

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – *CAMPUS*
DE FRANCISCO BELTRÃO, CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE,
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

KETLIN MARGARIDA WARMLING

**FREQUÊNCIA DOS ALELOS GSTT1 E GSTM1 EM PACIENTES
COM COVID-19 E ASSOCIAÇÃO COM A SOBREVIVÊNCIA**

FRANCISCO BELTRÃO – PR
(NOVEMBRO/2022)

KETLIN MARGARIDA WARMLING

**FREQUÊNCIA DOS ALELOS GSTT1 E GSTM1 EM PACIENTES
COM COVID-19 E ASSOCIAÇÃO COM A SOBREVIVÊNCIA**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas à Saúde, nível Mestrado, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador(a): Dra. Léia Carolina Lucio

FRANCISCO BELTRÃO – PR
(NOVEMBRO/2022)

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Warmling, Ketlin Margarida
Frequência dos alelos GSTT1 e GSTM1 em pacientes com Covid-19 e associação com a sobrevida / Ketlin Margarida Warmling; orientadora Leia Carolina Lucio. -- Francisco Beltrão, 2022.
66 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Francisco Beltrão) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2022.

1. SARS-CoV-2. 2. Glutathione-S-Transferase. 3. Hipertensão. 4. Sobrevida. I. Lucio, Leia Carolina, orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

KETLIN MARGARIDA WARMLING

**FREQUÊNCIA DOS ALELOS GSTT1 E GSTM1 EM PACIENTES COM
COVID-19 E ASSOCIAÇÃO COM A SOBREVIVÊNCIA**

Essa dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde e aprovada em sua forma final pelo(a) Orientador(a) e pela Banca Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Orientador (a): Profa. Dra. Léia Carolina Lucio
UNIOESTE

Membro da banca: Dra. Lirane Elize Defante Ferreto
UNIOESTE

Membro da banca: Prof. Dr. Fernando Rodrigo Treco
UNIOESTE

FRANCISCO BELTRÃO, PR
Novembro/2022

BIOGRAFIA

Meu nome é Ketlin Margarida Warmling. Sou natural de Enéas Marques. Tenho 23 anos, sou enfermeira, formada pela Universidade Paranaense (UNIPAR), no ano de 2021. E pós graduada em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) – Urgências e Emergência.

Atualmente, atuo como enfermeira intensivista da UTI - Neonatal do Hospital Regional do Sudoeste (HRS). E sou mestranda do curso de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE – Francisco Beltrão.

Sempre estou buscando mais aperfeiçoamento dentro da minha área profissional, para almejar o meu sucesso na carreira, aproveitadas oportunidades importantes para minha evolução.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelos dons que me deu nesta existência que serviram na realização deste projeto.

Sou grata aos meus pais, Rosangela Antonello Warmling e Wilson Warmling, por sempre me incentivarem e acreditarem que eu seria capaz de superar os obstáculos que a vida me apresentou.

A minha irmã, Jheniffer Valmira Warmling, que disponibilizava seu tempo para me auxiliar nas dúvidas e dificuldades encontradas, e sempre me apoiou.

A minha sobrinha Helena Vallentina pelos dias passado comigo, me divertindo com suas brincadeiras e simpatia, fazendo com que eu descansasse a cabeça, após semanas de estudo.

Quero agradecer a minha orientadora Léia Carolina Lucio, que me ajudou na escrita e execução deste trabalho, exigindo além do que eu imaginava que era capaz de fazer, contribuindo para que eu pudesse crescer. Por ter dedicado seu tempo e por transmitirem seus conhecimentos. Obrigada por confiar em mim.

Agradeço a todos os professores da UNIOSTE – Francisco Betirão que disponibilizaram materiais e emprestaram equipamentos para que a execução do meu trabalho, em especial a professora Lirane Elize Defante Ferreto. A todos os meus amigos e colegas.

Muito obrigada a todos!

DEDICATÓRIA

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.” (Roberto Shinyashiki).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Estimativas de Kaplan-Meier para sobrevivência/sobrevida dos pacientes com Covid-19, para os genótipos GSTM1 (A), GSTT1 (B), combinações (C) com teste de Log-rank.....	45
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Características gerais e genóticas do grupo de pacientes internados com diagnóstico de COVID-19 no município de Francisco Beltrão, PR, Brasil	41
TABELA 2- Relação dos genótipos GSTM1 e GSTT1 com variáveis clínicas e desfecho de hospitalar dos pacientes com COVID-19 em Francisco Beltrão, PR, Brasil.....	42
TABELA 3- Frequência dos genótipos GSTM1 e GSTT1 com variáveis sexo, idade e HAS dos pacientes com COVID-19 em Francisco Beltrão, PR, Brasil	42
TABELA 4- Sobrevida dos pacientes com Covid-19 a partir dos polimorfismos GSTM1 e GSTT1 em Francisco Beltrão, PR, Brasil	43
TABELA 5- Resultado da regressão de Cox-Hazard (HR) para os polimorfismos GST e Hipertensão considerando a sobrevida dos pacientes internados com COVID-19 em Francisco Beltrão, PR, Brasil.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE - Enzima Conversora de Angiotensina
ACE2 - Enzima Conversora da Angiotensina 2
ANG II - Angiotensina II
AT1 - Receptor de Angiotensina I
AT2 - Receptor de Angiotensina II
BRAs - Bloqueadores dos receptores da angiotensina (BRAs)
CAT - Catalase
CEP - Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos
CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
COVID-19 - Doença do Coronavírus 2019
CoVs - Coronavírus
DCNT - Doença Crônica Não Transmissível
DCV - Doenças Cardiovasculares
DM - Diabetes Mellitus
DNA - Ácido Desoxirribonucleico
DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
DRCs - Doenças Respiratórias Crônicas
EBV – Vírus Epstein-Barr
ECA - Enzima Conversora de Angiotensina
EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EO - Estresse Oxidativo
ESPII - Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FIN - Ficha Individual de Notificação
GAL - Gerenciador de Ambiente Laboratorial
GPx - Glutathiona peroxidase
GSH - Glutathiona
GST - Glutathiona-S-Transferase
GSTM1 - Isoforma μ da Glutathionas S-Transferase
GSTT1 - Isoforma θ da Glutathionas S-Transferase
GSUS - Sistema de Gestão Hospitalar e Ambulatorial
HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV - Papilomavírus Humano
HR – Razão de Risco
HRS - Hospital Regional do Sudoeste
HSF - Hospital São Francisco
ICC - Insuficiência Cardíaca Congestiva
MERS-CoV - Síndrome Respiratória do Oriente Médio causado pelo Coronavírus
MS - Ministério da Saúde
NRF-2 - Fator Nuclear derivado de Eritróide 2
NsSNP - Polimorfismo de Nucleotídeo Único não sinônimo
O₂ - Oxigênio
OMS - Organização Mundial de Saúde
OR - Odds Ratio
ORF – Região de Leitura Aberta
PAD - Pressão Arterial Diastólica
PAS - Pressão Arterial Sistólica
PCR - reação de cadeia de polimerase (PCR)
qRT-PCR - Reação de Cadeia de Polimerase de Transcrição Reversa quantitativa
RAAS - Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
RBD - Domínio de Ligação do Receptor
RNA - Ácido Ribonucleico
RNS - Espécies Reativas de Nitrogênio
ROS - Espécies Reativas de Oxigênio
RS - Regionais de Saúde
SARS - Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2 - Síndrome Respiratória Aguda Grave causada pelo Coronavírus 2
SNPs - Polimorfismos de Nucleotídeo Único
SOD - Superóxido Dismutase
SPSS - Software Statistical Package for the Social Sciences
TC - Tomografia Computadorizada
TMPRSS2 - Protease Serina Transmembranar 2
UPA - Unidade de Pronto Atendimento
UTI - Unidade de Terapia Intensiva
UTI - Unidade de Terapia Intensiva)

