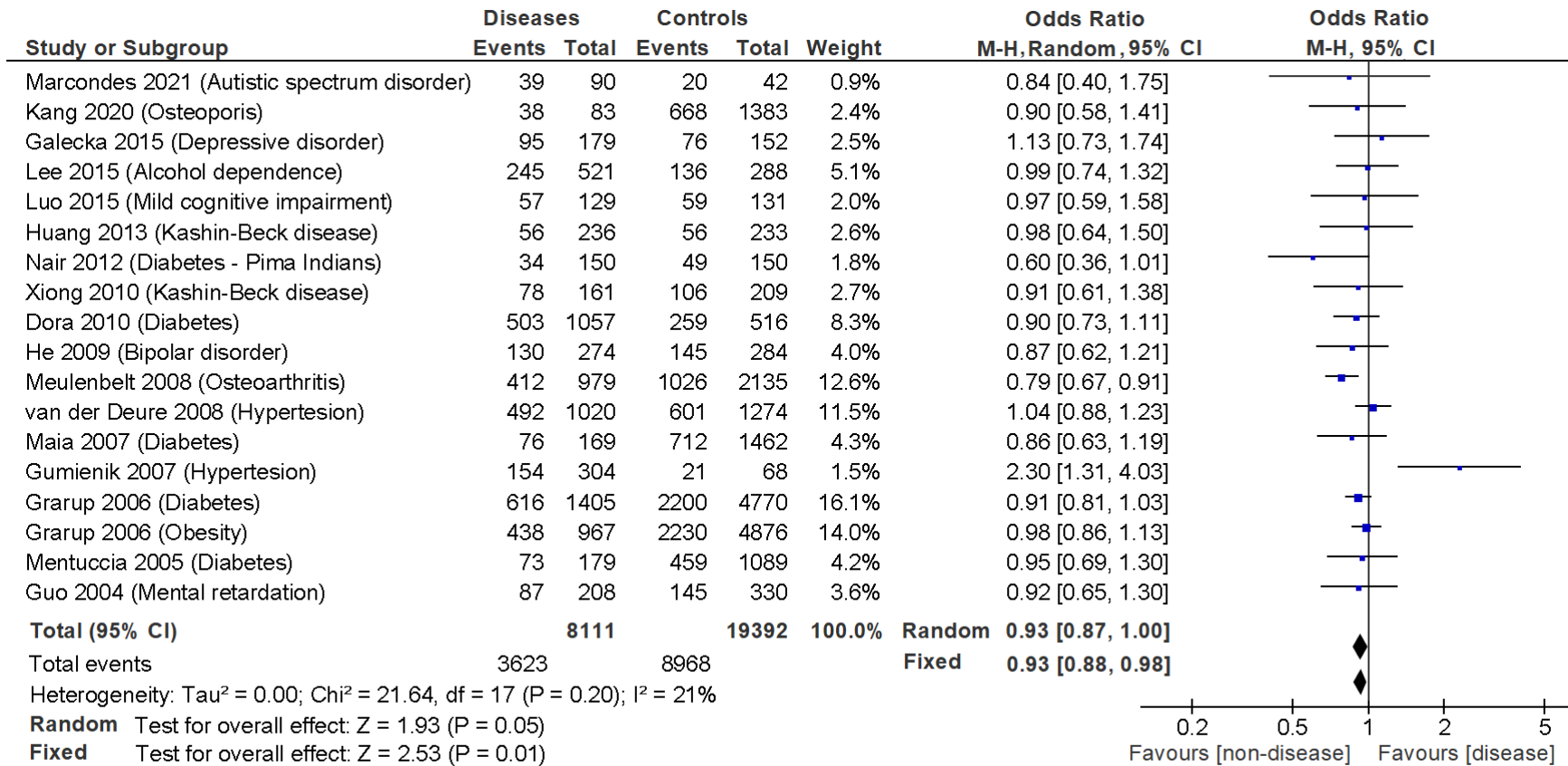


Kaplan-Meier survival curves of D2 Thr92Ala polymorphism for the overall survival in patients with COVID-19. (Thr/Thr vs. Thr/Ala vs. Ala/Ala and Thr/Ala vs. Thr/Thr + Ala/Ala). IQR, interquartile range; HR, hazard ratio.

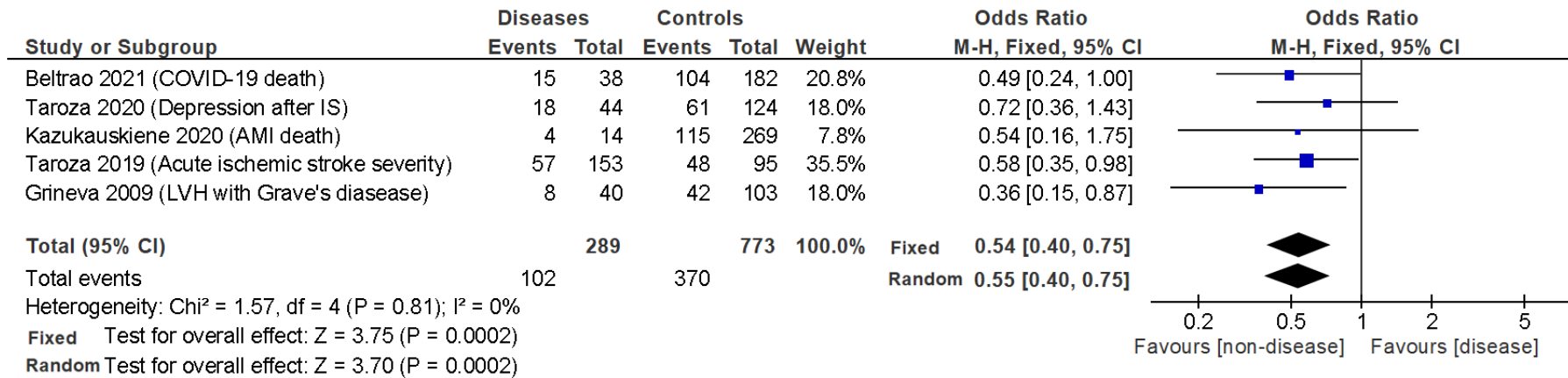
**Figure 4.** Flow diagram utilized in metanalysis (PRISMA 2020).



**Figure 5.** Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between the occurrence of a series of diseases and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to overdominant inheritance models.



**Figure 6.** Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between disease outcome and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to overdominant inheritance models.



AMI, acute myocardial infarction; IS, ischemic stroke; CI, confidence interval; ICU, intensive care unit; LVH, left ventricular hypertrophy; M-H, Mantel Haenszel.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the patient cohort and their association with Thr92Ala-DIO2 polymorphism and mortality.

Variables	Mann–Whitney test and Cochran–Armitage test					Univariate logistic regression Mortality		
	Total (n = 220)	Thr/Thr (n = 78)	Thr/Ala (n = 119)	Ala/Ala (n = 23)	p	OR	IC 95%	p
Age (y). median (IQR)	62 (48 -74)	63 (51-75)	60 (47-74)	63 (47-77)	0.539	1.016	0.993 – 1.040	0.176
Age > 60 year. n (%)	116 (52.7)	43 (56.5)	60 (50.4)	13 (56.5)	0.501	1.467	0.725 – 3.044	0.291
Gender male. n (%)	135 (61.3)	41 (52.5)	79 (66.4)	15 (65.2)	0.16	0.647	0.319– 1.318	0.226
Length of hospital stay (d). median (IQR)	6 (4 - 10)	7 (4 - 11)	6 (4 – 10)	6 (4 - 12)	0.611	<b>1.099</b>	1.052 – 1.154	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Comorbidities</b>								
Hypentension. n (%)	144 (65.4)	58 (74.3)	72 (60.5)	14 (60.9)	<b>0.049</b>	1.175	0.565 – 2.559	0.672
Diabetes mellitus. n (%)	93 (42.3)	33 (42.3)	51 (42.8)	9 (39.1)	0.881	1.352	0.661 -2.755	0.405
Cardiopathy. n (%)	28 (12.7)	12 (15.4)	15 (12.6)	1 (4.3)	0.628	0.333	0.052 – 1.187	0.146
Chronic pneumopathy (%)	10 (4.5)	5 (6.4)	4 (3.3)	1 (4.3)	0.317	0.51	0.027 – 2.891	0.540
Neoplasia n (%)	2 (0.9)	0 (0)	1 (0.8)	1 (4.3)	0.631	4.89	0.190 – 125.5	0.265
<b>Complications</b>								
Cardiovascular shock n (%)	28 (12.7)	12 (15.4)	13 (10.9)	3 (13)	0.357	<b>54.2</b>	19.3 – 181.4	<b>&lt;0.0001</b>
Endotracheal intubation	29 (13.2)	14 (17.9)	12 (10)	3 (13)	0.111	<b>129.3</b>	39 – 600	<b>&lt;0.0001</b>
ICU admission. n (%)	55 (25)	24 (30.7)	26 (21.8)	5 (21.7)	0.37	<b>36.8</b>	14.8 – 106.9	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Scores systems</b>								
NEWS2 Score. median (IQR)	6 (5 -7)	5 (4-6)	6 (5 -7)	6 (5 -7)	0.346	1.162	0.960 – 1.348	0.134
q-SOFA Score. median (IQR)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (0-1)	1 (1-1)	0.435	1.897	0.892 – 4.256	0.105
CT COVID Score. median (IQR)	20 (15-20)	20 (15-20)	20 (15-20)	20 (15-20)	0.786	1.043	0.972 – 1.133	0.277

Mann–Whitney test was performed for continuous variables (age, NEWS2, qSOFA and CT COVID score) while Cochran–Armitage test was performed for all other variables. CT, computed tomography; fT3, free triiodothyronine; fT4, free thyroxine; ICU, intensive care unit; IQR, interquartile range; NEWS2, National Early Warning Score 2; qSOFA, quick Sepsis Related Organ Failure Assessment.

Table 2. Blood biochemistry in COVID-19 patients and their association with Thr92Ala-DIO2 polymorphism and mortality.

Parameters (normal range)	Kruskal-Wallis test Median (IQR)					p	Benjamini- Hochberg's test	Univariate logistic regression Mortality		
	Total (n = 221)	A (Thr/Thr) (n = 79)	B (Thr/Ala) (n = 119)	C (Ala/Ala) (n = 23)	OR			IC 95%	p	
TSH (0.4 - 5.8 µIU/mL)	1.66 (0.9 – 3)	1.55 (0.9 – 3)	1.62 (0.9 – 2.9)	2.15 (1.0 – 3.8)	0.322		0.986	0.796-1.193	0.895	
fT4 (0.89 - 1.72 ng/dL)	1.33 (1 – 1.6)	1.3 (1 – 1.5)	1.35 (1.0 – 1.7)	1.28 (0.8 – 1.5)	0.465		1.011	0.497-1.989	0.975	
fT3 (2.0 - 4.2 pg/mL)	2.96 (2.6 – 3.4)	2.92 (2.6 – 3.3)	3.14 (2.6 – 3.5)	2.77 (2.1 – 3.2)	<b>0.029</b>	A-B (p=0.054) B-C (p=0.023)	0.460	0.276-0.739	<b>0.002</b>	
rT3 (0.1 - 0.35 ng/mL)	0.48 (0.3 – 0.6)	0.38 (0.2 – 0.6)	0.52 (0.3 – 0.6)	0.53 (0.3 – 0.6)	0.249		0.086	0.013-0.461	<b>0.006</b>	
Thyreoglobulin (1.59-59.9 ng/mL)	15.1 (6 – 26)	15.6 (6 – 28.7)	14.5 (6 – 23)	15.8 (6 – 45)	0.725		0.994	0.976-1.005	0.414	
FT3/RT3	6.60 (4.6 – 9.9)	7 (4.7 – 10.6)	6.61 (4.7 – 9.8)	4.83 (3.7 – 6.7)	0.056	B-C (p=0.045) A-C (p=0.016)	1.017	0.963-1.067	0.496	
FT3•RT3	1.28 (0.8-2.1)	1.1 (0.7-1.9)	1.46 (0.8 – 2.3)	1.24 (0.7 – 1.9)	0.075	A-B (p=0.025)	0.441	0.249-0.717	<b>0.002</b>	
FT3/FT4	2.3 (1.8 – 2.7)	2.2 (1.8 – 2.7)	2.31 (1.8 – 2.8)	2.1 (1.5 – 3)	0.787		0.588	0.347-0.899	<b>0.032</b>	
IL-6 (< 3.4 pg/mL)	49.8 (21 – 87)	43 (23 – 83)	55.5 (23 – 96)	32.8 (19 – 84)	0.533		1.000	0.999-1.001	0.739	
D-dimer (<500 ng/mL)	759 (487 – 1628)	924 (546 – 1579)	696 (458 – 1496)	706 (488 – 3629)	0.447		1.000	1.000-1.000	<b>0.047</b>	
LDH (207 - 414 U/L)	742 (538 – 1014)	723 (522 – 1006)	772 (564 – 1051)	718 (488 – 992)	0.529		1.001	1.000-1.002	<b>0.008</b>	
Creatinine (mg/dl)	1.1 (0.9 – 1.3)	1.13 (0.9 – 1.4)	1.1 (0.8 – 1.3)	1.0 (0.9 – 1.3)	0.342		1.017	0.754-1.197	0.851	
CRP (< 5.0 mg/dL)	83 (36 – 151)	68 (30– 145)	100 (42 – 162)	75.3 (33– 142)	0.337		1.009	1.004-1.015	<b>0.002</b>	
ALT (8 - 42 U/L)	62 (39 – 102)	53 (38 – 97)	68 (46 – 111)	48 (23 – 114)	0.06	A-B (p=0.046)	0.992	0.984-0.999	0.067	
AST (8 - 42 U/L)	54 (38– 80)	49 (36 – 77)	56 (40 – 84)	52 (33 – 75)	0.206		0.996	0.988-1.003	0.382	
Neutrophil (1935-6700 10 <sup>3</sup> cells/µL)	7412 (5348 – 10130)	7701(5237 – 9290)	7303 (5340 – 10660)	7560 (5642 – 9945)	0.978		1.000	1.000-1.000	0.053	
Hemoglobin (13-18 g/dL)	13.4 (12 – 14.4)	13 (11 – 14)	13.6 (12 – 14)	13.3 (12 – 14)	<b>0.032</b>	A-B (p=0.009)	0.816	0.680-0.978	<b>0.027</b>	
N/L ratio (1-3)	9.27 (5.8 – 14)	9.5 (5.8 – 14)	9.11 (6 – 14)	10.5 (5.2 – 14)	0.954		1.077	1.025-1.135	<b>0.004</b>	
Albumin (3.5-5.5 g/dL)	3.3 (2.9 – 3.7)	3.3 (2.9 – 3.7)	3.3 (2.9 – 3.7)	3.2 (2.7 – 3.4)	0.609		0.328	0.158-0.653	<b>0.002</b>	