XMEs - Enzimas Metabolizadoras de Xenobióticos

FREQUÊNCIA DOS ALELOS GSTT1 E GSTM1 EM PACIENTES COM COVID-19 E ASSOCIAÇÃO COM A SOBREVIDA

Resumo

Determinar a frequência dos alelos GSTT1 e GSTM1 em pacientes internados com COVID-19 e verificar se há associação dos alelos nulos com a gravidade da doença, com o desfecho de óbito e com a sobrevida do paciente. O estudo objetivou determinar a frequência dos alelos GSTT1 e GSTM1 e a associação com casos moderados e grave de COVID-19, com o desfecho de óbito e sobrevida dos pacientes. Trata-se de um estudo descritivo e transversal desenvolvido no município de Francisco Beltrão, sudoeste do Paraná. Avaliou-se 270 pacientes internados entre os anos de 2020 e 2021, positivos para COVID-19, com idade média de 56 anos, e predominância do sexo masculino. Apresentaram estado clínico grave 55,8%, seguido de 41,5% de casos moderados. Verificaram-se 90 óbitos, seguido de 174 (65,9%) indivíduos com desfecho de alta. O tempo de internação apresentou uma média de 11 dias. Dos pacientes, 43,4% possuíam como comorbidade a HAS. Os genótipos nulos GSTM1⁻ esteve presente em 66,8% dos internados e GSTT1⁻ em 58,78%. Já em relação as formas alélicas GSTM1⁺ e GSTT1⁺, observou-se uma frequência de 33,2% e 41,22%, respectivamente, nos indivíduos internados. A frequência de indivíduos com a combinação de ambos os alelos deletados GSTM1⁻/GSTT1⁻ foi de 46,2%. Detectou-se ausência de associação dos polimorfismos com a gravidade da doença e com o desfecho do paciente. Contudo, observaram-se efeitos da combinação GSTM1⁻/GSTT1⁺ ampliando a chance de sobrevida dos pacientes e da associação entre os polimorfismos com a HAS, dobrando a chance de redução da sobrevida nos hipertensos e ampliando o risco de morte. Concluindo a relação significativa entre a HAS com a redução da sobrevida e ampliação do desfecho de óbito. E associação protetiva da combinação genotípica GSTM1⁺/GSTT1⁻ favorável à sobrevida dos pacientes com Covid-19. Além disso, observou-se que hipertensos com perfil duplo nulo a sobrevida foi de apenas 13 dias, possivelmente, possivelmente determinada pela HAS e não pelo perfil genotípico da população.

Palavras-chave

Glutathione-S-Transferase, Gravidade, Hipertensão, SARS-CoV-2, Sobrevida

GSTT1 AND GSTM1 ALLELE FREQUENCY IN PATIENTS WITH COVID-19 AND ITS ASSOCIATION WITH SURVIVAL

Abstract

This study aimed to determine glutathione S-transferase theta-1 (GSTT1) and Mu 1 (GSTM1) allele frequencies and their association with moderate and severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases, mortality rates, and patient survival. This is a descriptive and cross-sectional study developed in the municipality of Francisco Beltrão, southwest of Paraná. In total, 270 inpatients tested positive for COVID-19 with a mean age of 56 years were evaluated from 2020 to 2021 in this study. The patient cohort was predominantly male. Among them, 55.8% of patients had a severe clinical status, followed by 41.5% of patients with a moderate status. Ninety patients died, whereas 174 (65.9%) individuals were discharged. The mean length of stay was eleven days. As for comorbidities, 43.4% of patients had high blood pressure (HBP). The null genotypes GSTM1⁻ and GSTT1⁻ were identified in 66.8 and 58.78% of inpatients, respectively. Conversely, GSTM1⁺ and GSTT1⁺ allelic forms showed frequencies of 33.2 and 41.22% in inpatients, respectively. The frequency of individuals with both deleted alleles (GSTM1⁻/GSTT1⁻) was 46.2%. Polymorphisms were not associated with disease severity or patient outcomes. However, the GSTM1⁻/GSTT1⁺ combination significantly increased the odds of patient survival, whereas the combination of polymorphisms in association with HBP decreased the odds of survival by two-fold in hypertensive patients and increased the risk of death. Concluding the significant relationship between SAH with the reduction in survival and expansion of the death outcome. And protective association of the GSTM1⁺/GSTT1⁻ genotypic combination favorable to the survival of patients with Covid-19. In addition, it was observed that in hypertensive patients with a double null profile, survival was only 13 days, possibly determined by SAH and not by the genotypic profile of the population.

Keywords

Glutathione S-Transferase, Severity, High blood pressure, SARS-CoV-2, Survival

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 Geral	22
2.2 Específicos.....	22
3. METODOLOGIA	23
3.1 População e desenho do estudo.....	23
3.2 Coleta de dados e de amostra sanguínea.....	23
3.3 Isolamento do material genético	24
3.4 Genotipagem GSTM1 e GSTT1	24
3.5 Análise estatística	25
4. REFERÊNCIAS.....	26
5. ARTIGO: FREQUÊNCIA DOS ALELOS GSTT1 E GSTM1 EM PACIENTES COM COVID-19 E ASSOCIAÇÃO COM A SOBREVIVÊNCIA	Erro! Indicador não definido.
6. ANEXOS	55

1. INTRODUÇÃO GERAL

A Síndrome Respiratória Aguda Grave causada pelo Coronavírus 2 (SARS-CoV-2) surgiu em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, na China, e tornou-se um problema de saúde pública grave em todo o mundo (ROTHAN; BYRAREDDY, 2020). A partir de 11 de março de 2020, foi declarada a Pandemia da COVID-19 (Doença causada pelo novo coronavírus 2) pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (ADHIKARI et al., 2020). A partir disso, o cenário epidemiológico mundial foi caracterizado pela alta taxa de propagação do vírus, com índices elevados de novos casos e óbitos registrados diariamente (BRASIL, 2020b), ocasionando graves consequências para a saúde pública e à atividade econômica em escala global (AYITTEY et al., 2020).

Desde o início da pandemia até 05 de outubro de 2022, foram confirmados 616.427.419 casos de COVID-19 no mundo. Os Estados Unidos foi o país com o maior número de casos acumulados (95.150.745), seguido da Índia (44.601.934), Brasil (34.684.529), França (34.533.358) e Alemanha (33.519.761). Em relação aos óbitos, foram confirmados 6.528.557 no mundo até o dia 05 de outubro de 2022, sendo os Estados Unidos o país com maior número de óbitos (1.048.634), seguido do Brasil (686.371), Índia (528.733), Rússia (387.779) e México (330.139), respectivamente (WHO, 2022).

No estado do Paraná, a extração dos dados da Secretaria Estadual de Saúde, conferiu até dia 05 de outubro de 2022, 2.737.421 casos de pessoas infectadas, dos quais 45.117 foram a óbito e 2.679.857 estão recuperados. Os indicadores apontaram predominância de infecção no sexo feminino e óbito no sexo masculino, com 1.482.640 e 25.841 respectivamente (PARANÁ, 2022). No estado do Paraná, até a mesma data, as maiores taxas por 100 mil habitantes de casos foram registrada na cidade de Maringá (30.602,4), seguido por Francisco Beltrão (29.928,2) e em terceiro lugar Foz do Iguaçu (29.539,1). Em relação aos óbitos, Apucarana foi a cidade com maior número apurados de letalidade (469,0), seguido de de Foz do Iguaçu (457,0) e Londrina (448,9) (PARANÁ, 2022).

O vírus apresenta alta taxa de transmissão, por meio de inalação ou contato com gotículas infectadas, com um período de incubação que varia entre 1 e 14 dias (LIN et al., 2020; ROHIT et al., 2020). Característica que levou a exigência do uso de

barreiras de contenção pela população (como manter distância segura, cobrir boca e nariz com lenço ao tossir e espirrar, lavar as mãos com frequência e usar equipamentos de proteção individual, como máscaras faciais), ocasionando a restrição do convívio social no mundo todo (AMA, 2020).

Após a entrada do SARS-CoV-2 no organismo, o indivíduo pode apresentar-se assintomático ou ter manifestações variadas, incluindo sintomas leves ou moderados a casos graves (LAUER; GRANTZ; BI, 2020; LI et al., 2020a). Os casos assintomáticos caracterizam indivíduos que testaram positivo para o SARS-CoV-2 no exame padrão ouro, qRT-PCR, mas com ausência de sintomas (BRASIL, 2022b). Já os casos leves consideram indivíduos que podem apresentar febre, expressar calafrios, tosse, dor de garganta, cansaço, dor de cabeça ou mialgia, fadiga, dor abdominal, diarreia, alteração de olfato ou paladar. Logo, não havendo necessidade de internação na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (YANG et al., 2020; TIAN et al., 2019; XU et al., 2020; ZHAO et al., 2020).

Os casos moderados são sujeitos que manifestam além dos sintomas leves da doença, tosse persistente e febre diária, somados a piora progressiva da doença, apresentando adinamia, prostração, hiporexia e pneumonia sem sinais de gravidade. São os indivíduos, que necessitaram de suporte de serviços de hospitalar para monitoramento (BRASIL, 2022b; YANG et al., 2020). E os casos graves caracterizam pessoas com a síndrome respiratória aguda grave (SARS) com presença de síndrome gripal, associada a dispneia intensa, desconforto respiratório, com pressão persistente no tórax, mantendo saturação de oxigênio (O₂) inferior a 95% em ar ambiente, além de cianose nas extremidades, lábios e rosto (CHEN et al., 2020b; BRASIL, 2022a). A progressão da doença nos casos graves ocorre de forma rápida, devido ao comprometimento do sistema respiratório, principalmente do pulmão. Além disso, leva a complicações de outros sistemas, incluindo o gastrointestinal, circulatório, muscular, nervoso, sensorial, endócrino, urinário e imunológico (PING-HSING et al., 2021). Sendo assim, esses pacientes necessitam de internação hospitalar, geralmente em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), elevando o risco de sepse e choque séptico (YANG et al., 2020).