Kruskal-Wallis test and Univariate logistic regression (mortality) were performed for all variables. ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin 6; LDH, lactate dehydrogenase; N/L ratio, neutrophil-lymphocyte ratio;

Table 3. Multivariable regression analyses of mortality, considering multiple covariates, Thr92Ala-DIO2 polymorphism, and overdominant inheritance model.

	Ala/Thr vs. Ala/Ala			Ala/Thr vs. Thr/Thr			Thr/Thr vs. Ala/Ala			Ala/Thr vs. Ala/Ala+Thr/Thr (Overdominant model)		
	OR*	CI 95%	P	OR*	CI 95%	P	OR*	CI 95%	P	OR*	CI 95%	P
Mortality	0.52	0.18 - 1.75	0.26	0.49	0.23 - 1.04	0.06	1.06	0.36 - 3.57	0.9	0.52	0.26 - 1.04	0.07
Male gender	0.52	0.18 - 1.76	0.26	0.51	0.24 - 1.1	0.09	1.02	0.34 - 3.43	1.0	0.54	0.26 - 1.08	0.08
Age > 60 year	0.53	0.18 - 1.79	0.27	0.50	0.23 - 1.06	0.07	1.07	0.36 - 3.59	0.9	0.53	0.26 - 1.06	0.07
Diabetes	0.48	0.16 - 1.62	0.20	<b>0.45</b>	0.21 - 0.98	<b>0.04</b>	1.05	0.36 - 3.53	0.9	<b>0.49</b>	0.23 - 0.98	<b>0.047</b>
Hypertension	0.52	0.18 - 1.75	0.26	0.49	0.23 - 1.06	0.07	1.05	0.36 - 3.55	0.9	0.53	0.26 - 1.06	0.08
Hospital stay	0.47	0.15 - 1.65	0.21	0.48	0.21 - 1.07	0.07	0.97	0.32 - 3.39	1.0	0.51	0.24 - 1.05	0.07
Model 1	0.43	0.14 - 1.54	0.17	<b>0.43</b>	0.19 - 0.99	<b>0.048</b>	0.99	0.32 - 3.51	1.0	<b>0.46</b>	0.21 - 0.98	<b>0.046</b>
TSH	0.51	0.17 - 1.72	0.24	0.49	0.23 - 1.03	0.06	1.04	0.35 - 3.51	0.9	0.52	0.26 - 1.05	0.07
Free T3	0.74	0.24 - 2.65	0.62	0.54	0.25 - 1.16	0.12	1.37	0.44 - 4.87	0.6	0.62	0.3 - 1.28	0.20
Free T4	0.51	0.17 - 1.74	0.25	0.49	0.23 - 1.03	0.06	1.06	0.36 - 3.55	0.9	0.52	0.25 - 1.04	0.07
Reverse T3	0.48	0.16 - 1.66	0.22	0.54	0.25 - 1.17	0.12	0.89	0.29 - 3.07	0.8	0.56	0.27 - 1.13	0.11
Model 2	0.61	0.19 - 2.24	0.42	0.56	0.25 - 1.22	0.14	0.92	0.25 - 1.22	0.9	0.64	0.3 - 1.32	0.23
IL6	0.51	0.17 - 1.73	0.25	0.49	0.23 - 1.04	0.06	1.05	0.26 - 3.52	0.9	0.52	0.25 - 1.04	0.07
CRP	0.55	0.16 - 2.19	0.36	<b>0.41</b>	0.18 - 0.9	<b>0.03</b>	1.34	0.4 - 5.36	0.6	<b>0.46</b>	0.21 - 0.96	<b>0.04</b>
D-DIMER	0.57	0.19 - 1.97	0.34	0.51	0.23 - 1.11	0.09	1.12	0.37 - 3.85	0.9	0.55	0.27 - 1.13	0.11
Neutrophil	0.47	0.16 - 1.61	0.20	<b>0.44</b>	0.2 - 0.96	<b>0.04</b>	1.06	0.36 - 3.59	0.9	<b>0.48</b>	0.23 - 0.97	<b>0.04</b>
LDH	0.46	0.15 - 1.58	0.19	0.47	0.21 - 1.05	0.07	0.97	0.32 - 3.33	1.0	0.49	0.23 - 1.03	0.06
Model 3	0.52	0.14 - 2.2	0.34	<b>0.36</b>	0.15 - 0.85	<b>0.02</b>	1.44	0.41 - 6.08	0.6	<b>0.42</b>	0.18 - 0.92	<b>0.03</b>
Model 4	0.46	0.12 - 2.04	0.27	<b>0.32</b>	0.12 - 0.8	<b>0.02</b>	1.43	0.38 - 6.41	0.6	<b>0.38</b>	0.16 - 0.87	<b>0.03</b>
Model 5	0.56	0.13 - 2.85	0.46	<b>0.32</b>	0.12 - 0.85	<b>0.03</b>	1.74	0.4 - 9.02	0.5	<b>0.40</b>	0.16 - 0.98	<b>0.049</b>

Multivariable regression analyses – Model 1 - adjusted for gender male, age > 60 anos, diabetes e arterial hypertension and and length of hospital stay; Model 2 - adjusted for TSH, fT3, fT4 and rT3; Model 3 - adjusted for IL6, Neutrophil, LDH, CRP and D-dimer; Model 4 - adjusted for Model 1 and 3; Model 5 - adjusted for all of the above variables.

Table 4. Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between the occurrence of a series of diseases and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to three inheritance models: dominant, overdominant and recessive.

Author, year	N	Major endpoint	Dominant model (Thr/Thr vs Thr/Ala + Ala/Ala)		Overdominant (Thr/Ala vs Thr/Thr + Ala/Ala)		Recessive (Ala/Ala vs Thr/Ala + Thr/Thr)	
			P value	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)
1. Marcondes, 2021	132	Autism	0.4	1.41 (0.62 - 3.19)	0.6	0.84 (0.40 - 1.75)	0.7	0.86 (0.37 - 2.04)
2. Kang, 2020	6022	Osteoporosis	0.4	0.82 (0.50 - 1.34)	0.7	0.90 (0.58 - 1.41)	0.1	1.48 (0.89 - 2.47)
3. Galecka, 2015	331	Recurrent depressive disorder	0.5	1.16 (0.75 - 1.79)	0.6	1.13 (0.73 - 1.74)	<b>0.01</b>	<b>0.07 (0.01 - 0.51)</b>
4. Lee, 2015	809	Alcohol dependence	0.7	0.94 (0.70 - 1.27)	1.0	0.99 (0.74 - 1.32)	0.6	1.12 (0.76 - 1.66)
5. Luo, 2015	260	Mild cognitive impairment	0.8	0.92 (0.55 - 1.55)	0.9	0.97 (0.59 - 1.58)	0.6	1.16 (0.65 - 2.07)
6. Huang, 2013	469	Kashin-Beck disease	0.8	1.06 (0.71 - 1.60)	0.9	0.98 (0.64 - 1.50)	0.6	0.70 (0.22 - 2.23)
7. Nair, 2012	300	Diabetes (Pima Indians)	0.2	0.43 (0.13 - 1.43)	<b>0.05</b>	<b>0.60 (0.36 - 1.01)</b>	<b>0.01</b>	<b>1.86 (1.13 - 3.05)</b>
8. Xiong, 2010	370	Kashin-Beck disease	0.9	0.96 (0.61 - 1.51)	0.7	0.91 (0.61 - 1.38)	0.5	1.21 (0.73 - 2.02)
9. Dora, 2010	1573	Diabetes	0.5	0.93 (0.75 - 1.15)	0.3	0.90 (0.73 - 1.11)	<b>0.02</b>	<b>1.43 (1.05 - 1.94)</b>
10. He, 2009	558	Bipolar disorder	<b>0.009</b>	<b>0.61 (0.42 - 0.88)</b>	0.4	0.87 (0.62 - 1.21)	<b>0.0001</b>	<b>2.27 (1.50 - 3.44)</b>
11. Meulenbelt, 2008	3114	Osteoarthritis	0.9	1.01 (0.86 - 1.18)	<b>0.002</b>	<b>0.79 (0.67 - 0.91)</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>1.64 (1.32 - 2.02)</b>
12. Van der Deure, 2008	2294	Hypertension	0.7	1.04 (0.88 - 1.23)	0.6	1.04 (0.88 - 1.23)	0.2	0.84 (0.66 - 1.06)
13. Maia, 2007	1631	Diabetes	0.7	1.06 (0.77 - 1.47)	0.4	0.86 (0.63 - 1.19)	0.4	1.22 (0.78 - 1.91)
14. Gumieniak, 2007	372	Hypertension	<b>0.007</b>	<b>0.48 (0.28 - 0.82)</b>	<b>0.004</b>	<b>2.30 (1.31 - 4.03)</b>	0.7	0.85 (0.41 - 1.75)
15. Grarup, 2006	6175	Diabetes	0.3	1.06 (0.94 - 1.20)	0.1	0.91 (0.81 - 1.03)	0.4	1.08 (0.90 - 1.29)
16. Grarup, 2006	5843	Obesity	0.1	1.11 (0.97 - 1.28)	0.8	0.98 (0.86 - 1.13)	0.1	0.82 (0.66 - 1.01)
17. Mentuccia, 2005	1268	Diabetes	0.5	0.91 (0.66 - 1.24)	0.7	0.95 (0.65 - 1.30)	0.1	1.52 (0.93 - 2.47)
18. Guo, 2004	538	Mental retardation	0.7	1.07 (0.75 - 1.52)	0.6	0.69 (0.48 - 0.99)	0.9	1.03 (0.65 - 1.63)
Metanalysis total (Fixed)	27503		0.7	1.01 (0.95 - 1.07)	<b>0.01</b>	<b>0.93 (0.88 - 0.98)</b>	<b>0.001</b>	<b>1.15 (1.06 - 1.24)</b>
Metanalysis total (Random)	27503		0.7	0.99 (0.92 - 1.07)	<b>0.05</b>	<b>0.93 (0.87 - 1.00)</b>	<b>0.04</b>	<b>1.19 (1.01 - 1.40)</b>
Heterogeneity analysis			Tau <sup>2</sup> = 0.01; Chi <sup>2</sup> = 22.43, P = 0.17; I <sup>2</sup> = 24%		Tau <sup>2</sup> = 0.00; Chi <sup>2</sup> = 21.64, P = 0.20; I <sup>2</sup> = 21%		Tau <sup>2</sup> = 0.07; Chi <sup>2</sup> = 5.68, P < 0.0001; I <sup>2</sup> = 68%	
Number of studies with p ≤ 0.05			3 studies		3 studies		5 studies	
Advantage (n)/Disadvantage (n)			2/1		2/1		1/4	

CI, confidence interval; OR, odds ratio;

Table 5. Fixed and Random effects meta-analysis of the haplotypic association between disease outcome and the Thr92Ala-DIO2 polymorphism according to three inheritance models: dominant, overdominant and recessive.

Author, year	N	Major endpoint	Dominant model (Thr/Thr vs Thr/Ala + Ala/Ala)		Overdominant (Thr/Ala vs Thr/Thr + Ala/Ala)		Recessive (Ala/Ala vs Thr/Ala + Thr/Thr)	
			P value	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)
1. Beltrao, 2021	220	COVID-19 death	0.1	1.83 (0.90 - 3.71)	<b>0.05</b>	<b>0.49 (0.24 - 1.00)</b>	0.6	1.38 (0.48 - 3.98)
2. Taroza, 2020	168	Depression after AIS	0.3	2.20 (0.47 - 10.2)	0.4	0.72 (0.36 - 1.43)	0.6	1.21 (0.61 - 2.40)
3. Kazukauskienė, 2020	283	Cardiac-related death in ICU	0.1	2.52 (0.77 - 8.23)	0.3	0.54 (0.16 - 1.75)	0.6	0.42 (0.02 - 7.29)
4. Taroza, 2019	248	AIS severity	0.4	1.53 (0.52 - 4.49)	<b>0.04</b>	<b>0.58 (0.35 - 0.98)</b>	0.1	1.54 (0.92 - 2.57)
5. Grineva, 2009	143	LVH with Graves's disease	<b>0.007</b>	<b>3.06 (1.36 - 6.90)</b>	<b>0.02</b>	<b>0.36 (0.15 - 0.87)</b>	0.4	0.49 (0.10 - 2.34)
Metanalysis total (Fixed)	1062		<b>0.0003</b>	<b>2.18 (1.43 - 3.3)</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.54 (0.40 - 0.75)</b>	<b>0.20</b>	<b>1.27 (0.88 - 1.83)</b>
Metanalysis total (Random)	1062		<b>0.0004</b>	<b>2.17 (1.41 - 3.3)</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.55 (0.40 - 0.75)</b>	<b>0.17</b>	<b>1.30 (0.90 - 1.88)</b>
Heterogeneity analysis			Tau <sup>2</sup> = 0.00; Chi <sup>2</sup> = 1.37, P = 0.85; I <sup>2</sup> = 0%		Tau <sup>2</sup> = 0.00; Chi <sup>2</sup> = 1.57, P = 0.81; I <sup>2</sup> = 0%		Tau <sup>2</sup> = 0.00; Chi <sup>2</sup> = 2.57, P = 0.63; I <sup>2</sup> = 0%	
Number of studies with p ≤ 0.05			1 studies		3 studies		0 studies	
Advantage (n)/Disadvantage (n)			0/1		3/0		0/0	