Devido ao internamento prolongado com número expressivo de dias, o risco de morte do indivíduo aumenta, não apenas pela COVID-19, mas pela debilidade do organismo associado a outras infecções (YANG et al., 2020). Com isso favorecendo a infecção hospitalar que pode ocorrer após 48 a 72 horas da admissão do indivíduo

no hospital (JI et al., 2020; FASHAFSHEH et al., 2016)

A infecção por SARS-CoV-2 disseminou-se por toda população, mas dados clínicos e epidemiológicos demonstram que pessoas acima de 60 anos, do sexo masculino, tabagista e com alguma comorbidade (hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), doenças cardiovasculares (DCV), doenças respiratórias crônicas (DRCs) e obesidade) elevou o risco da piora clínica e ampliou a chance de óbito nos infectados (ZHOU et al., 2020; GARIBALDI et al., 2020; WHO, 2020a; WU et al., 2020).

Estudo realizado com 72.314 infectados na China, mostrou que 51% dos casos de COVID-19 eram em pessoas do sexo masculino (CDC, 2020). Li e colaboradores (2020b) verificaram dentre os pacientes acometidos pela COVID-19, que 17% deles apresentavam HAS, 16% tinham algum tipo de doença cardiovascular e quase 10% eram diabéticos. Resultados semelhantes foram observados por Guan et al. (2020), dentre os mais de 1500 pacientes avaliados, 25% relataram serem portadores de pelo menos uma comorbidade. A HAS foi a mais prevalente, representando 16,9%, seguido da DM (8,2%), DCV (3,7%) e cerebrovasculares (1,9%), infecções por hepatite B (1,8%), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (1,5%), doenças renais crônicas (1,3%), o câncer (1,1%) e ser portador do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (0,2%), foram as comorbidades mais frequentemente relatadas (Guan et al., 2020).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é considerada uma das comorbidades mais comuns em todo o mundo, a Organização Mundial da Saúde estima que cerca de 600 milhões de pessoas tenham HAS, com crescimento global de 60% dos casos até 2025, podendo ocasionar a morte de mais de sete milhões de pessoas (WHO, 2011). No contexto da COVID-19, a HAS está associada ao aumento do risco de infecção por SARS-CoV-2, a gravidade da doença e aos piores desfechos clínicos (ZHOU et al., 2020). No início da pandemia, na China constatou-se elevados índices de pessoas com hipertensão infectadas pelo vírus, notando que os indivíduos portadores de HAS, possuíam três vezes mais chance de evoluir a óbito em comparação a uma pessoa sem a comorbidade (GUAN et al., 2020; ZHOU et al., 2020).

A hipertensão arterial sistêmica, é caracterizada pela hiperatividade do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), com elevada concentração de angiotensina II, a qual é responsável pelo aumento da síntese de citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda pelo sistema imune adaptativo. Além disso,

esta alta concentração, estimula a hiperexpressão dos receptores da enzima conversora de angiotensina II (HOCH et al., 2009; HENRY et al., 2020).

O SRAA, e composto pelo sistema renal, adrenal, hipófise posterior e endotélio dos vasos. Assim, no rim é formado a renina, a qual é liberada na corrente sanguínea, e converte angiotensinogênio (formado no fígado) em angiotensina I. Que pela ação da enzima conversora de angiotensina (que é produzida pelo endotélio pulmonar e dos vasos) converte angiotensina I em angiotensina II. Este é um potente vasoconstritor direto que de forma indireta interage com a secreção de aldosterona, com o sistema nervoso central e o nervoso simpático e estimula a reabsorção renal (LU et al., 2016; DOSTAL; BAKER, 1999; WU et al., 2018).

O SARS-CoV-2 entra na célula por auxílio do receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) (ZHOU et al., 2020; GUPTA et al., 2020). Essa interação altera a via dessa enzima podendo levar a um desequilíbrio do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), contribuindo para a virulência desse patógeno (VADUGANATHAN et al., 2020). Além do que o ACE2 é altamente expresso nas células do coração, pulmões, rins e trato gastrointestinal, e apresenta um papel fundamental no sistema imunológico (KUBA et al., 2005; WAN et al., 2020). Devido a essa condição entende-se que a infecção por SARS-CoV-2 pode provocar dano endotelial e lesão microvascular, desregulação do sistema imunológico e favorecer o estado hiperinflamatório e hipercoagulabilidade no indivíduo (GUPTA et al., 2020).

Vale ressaltar que, vários fatores estão relacionados a gravidade e letalidade da COVID-19, entre eles, idade avançada, hiperglicemia, obesidade, entre outras doenças crônicas já citadas (WILLIAMSON et al., 2020). Condições essas relacionados ao aumento do estresse oxidativo (EO) das células (SKULACHEV et al., 2009; KIG; LOEKEN, 2004). O EO caracteriza um desequilíbrio de espécies reativas de oxigênio (ROS), nitrogênio (RNS) e componentes antioxidantes, condição comum em diversas doenças, inclusive nas de origem viral como na AIDS e nas hepatites virais (YOSHIKAWA; NAITO, 2020; ARAUJO et al., 2021).

Dentre os componentes antioxidantes, estão os sistemas enzimáticos que desempenham papel fundamental no combate aos danos oxidativos das células e na regulação de várias vias metabólicas essenciais para a homeostase do organismo (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009). Entre elas, as enzimas Glutathionas-S-transferase (GSTs) caracterizam uma família de enzima de Fase II do metabolismo que catalisa a conjugação de glutathiona (GSH) com eletrólitos para proteger a célula

de danos causados pelo EO (HAYES; FLANAGAN; JOWSEY, 2005). As GSTs do tipo citosólicas estão distribuídas em oito classes gênicas: alfa (α), mu (μ), Pi (π), Theta (θ), sigma (σ), Kappa (κ), Omega (ω) e Zeta (ζ) (MANNERVIK et al., 1992; TOWNSEND; TEW, 2003; ANANTHARAMAN et al., 2007; HOLLMAN et al., 2020). Essas classes possuem variável polimorfismo genético que pode interferir na sua síntese e atividade enzimática (PALMA et al., 2010).

Os genes da Isoforma μ da Glutathione (GSTM1) e da Isoforma θ da Glutathione (GSTT1), estão localizados no cromossomo 1 p13.3 e 22 q11.23, respectivamente (DANIEL, 1993; OKCU et al., 2004) e possuem variantes polimórficas classificadas como nulas, resultantes de deleções gênicas (LUO et al., 2011). Nesse caso, os genótipos nulos levam à incapacidade de produzir a variante proteica, provocando perda da ação delas durante a detoxificação dos xenobióticos (TOWNSEND e TEW, 2003; TATEWAKI et al., 2009; HOLLMAN et al., 2016). As variações alélicas geradas por polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), especialmente a nula, nas GSTs têm apresentado associação com obesidade, DCV, DRCs, DM, câncer e patologias virais em diferentes populações (DANIEL, 1993; HAYES; STRANGE, 2000; OKCU et al., 2004; GINSBERG, et al., 2009; DASARI; GANJAYI; MERIGA, 2018). Logo, sugere o uso desses SNPs como biomarcadores genéticos individual ou populacional para o risco de algumas patologias (HOLLMAN et al., 2016). Apesar de, em algumas doenças como o câncer, a relação positiva da doença com a nulidade de GST esteja bem esclarecida, há estudos controversos dessa relação com agentes virais. Pett; Coleman (2007) e Wongworawat e colaboradores (2016) demonstraram que os alelos nulos GSTT1 e GSTM1 favorecem o desenvolvimento de infecções causadas por subtipos de Papilomavírus humano (HPV) de alto risco, contribuindo para evolução neoplásica da infecção. Em contrapartida, estudo recente verificou uma relação protetiva do alelo deletado GSTT1 reduzindo o risco para a infecção por HPV em um grupo de mulheres no sul do Brasil e, nenhuma relação foi obtida para o alelo nulo GSTM1 (BORTOLLI et al., 2022). O genótipo deletado GSTT1 também apresentou associação com a evolução patologia da Hepatite C viral, sendo mais frequente tanto em pacientes com cirrose quanto naqueles com carcinoma hepatocelular (ARAUJO et al., 2021).

Considerando a COVID-19, estudo conduzido por Saadat (2020a) mostrou que o alelo GSTT1 deletado pode ser preditor tanto da fatalidade quanto de mortalidade por COVID-19 em vários lugares do mundo. No trabalho de Abbas et al. (2021), os

resultados previsto em através modelo matemático dos pacientes indianos com COVID-19 e com genótipo nulo GSTT1 possuíam 2,28 vezes mais risco de ir a óbito comparado ao alelo selvagem (GSTT1+). Os pacientes com combinação alélica GSTT1 nulo e GSTM1+ apresentaram taxa de sobrevida reduzida.

No Brasil, nenhum estudo relatou até o momento associação desses genes com a COVID-19 e características relacionadas à patologia. Sabido que se trata de uma família gênica com alto potencial de variação intra e interpopulacional, o presente estudo objetivou determinar a frequência dos alelos GSTT1 e GSTM1 e a associação com casos moderados e grave de COVID-19, com o desfecho de óbito e sobrevida dos pacientes

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a frequência dos alelos GSTT1 e GSTM1 e a associação com os casos moderados e graves de COVID-19, com o desfecho de óbito e sobrevida dos pacientes.

2.2 Específicos

Determinar a frequência dos alelos nulos de GSTT1, GSTM1 e das combinações genótípicas.

Verificar se há relação dos alelos nulos com os casos moderados e graves de pacientes com COVID-19.

Determinar a presença de associação entre os alelos nulos com os casos de óbito por COVID-19 e de alta hospitalar.

Caracterizar o perfil da comorbidade hipertensão arterial sistêmica (HAS) nos indivíduos internados com COVID-19.

Determinar a sobrevida dos pacientes com COVID-19 e a relação com os polimorfismos GST e com a HAS.

3. METODOLOGIA

3.1 População e desenho do estudo

Trata-se de um estudo descritivo e transversal desenvolvido no município de Francisco Beltrão, sudoeste do Paraná. A população envolvida na pesquisa foram pacientes internados entre os anos de 2020 e 2021, inicialmente por suspeita e posterior confirmação de COVID-19, no Hospital Regional do Sudoeste Dr. Walter Alberto Pécoits (HRS) (referência para COVID-19) e no Hospital São Francisco (HSF) (Sociedade Hospitalar Beltronense).

Os critérios de inclusão dos participantes do estudo foram indivíduos internados nos respectivos hospitais, que testaram positivo para o SARS-CoV-2, a partir do exame padrão ouro qRT-PCR e, necessitaram de internação. Como critério de exclusão, destacam-se aqueles suspeitos com resultado negativo para SARS-CoV-2 e os que não foram internados. O projeto recebeu aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP) com parecer nº 4.224.011 e CAAE: 31837720.5.0000.0107 (Anexo I).

3.2 Coleta de dados e de amostra sanguínea

A amostra foi composta de 249 indivíduos internados no HRS e 21 internados no HSF, no período de agosto de 2020 a dezembro de 2021. Durante a internação, foi preenchido uma ficha com informações diversas dos pacientes obtidas através do prontuário médico, pela ficha Individual de Notificação (FIN) obtida do Sistema de Informação de Agravos de Notificação, pelo sistema GAL/Lacen o Notifica Covid e através do programa Sistema de Gestão Hospitalar e Ambulatorial (GSUS). Dentre as informações obtidas estão idade, sexo, sintomas, comorbidades (por exemplo HAS), classificação da gravidade da doença, sendo caso moderado o indivíduo que manifesta além dos sintomas leves da doença, tosse persistente e febre diária, somados a piora progressiva, apresentando adinamia, prostração, hiporexia e pneumonia sem sinais de gravidade (BRASIL, 2022b; YANG et al., 2020). E os casos graves caracterizam pessoas com a síndrome respiratória aguda grave (SARS), SpO₂ <95% em ar ambiente, além de cianose nas extremidades, lábios e rosto conforme

definição estabelecida pela OMS (CHEN et al., 2020b; BRASIL, 2022a). Além disso, foram obtidas informações de alta hospitalar ou óbito e tempo de internamento.