AIS, Acute ischemic stroke; CI, confidence interval; ICU, intensive care unit; LVH, left ventricular hypertrophy; OR, odds ratio;

APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA  
MAIORES DE 18 ANOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Função tireoidiana, status nutricional de iodo e biomarcadores hormonais e imunológicos como fatores prognósticos em pacientes com infecção pelo SARS-Cov-2 internados na rede referenciada de hospitais do município de João Pessoa**

Estou participando de livre e espontânea vontade, de uma pesquisa que tem como objetivo principal coletar informações que permitam a elaboração de indicadores que reflitam alterações metabólicas, hormonais e no estado nutricional de iodo nos pacientes com diagnóstico de infecção pelo novo coronavírus (SARS-Cov-2). A pesquisa se justifica pela inexistência de informações acerca da nova doença infecciosa que se tornou uma epidemia no mundo, visando assim, prevenir e controlar doenças que possam estar associadas como doenças da tireoide, diabetes, hipertensão arterial, etc.

Os pacientes serão atendidos nos hospitais: Hospital Santa Isabel (HSI), Complexo de Doenças Infecto Contagiosas Clementino Fraga e Hospital Metropolitano Dom José Maria Pires. Responderão a perguntas feitas pelos pesquisadores relacionados ao estudo (questionário padronizado para avaliar dados socioeconômicos, sintomas e sinais relacionados ao estudo, questionário para avaliar a gravidade das doenças). No exame físico, serão avaliadas as medidas antropométricas (peso, altura, IMC, circunferência da cintura abdominal, torácica e cervical, circunferência do braço, circunferência da panturrilha), teste de força de pressão palmar para avaliar a capacidade funcional. Realizarão exames de sangue (dosagem da vitamina D, bioquímica e hormônios) e coleta de urina para analisarmos a quantidade de iodo na urina. Você não contará com nenhum benefício financeiro ao participar da pesquisa, mas estará contribuindo para a identificação e prevenção de doenças relacionadas a nova pandemia do coronavírus na população da sua cidade.

Os riscos envolvidos nessa pesquisa são: 1) Físicos: os sujeitos da pesquisa podem apresentar desconforto ou dor na coleta de sangue com lanceta do digital com risco de contaminação, sangramento e infecção; 2) Psicológicos: os sujeitos podem ter suas emoções modificadas ou sentirem-se constrangidos na realização de um procedimento (antropometria, coleta de urina e sangue) e/ou ao fornecer dados pessoais, de saúde ou socioeconômicos; 3) Sociais: decorrentes de eventual quebra de sigilo das informações obtidas. A possibilidade de ocorrência do dano será minimizada através da atuação de equipe de pesquisa competente, com condutas baseadas nos critérios da biossegurança e acompanhamento ético, garantindo inclusive proteção da confidencialidade.

Em qualquer etapa do estudo, terei acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são os médicos Fabyan Esberard de Lima Beltrão, que pode ser encontrado no Hospital Universitário Lauro Wanderley (Ambulatório de Endocrinologia ou na enfermagem de Clínica Médica no HULW) ou E-mail: fesberard@gmail.com ou Tel. 996000460. Em caso de eventual necessidade sobre os meus direitos como participante nesse estudo, poderei procurar o Comitê de Ética em Pesquisa no

Hospital Universitário Lauro Wanderley (2º andar – Campus I – UFPB) ou ligar para o tel. (83)3216-7964.

Declaro que a minha participação no estudo é voluntária (sem qualquer forma de pagamento), e que estarei contribuindo no aumento de conhecimento sobre essa doença. Estou esclarecido (a) de que minha recusa em participar do estudo ou a minha desistência no curso do mesmo não afetará a qualidade e a disponibilidade da assistência médica que me será prestada.

Será garantido o meu anonimato e guardado sigilo de todos os dados. Autorizo a apresentação dos resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicação em revistas científicas.

Ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, com o pesquisador (a).

Fui informado (a) sobre a natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo, concordo com as explicações que a mim foram prestadas e confirmo que recebi uma via deste termo.

Nome do Paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura do Paciente: \_\_\_\_\_  
ou Responsável Legal

Data:     /     /



Confirmo que expliquei pessoalmente as informações necessárias sobre esse estudo ao paciente acima mencionado.

Informo que o documento contém duas páginas e que tanto o pesquisador quanto o participante, deverão rubricar a primeira e assinar a última página.

Nome do Pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador: \_\_\_\_\_

Data:     /     /

## **ANEXOS**



**INTOMAS INICIAIS**

Início dos sintomas \_\_\_\_\_; ( ) Febre (>37,8°C); ( ) Tosse; ( ) Dispneia; ( ) Mialgia; ( ) Fadiga;  
 ( ) Cefaleia; ( ) Adinamia; ( ) Odinofagia; ( ) Anosmia; ( ) Ageusia; ( ) Tontura; ( ) lipotimia;  
 ( ) Diarreia; ( ) Dor abdominal; ( ) Náuseas/Vômitos; ( ) Dor ou secreção ocular.

Outros sintomas: \_\_\_\_\_

**AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA**

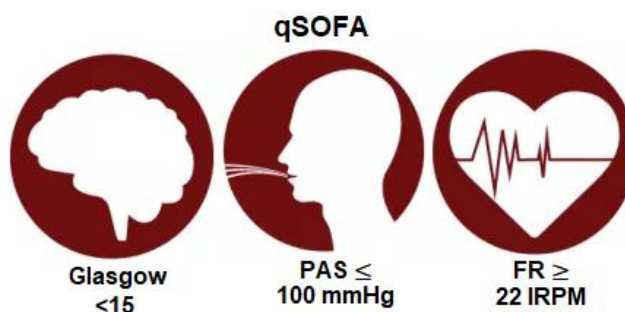
Peso corporal (kg): \_\_\_\_\_, Altura (metros): \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_

Circunferência do quadril: \_\_\_\_\_; Abdômen: \_\_\_\_\_; Panturrilha: \_\_\_\_\_ Braço \_\_\_\_\_

Valores da força de prensão palmar: 1- \_\_\_\_, 2- \_\_\_\_, 3- \_\_\_\_, M- \_\_\_\_\_;