De cada paciente também foi realizada a coleta de 5 mL de sangue venoso no dia do internamento, em um tubo identificado contendo o anticoagulante EDTA, homogeneizado e depositado em uma caixa térmica contendo gelo até o armazenamento. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Biologia molecular e genética da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, onde foram acondicionadas em freezer -20°C até o processamento.

3.3 Isolamento do material genético

A extração de DNA total de cada indivíduo foi realizada a partir de uma alíquota de 200µL da amostra original de sangue com o kit QIAamp® DNA Mini Kit, DNA Purification from Blood or Body Fluids (Spin Protocol) (Qiagen, Alemanha) conforme instruções do fabricante e armazenados em freezer a -20°C. Após a extração do DNA, foi realizada a detecção da presença de um segmento de 268pb do gene da β-globina humano sintetizado a partir dos primers GH20 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3') e PC04 (5'- CAACTTCATCCACGTTCCACC-3'), para verificar a presença e qualidade do material genético. As condições de amplificação para cada reação foi 190 nM de dNTPs, 500 nM de cada primer, 2 mM de MgCl₂, Tampão (200 mM Tris-HCl, 500 mM KCl), 1,25 U de DNA polimerase (Ludwig™) e cerca de 50 ng de DNA submetido a sequência de etapas de ciclagem: 94°C por 10 min; 37 ciclos de 94°C por 1min, 55°C por 1min, 72°C por 1min; 72°C por 10 min (BORTOLLI et al., 2022).

3.4 Genotipagem GSTM1 e GSTT1

O método reação de cadeia de polimerase (PCR) Multiplex foi usado para determinar os polimorfismos genéticos GSTM1 e GSTT1. Para isso foram utilizados dois pares de iniciadores os 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'(F) e 5'-GTTGGGCTCAAATA TACGGTGG-3'(R) e, 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'(F) e 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'(R). O primeiro produz um amplicon de 219pb e o segundo de 459pb, respectivos, aos alelos GSTM1+ e GSTT1+ (KIRAN et al., 2010; ABBAS et al., 2021; BORTOLLI et al., 2022). As condições da PCR incluíram desnaturação inicial a 94°C por 5min, seguindo para 35 ciclos de 94°C por 1 minuto,

58°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, finalizando a 72°C por 10 minutos. Os genótipos foram determinados pela migração dos produtos em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio, visualizados sob luz UV e fotografados. O reconhecimento da presença dos amplicons revelou a presença de alelos GSTM1+ e GSTT1+ (alelos selvagens) e a ausência dos fragmentos caracterizou os alelos nulos (GSTM1- e GSTT1-).

3.5 Análise estatística

Os dados foram tabulados e analisados no software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 24.0. As variáveis contínuas tiveram a distribuição normal verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$) e assim como as demais foram categorizadas. Foi determinado as frequências absolutas e relativas para cada genótipo individual e combinações. O teste Qui-quadrado (X^2), com correção de continuidade de Yates e teste exato de Fisher foram utilizados para comparações entre variáveis categóricas independentes e os desfechos de gravidade do caso e de óbito e alta hospitalar. Inclusive para a distribuição e associação dos SNPs. Para avaliar o efeito dos genótipos GSTs e suas combinações, assim, como o efeito da comorbidade HAS na sobrevida global dos pacientes foi empregado o teste Kaplan-Meier e realizada a regressão de Cox, ambos considerando significância de 95% ($p < 0,05$). O número de dias considerado nas análises foi o máximo de dias de internamento no grupo estudado (30 dias) e o desfecho principal foi o óbito (Abbas et al., 2021). As diferenças de sobrevida entre os genótipos GST e a HAS foi determinada pelo teste de Log-rank, considerando o período máximo de internamento, portanto, 30 dias. A razão de risco (HR) foi determinada pelo modelo multivariado de regressão de Cox, ajustado por idade e sexo, considerando $p < 0,05$ e IC de 95%.

4. REFERÊNCIAS

ABBAS, M.; VERMA, S.; VERMA, S., et al. Association of GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with COVID-19 susceptibility and its outcome. **J Med Virol**, v.93, p. 5446–5451, 2021.

ADHIKARI, S. P.; MENG, S.; WU, Y. J., et al. Epidemiologia, causas, manifestação clínica e diagnóstico, prevenção e controle da doença coronavírus (COVID-19) durante o período inicial de surto: revisão de escopo. **Infectar a Pobreza**, v.9, n. 1, p. 29, 2020.

AMA. Fact Sheet: COVID-19 testing and initial assessment/care. 2020. Disponível em: <<https://www.ama.com.au/>>. Acesso em: 02 jun. 2022.

ANANTHARAMAN, D.; CHAUBAL, P. M.; KANNAN, S., et al. Susceptibility to oral cancer by genetic polymorphisms at CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 loci among Indians: tobacco exposure as a risk modulator. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 7, p.1455–1462, 2007. DOI: <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.15.6429>

ARAUJO, O.; PAULA, V. S.; Ó, K. M.; VILLELA-NOGUEIRA, C. A.; ARAUJO, N. M. Association of Polymorphisms in the Glutathione S-Transferase Theta-1 Gene with Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma in Brazilian Patients with Chronic Hepatitis C. **Vaccines (Basel)**, v. 9, n. 8, p. 831, 2021. DOI: 10.3390/vaccines9080831

AYITTEY, F. K.; AYITTEY, M. K.; CHIWERO, N. B., et al. Economic impacts of Wuhan 2019-nCoV on China and the world. **J Med Virol**, v. 92, p. 473-5, 2020.

BORTOLLI, A. P.; VIEIRA, V. K.; STEFANSKI, E. E.; LAZAROTTO, A. K.; LUCIO, L. C. Relationship between GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and HPV infection: a systematic review. **Molecular Biology Reports**, v. 48, p. 6631–6636, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06515-6>

BRASIL. Ministério da Saúde. Coronavírus. Ed. Brasília, 2022. Disponível em: <

Coronavírus Brasil (saude.gov.br)>. Acesso em: 05 fev. 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica: emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019, covid-19 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2022b.