Sat de O2 na admissão \_\_\_\_\_; Escore News 2 na admissão \_\_\_\_\_

Escala de Glasgow \_\_\_\_\_; Escore q-SOFA na admissão: \_\_\_\_\_

**SINAIS VITAIS – ADMISSÃO**

FC: \_\_\_\_\_

FR: \_\_\_\_\_

PAS: \_\_\_\_\_

PAD: \_\_\_\_\_

TEMP.: \_\_\_\_\_

SO2: \_\_\_\_\_

SUP. O2: \_\_\_\_\_

GLICEMIA CAP.: \_\_\_\_\_

**National Early Warning Score (NEWS)\***

Parâmetros Fisiológicos	3	2	1	0	1	2	3
Frequência Respiratória	≤8		9 - 11	12 - 20		21 - 24	≥25
Saturação de Oxigênio	≤91	92 - 93	94 - 95	≥96			
Uso de O2 suplementar		Sim		Não			
Temperatura	≤35,0		35,1 - 36,0	36,1 - 38,0	38,1 - 39,0	≥39,1	
Pressão Arterial Sistólica	≤90	91 - 100	101 - 110	111 - 219			≥220
Frequência Cardíaca	≤40		41 - 50	51 - 90	91 - 110	111 - 130	≥131
Nível de Consciência				A			V, P, or U

**A** - alerta **V** - resposta ao estímulo verbal **P** - resposta ao estímulo doloroso **U** - inconsciente

**Questionários de informações clínico-laboratoriais (referente à avaliação desde a admissão ou primeiro atendimento hospitalar até a alta):**

	<b>Data</b>	<b>Valor</b>
Primeira glicemia capilar na admissão hospitalar		
Glicemia capilar mais elevada		
Menor glicemia capilar desde admissão hospitalar		
Média das glicemias capilares nas últimas 48 horas		
Creatinina sérica mais elevada		
Uréia sérica mais elevada		
Presença de alteração hidro-eletrolítica		
Temperatura corporal mais elevada		
Frequência respiratória mais elevada		
Pressão arterial sistólica mais elevada		
Pressão arterial sistólica mais reduzida		
Troponina sérica mais elevada		
Transaminases séricas mais elevadas		
Menor contagem de plaquetas		
Maior contagem de leucócitos		
Menor contagem de leucócitos		
Valor inicial de hemoglobina glicada		
Maior valor de bilirrubina		
Maior relação PaO <sub>2</sub> /FIO <sub>2</sub>		
Menor relação PaO <sub>2</sub> /FIO <sub>2</sub> (na enfermaria)		
Menor relação PaO <sub>2</sub> /FIO <sub>2</sub> (na UTI)		
Menor SO <sub>2</sub>		
Maior valor de D-dímero		
Maior valor de PCR		
Maior valor de CK		

Resultados de sorologia e culturas (hemocultura, cultura de secreção \_\_\_\_\_)

Influenza A e B, Vírus sincicial respiratório \_\_\_\_\_

<b>Exames de imagem</b>	<b>Data</b>	<b>Sim/não</b>	<b>Especificações</b>
Raio X tórax (pulmões limpos)			
Raio X tórax (infiltrados pulmonares)			
Raio X tórax (derrame pleural)			
Raio X tórax (nódulos)			
TC tórax (vidro fosco heterogêneo)			
TC tórax (derrame pleural)			
TC tórax (nódulos)			
ECG (alterações)			
Outros			

<b>Procedimentos</b>	<b>(início e fim)</b>	<b>Especificações (dose, etc)</b>
Insulinoterapia		
Cânula nasal de oxigênio		
CPAP		
Ventilação mecânica invasiva		
Acesso venoso central		
Bloqueio neuromuscular		
Broncodilatadores inalatórios		
Vasopressores		
Transfusões		
Antihipertensivos		
Anticoagulantes		
Hidroxicloroquina ou cloroquina		
Azitromicina		
Dexametasona		
Hidrocortisona		
Prednisona ou prednisolona		
Antivirais		
Outros		
Outros		

Medicações da alta: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

<b>UTI</b>	<b>Data</b>	<b>Sim/não</b>	<b>Especificações</b>
Admissão			
Choque			
Relação PaO <sub>2</sub> /FIO <sub>2</sub>			
Maior FIO <sub>2</sub> na UTI			
Escore NEWS na admissão			
Escore q-SOFA na admissão			
Outros			

**EXAMES** Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

<b>Gasometria Arterial</b>	<b>Entrada</b> Data / /	<b>Gasometria na</b> <b>admissão da UTI</b> Data / /	<b>Saída</b> Data / /
pH			
pO <sub>2</sub>			
PCO <sub>2</sub>			
BIC			
BE			
SaO <sub>2</sub>			
FiO <sub>2</sub>			
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>			

**EXAMES DE ACOMPANHAMENTO**

<b>Exames</b>	<b>Data / /</b>	<b>Data / /</b>	<b>Data / /</b>	<b>Data / /</b>
<b>D- Dímero</b>				
<b>PCR</b>				
<b>Ferritina</b>				
<b>DHL</b>				
<b>Leucócitos</b>				
<b>Creatinina</b>				
<b>Troponina</b>				
<b>Mioglobina</b>				
<b>CKMB</b>				

**EXAMES**    Data Interna: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_    Data Externa: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

<b>Exame</b>	<b>Valor</b>	<b>Exame</b>	<b>Valor</b>	<b>Exame</b>	<b>Valor</b>
<b>TSH</b>		<b>Albumina</b>		<b>Colesterol total</b>	
<b>T4 livre</b>		<b>Hg glicada</b>		<b>LDL</b>	
<b>T3 livre</b>		<b>Glicose</b>		<b>HDL</b>	
<b>T3 reverso</b>		<b>TGO</b>		<b>Triglicédeos</b>	
<b>anti-TPO</b>		<b>TGP</b>		<b>Hemoglobina</b>	
<b>Tireoglobulina</b>		<b>Gama-GT</b>		<b>HCT</b>	
<b>Leptina</b>		<b>BT</b>		<b>VCM</b>	
<b>D- Dímero</b>		<b>BD</b>		<b>Leucócitos</b>	
<b>PCR</b>		<b>BI</b>		<b>Plaquetas</b>	
<b>Ferritina</b>		<b>TP</b>		<b>Anti-HIV</b>	
<b>Pro-calcitonina</b>		<b>INR</b>		<b>Anti-HCV</b>	
<b>Troponina</b>		<b>Ureia</b>		<b>Anti-HBs</b>	
<b>Interleucina 6</b>		<b>Creatinina</b>		<b>Interleucina 4</b>	
<b>DHL</b>		<b>Ácido Úrico</b>		<b>Interleucina 10</b>	
<b>25-OH-vitamina D</b>		<b>Sódio</b>		<b>Interleucina 13</b>	
<b>PTH</b>		<b>Potássio</b>		<b>Interleucina 17</b>	
<b>Magnésio</b>		<b>Fosforo</b>		<b>TNF-alfa</b>	
<b>Calcio</b>		<b>Lactato</b>		<b>IFN-gama</b>	
<b>Iodúria</b>		<b>CK total</b>		<b>BNP</b>	
<b>BCG</b>		<b>CKMB</b>			

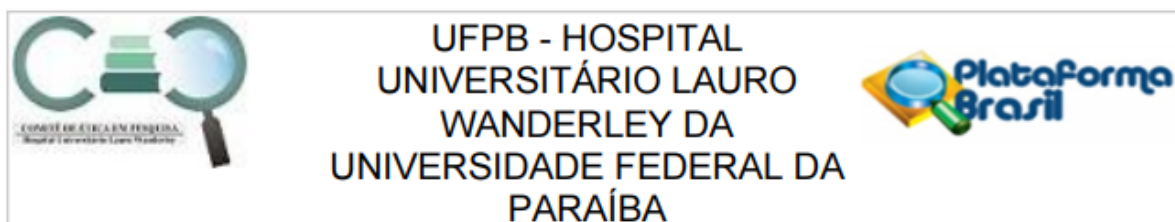
Outros: \_\_\_\_\_

**ETAPAS:**

1. Assinar o termo de consentimento
2. Realizar Questionário (epidemiológico)
3. Realizar medidas antropométricas
4. Solicitar exames de sangue (função tireoidiana, citocinas, vitamina D, PTH e demais exames) e urina (Iodúria)
5. Realizar após a alta do paciente (4- 8 semanas) o teste tuberculínico e a avaliação da força muscular com o dinamômetro.

Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Função tireoidiana, status nutricional de iodo e biomarcadores hormonais e imunológicos como fatores prognósticos em pacientes com infecção pelo SARS-Cov-2 internados na rede referenciada de hospitais do município de João Pessoa

**Pesquisador:** Fabyan Esberard de Lima Beltrao

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 31562720.9.0000.5183

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.024.145

#### Apresentação do Projeto:

Protocolo de pesquisa (Versão\_1), vinculado ao Hospital Universitário Lauro Wanderley/EBSERH/UFPB, sob a responsabilidade do pesquisador Fabyan Beltrão.

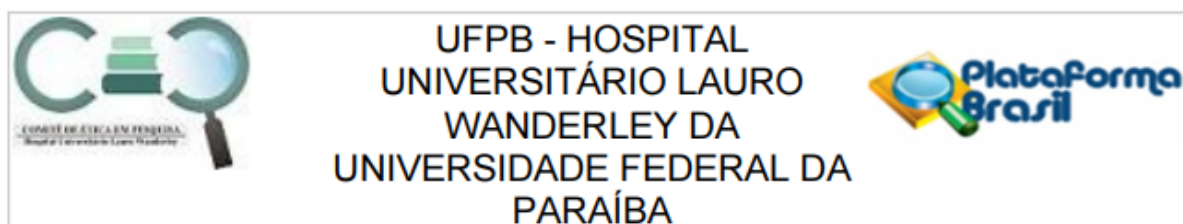
Informações da 'Apresentação do Projeto, Objetivo da pesquisa e Avaliação dos riscos e Benefícios foram extraídas do Projeto Detalhado e do formulário Informações Básicas da PB:

### . INTRODUÇÃO

#### 1.1. Pandemia da infecção pelo SARS-Cov-2 (COVID-19)

O novo Coronavírus (SARS-Cov-2) foi identificado como agente etiológico do surto de doenças respiratórias detectado, pela primeira vez, em Wuhan, China, em dezembro de 2019 (1). Alguns pacientes com a Doença do Coronavírus 19 (COVID-19), particularmente aqueles com idade avançada, diabetes, obesidade e hipertensão, apresentavam estado de saúde crítico na admissão e progrediram rapidamente para a morte dentro de duas a três semanas após início da doença (2–4).

**Endereço:** Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 58.059-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7964 **Fax:** (83)3216-7522 **E-mail:** comitedeetica.hulw2018@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.024.145

(ii) Avaliar a correlação entre dados antropométricos e de força muscular (dinamometria), em pacientes portadores do COVID-19 admitidos nas unidades de enfermagem, Semi-UTI e UTI e mortalidade, aspectos sócio-demográficos, inflamatórios, radiológicos e clínicos associados à SRAG.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

De acordo com as informações contidas no protocolo de pesquisa, os riscos envolvidos nessa pesquisa são:

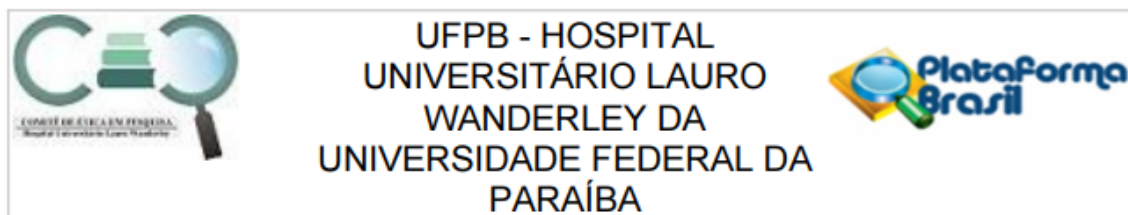
- 1) Físicos: os sujeitos da pesquisa podem apresentar desconforto ou dor na coleta de sangue com lanceta do digital com risco de contaminação, sangramento e infecção;
- 2) Psicológicos: os sujeitos podem ter suas emoções modificadas ou sentirem-se constrangidos na realização de um procedimento (antropometria, coleta de urina e sangue) e/ou ao fornecer dados pessoais, de saúde ou socioeconômicos;
- 3) Sociais: decorrentes de eventual quebra de sigilo das informações obtidas.

Os riscos físicos e/ou biológicos são mínimos para o paciente uma vez que o estudo é meramente observacional. A coleta de sangue e urina para dosagem dos biomarcadores será efetuada no momento da primeira coleta de sangue para exames de rotina da unidade de internação. Todos os pacientes serão manejados em sistema de isolamento, com observação cuidadosa de dados vitais e SaO<sub>2</sub>.

O acesso aos dados registrados em prontuário de pacientes ou em bases de dados para fins da pesquisa científica será feito somente após aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana. O Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) será assinado eletronicamente por um Tablet protegido por uma capa de plástico individual para cada paciente e posteriormente o tablet será descontaminado com luz ultra violeta de onda de 254 nanômetros e álcool gel e os pesquisadores apenas analisarão dados não identificados (anônimos).

Em relação aos benefícios, o pesquisador refere que a pesquisa se justifica pela inexistência de informações acerca da nova doença infecciosa que se tornou uma epidemia no mundo, visando assim, prevenir e controlar doenças que possam estar associadas como doenças da tireoide,

**Endereço:** Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 58.059-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7964 **Fax:** (83)3216-7522 **E-mail:** comitedeetica.hulw2018@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.024.145

diabetes, hipertensão arterial, etc.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto apresenta-se com instrução completa e adequada do processo, conforme diretrizes contidas na Resolução 466/2012, pertinência e valor científico para a comunidade em geral.

Em relação à amostra, o pesquisador esclarece como foi definido o quantitativo de 200 participantes registrados na Plataforma através da realização de cálculo amostral.

A metodologia apresenta-se adequada aos objetivos pretendidos, com identificação das etapas e procedimentos, bem como dos responsáveis pelo atendimento e acompanhamento dos participantes.

Quanto aos instrumentos de coleta, os mesmos foram devidamente apresentados no projeto ajudando a compreender as variáveis que serão contempladas.