CDC- Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) - United States, February 12-March 16, 2020. **Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, 69 (2020), pp. 343-346.

CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X., et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **Lancet**, v. 395, p.507–13, 2020b.

CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X., et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **Lancet**, v. 395, p.507–13, 2020b.

DANIEL, V. Glutathione S-transferases: gene structure and regulation of expression. **Crit Rev Biochem Mol Biol**, v. 28, n. 3, p. 173-207, 1993.

DASARI, S.; GANJAYI, M. S.; MERIGA, B. Glutathione S-transferase is a good biomarker in acrylamide induced neurotoxicity and genotoxicity. **Interdiscip Toxicol**, v. 11, n. 2, p. 115-121, 2018.

DOSTAL, D. E.; BAKER, K. M. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? **Circ Res**, v. 85, n. 7, p. 643–650, 1999.

FASHAFSHEH, I.; AYED, A.; KONI, M.; HUSSEIN, S.; THULTHEEN, E. I. Partes e enfermidades conformidade com precauções padrão em hospitais palestinos. **Open Journal of Nursing**, v. 6, n. 4, p. 294–302, 2016.

FORMAN, H. J.; ZHANG, H.; RINNA, A. Glutathione: overview of its protective roles,

measurement, and biosynthesis. **Mol Aspects Med.**, v. 30, p. 1-12, 2009. DOI: 10.1016/j.mam.2008.08.006

GARIBALDI, B. T.; FIKSEL, J.; MUSCHELLI, J., et al. Patient Trajectories Among Persons Hospitalized for COVID-19: **A Cohort Study. Ann Intern Med.**, p.20-3905, 2020.

GINSBERG, G.; SMOLENSKI, S.; HATTIS, D., et al. Genetic polymorphism in glutathione transferases (GST): population distribution of GSTM1, T1, and P1 conjugating activity. **J Toxicol Environ Health B Crit Rev**, v. 12, n. 5–6, p. 389-439, 2009.

GUAN, W. J.; LIANG, W. H.; ZHAO, Y., et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. **Eur Respir J**, p. 55, 2020. DOI:10.1183/13993003.00547

GUPTA, A. et al. Manifestações extrapulmonares da COVID-19. **Nat. Med.**, v. 26, p. 1017-1032, 2020.

HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. Glutathione transferases. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 45, n. 1, p. 51–88, 2005.

HAYES, J. D.; STRANGE, R. C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. **Pharmacology**, v. 61, n. 3, p. 154-166, 2000.

HENRY, B. M.; VIKSE, J.; BENOIT, S.; FAVALORO, E. J.; LIPPI, G. Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: A novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis. **Clin Chim Acta**, 2020. Doi: <https://10.1016/j.cca.2020.04.027>.

HOCH, N. E.; GUZIK, T. J.; CHEN, W.; DEANS, T.; MAALOUF, S. A.; GRATZE, P. et al. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 296, n. 2, 2009. Doi:

<https://10.1152/ajpregu.90521.2008>.

HOLLMAN, A. L.; TCHOUNWOU, P. B.; HUANG, H. C. The Association between Gene Environment Interactions and Diseases Involving the Human GST Superfamily with SNP Variants. **Int J Environ Res Public Health**, v. 13, n. 4, p. 379, 2016. DOI: 10.3390/ijerph13040379

JI, B.; COLLINS, J. T.; BARLOW-PAY, F. et al. Infecção hospitalar por COVID-19: examinando o risco de mortalidade. O estudo COPE-Nosocomial (COVID in Older PEople), **Journal of Hospital Infection**, v. 106, n. 2, p. 376, 2020.

KING, G. L.; LOEKEN, M. R. Estresse oxidativo induzido por hiperglicemia em complicações diabéticas, *Histochem. Célula. Biol*, v. 122, p. 333-338, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00418-004-0678-9>.

KUBA, K.; IMAI, Y.; RAO, S., et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. **Nat Med**, v. 11, p. 875–9, 2005.

LAUER, S. A.; GRANTZ, K. H.; BI, Q., et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. **Ann Intern Med**, 2020. Doi: 10.7326/M20-0504.

LI, X.; GENG, M.; PENG, Y.; MENG, L.; LU, S. Patogênese imunológica molecular e diagnóstico de COVID-19. **Pharm Anal**, v. 10, n. 2, p.102-108, 2020a.

LIN, Q.; ZHAO, S.; GAO, D., et al. Um modelo conceitual para o surto da doença coronavírus 2019 (COVID-19) em Wuhan, China com reação individual e ação governamental. **Int J Infect Dis**, v. 93, p. 211-216, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.058>

LU, H.; CASSIS, L. A.; VANDER KOOI, C. W., et al. Structure and functions of angiotensinogen. **Hypertens Res.**, v. 39, n. 7, p. 492–500, 2016.

LUO, W.; KINSEY, M.; SCHIFF, J. D.; LESSNICK, S. L. Gluthatione S-transferases in

pediatric cancer. **Front Oncol**, v. 1, n. 39, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2011.00039>

MANNERVIK, B.; AWASTHI, Y. C.; BOARD, P. G., et al. Nomenclatura para transferência de glutathione humana. **Bioquímica**, v. 282, p. 305-306, 1992.

OKCU, M. F.; SELVAN, M.; WANG, L. E., et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in primary malignant glioma. **Clin Cancer Res.**, v. 10, n. 8, p. 2618-2625, 2004.

PALMA, S.; NOVELLI, F.; PADUA, L., et al. Interaction between glutathione-S-transferase poly morphisms, smoking habit, and HPV infection in cervical cancer risk. **J Cancer Res Clin Oncol**, v. 136, n. 7, p. 1101–1109, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-009-0757-3>

PARANÁ – Secretaria da Saúde. Coronavírus – COVID-19. Disponível em: <file:///C:/Users/ketli/Desktop/Vers%C3%A3o%20Final/Parana.pdf>. Acesso em: 05 outubro. 2022.