Em relação à avaliação do binômio risco-benefício, o projeto considera o grau de vulnerabilidade dos participantes e apresenta as medidas protetoras cabíveis.

O TCLE expressa de forma clara a garantia dos direitos fundamentais do sujeito de pesquisa (informação, privacidade, recusa inócua, desistência, indenização, ressarcimento, acesso ao pesquisador e ao CEP). O mesmo também permite aos participantes pleno conhecimento dos objetivos do estudo, dos procedimentos de coleta, dos riscos possíveis e dos benefícios que o estudo poderá trazer.

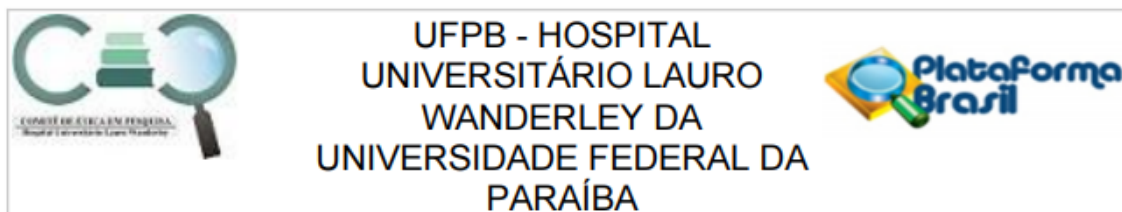
Em relação à metodologia de análise dos dados a mesma se encontra bem definida quanto aos procedimentos cabíveis.

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

Foram apresentados os seguintes documentos/termos:

1. Anuência do Hospital Universitário Lauro Wanderley

**Endereço:** Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 58.059-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7964 **Fax:** (83)3216-7522 **E-mail:** comitedeetica.hulw2018@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.024.145

2. Anuência do Hospital Santa Isabel
3. Instrumento de coleta de dados
4. Anuência do Hospital Clementino Fraga
5. Anuência do Hospital Metropolitano
6. Projeto detalhado
7. TCLE
8. Folha de rosto

**Recomendações:**

(O)A pesquisador(a) responsável e demais colaboradores deverão MANTER A METODOLOGIA PROPOSTA E APROVADA PELO CEP-HULW.

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

Considerando que o estudo apresenta viabilidade ética e metodológica e encontra-se em consonância com as diretrizes da Resolução 466/2012, do CNS, MS, somos favoráveis ao desenvolvimento da investigação.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Ratificamos o parecer de APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa, emitido pelo Colegiado do CEP/HULW, em reunião ordinária realizada em 12 de maio de 2020.

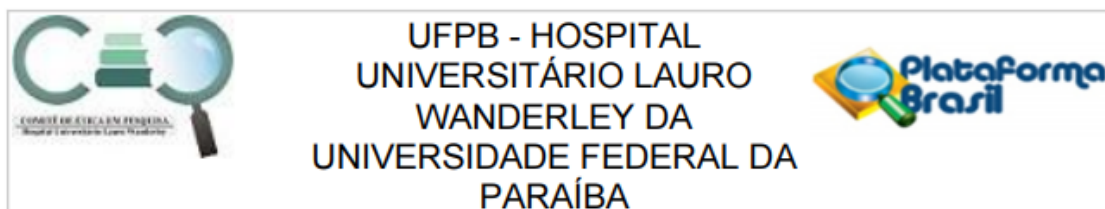
**OBSERVAÇÕES IMPORTANTES PARA O(S) PESQUISADORES**

. O participante da pesquisa e/ou seu responsável legal deverá receber uma via do TCLE na íntegra, com assinatura do pesquisador responsável e do participante e/ou responsável legal. Se o TCLE contiver mais de uma folha, todas devem ser rubricadas e com aposição de assinatura na última folha. O pesquisador deverá manter em sua guarda uma via do TCLE assinado pelo participante por cinco anos.

. O pesquisador deverá desenvolver a pesquisa conforme delineamento aprovado no protocolo de pesquisa e só descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade, pelo CEP que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata.

Lembramos que é de responsabilidade do pesquisador assegurar que o local onde a pesquisa será realizada ofereça condições plenas de funcionamento garantindo assim a segurança e o bem-estar dos participantes da pesquisa e de quaisquer outros envolvidos.

**Endereço:** Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 58.059-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7964 **Fax:** (83)3216-7522 **E-mail:** comitedeetica.hulw2018@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.024.145

Eventuais modificações ao protocolo devem ser apresentadas por meio de EMENDA ao CEP/HULW de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

O pesquisador deverá apresentar o Relatório PARCIAL E/OU FINAL ao CEP/HULW, por meio de NOTIFICAÇÃO online via Plataforma Brasil, para APECIAÇÃO e OBTENÇÃO da Certidão Definitiva por este CEP. Informamos que qualquer alteração no projeto, dificuldades, assim como os eventos adversos deverão ser comunicados a este Comitê de Ética em Pesquisa através do Pesquisador responsável uma vez que, após aprovação da pesquisa o CEP-HULW torna-se co-responsável.

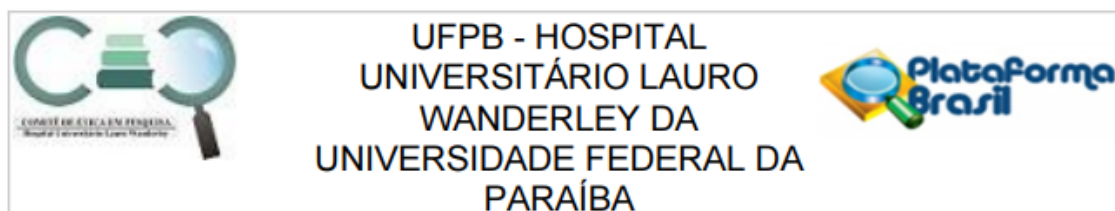
**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia_hosp_metropolitano.pdf	12/05/2020 20:49:17	MARIA ELIANE MOREIRA FREIRE	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1550342.pdf	08/05/2020 00:32:05		Aceito
Parecer Anterior	fichaiodo2.pdf	08/05/2020 00:31:34	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
Outros	anuenciahsi1.pdf	08/05/2020 00:28:36	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
Outros	questicovid19iod.docx	08/05/2020 00:28:14	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
Outros	AnCFiodo.pdf	08/05/2020 00:25:26	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
Outros	fichaiodo.pdf	08/05/2020 00:24:48	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVIDIoduria.doc	08/05/2020 00:24:11	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termoioduria.doc	08/05/2020 00:21:17	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito
Folha de Rosto	Folhalodo.pdf	08/05/2020 00:17:33	Fabyan Esberard de Lima Beltrao	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Endereço:** Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 58.059-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7964 **Fax:** (83)3216-7522 **E-mail:** comitedeetica.hulw2018@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.024.145

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

JOAO PESSOA, 12 de Maio de 2020

---

**Assinado por:**  
**MARIA ELIANE MOREIRA FREIRE**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 58.059-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7964 **Fax:** (83)3216-7522 **E-mail:** comitedeetica.hulw2018@gmail.com