PETT, M.; COLEMAN, N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? **J Pathol**, v. 212, n.4, p. 356–367, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1002/path.2192>

PING-HSING, T.; WEI-YI, L.; YI-YING, L., et al. Clinical manifestation and disease progression in COVID-19 infection. **J Chin Med Assoc**, 2021. DOI: 10.1097/JCMA.0000000000000463

ROHIT, A.; RAJASEKARAN, S.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Destino de gotículas respiratórias em ambientes tropicais vs temperados e implicações para a transmissão SARS-CoV-2. **Hipóteses de Med**, v. 144, 2020.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **J. Autoimmun**, v.109, 2020. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102433

SAADAT, M. An evidence for correlation between the glutathione S-transferase T1 (GSTT1) polymorphism and outcome of COVID-19, **Clinica Chimica Acta**, v. 508, p. 213–216, 2020a.

SKULACHEV, V. P.; ANISIMOV, V. N.; ANTONENKO, Y. N., et al. Uma tentativa de prevenir a senescência: uma abordagem mitocondrial, **Biochim. Biofísica. Acta**, n. 1787, p. 437-461, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2008.12.008>

TATEWAKI, N.; MAEKAWA, K.; KATORI, N., et al. Genetic variations and haplotype structures of the glutathione S-transferase genes, GSTT1 and GSTM1, in a Japanese patient population. **Drug Metab Pharmacokinet**, v. 24, n. 1, p. 118-26, 2009. DOI: [10.2133/dmpk.24.118](https://doi.org/10.2133/dmpk.24.118). PMID: 19252342.

TIAN, S.; YANG, X.; ZHANG, L. et al. Variantes polimórficas que conferem risco genético às lesões cervicais suportam GSTs como loci associado importante. **Medicina (EUA)**, v. 98, n.41, p.174-187, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017487>

TOWNSEND, D.; TEW, K. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. **Oncogene**, v. 22, p. 7369–7375, 2003). DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206940>

VADUGANATHAN, M. et al. Inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona em pacientes com COVID-19. **N. Engl. J. Med.**, v. 382, p. 1653-1659, 2020.

WAN, Y.; SHANG, J.; GRAHAM, R.; BARIC, R. S.; LI, F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. **J Virol**, v. 94, n. 7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20>

WHO - World Health Organization. Coronavirus disease 2020 (COVID-19). Situation Report - 67 Geneva: WHO, 2020.

WHO. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases

2010 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2011. Disponível em: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report2010/en/. Acesso em: 03 jun. 2022.

WILLIAMSON, E. J.; WALKER, A. J.; BHASKARAN, K., et al. Open SAFELY: fatores associados à morte de COVID-19 em 17 milhões de pacientes, **Nature**, v. 584, p. 430-436, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2521-4>.

WONGWORAWAT, Y.; FILIPPOVA, M.; WILLIAMS, V. M.; FILIPPOV, V.; DUERKSEN-HUGHES, P. J. Chronic oxidative stress increases the integration frequency of foreign DNA and human papillomavirus 16 in human keratinocytes. **Am J Cancer Res**, v. 6, n. 4, p. 764–780, 2016.

WU, C. H.; MOHAMMADMORADI, S.; CHEN, J. Z., et al. Renin-angiotensin system and cardiovascular functions. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 38, n. 7, p.108–116, 2018.

WU, Y. C.; CHEN, C. S.; CHAN, Y. J. Visão geral do novo coronavírus 2019 (2019-nCoV): o patógeno de pneumonia contagiosa específica grave (SSCP). **J. Chin. Med. Assoc.**, v. 83, n. 3, p. 217-220, 2020.

WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese center for disease control and prevention. **JAMA**, v. 323, p. 1239-1242, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>

XU, Y. H.; DONG, J. H.; W. M., et al., Clinical and computed tomographic imaging features of novel coronavirus pneumonia caused by SARS-CoV-2. **Journal of Infection** [Internet]. v. 2020 Feb [cited 2020 Mar 23]; 80 p. (2020) 394–400, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.02.017>

YANG, J.; ZHENG, Y.; GOU, X. et al. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. **Int J Infect Dis.**, v. 94, p. 91-95, 2020. DOI: [10.1016/j.ijid.2020.03.017](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.017)

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y. What is oxidative stress? **Jpn Med Assoc J.**, v. 124, n. 11, p. 1549-1553, 2020.

ZHAO, Z.; ZHONG, Z.; XIE, X.; YU, Q.; and LIU, J. Relation Between Chest CT Findings and Clinical Conditions of Coronavirus Disease (COVID-19) Pneumonia: A Multicenter Study. **American Journal of Roentgenology**, p.y [Internet]. 2020 Feb [cited 2020 Mar 23]; 1-6, 2020. Doi: doi.org/10.2214/AJR.20.22976

ZHOU, F. et al. Curso clínico e fatores de risco para mortalidade de pacientes adultos internados com COVID-19 em Wuhan, China: um estudo de coorte retrospectivo. **Lanceta**, v. 395, p.1054-1062, 2020b.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **Lancet.**, v. 28, n. 395, p. 1054-1062, 2020a. DOI: 10.1016/S01406736(20)30566

GSTT1 AND GSTM1 ALLELE FREQUENCY IN PATIENTS WITH COVID-19 AND ITS ASSOCIATION WITH SURVIVAL

Running title: GSTT1 AND GSTM1 ALLELES IN PATIENTS WITH COVID-19

Ketlin Margarida Warmling¹, Léia Carolina Lucio²

¹Western Paraná State University (Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE). Francisco Beltrão, Paraná (PR), Brazil.

² Graduate Program in Applied Health Sciences (Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde – PPgCAS)

Corresponding author: Léia Carolina Lucio. ¹Western Paraná State University (Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE) - Av. Maringá, 1200, Vila Nova. CEP: 85.605-010. Francisco Beltrão, PR, Brazil. Cel. (46) 99933-2938. Email: leicarol@gmail.com

Abstract

This study aimed to determine glutathione S-transferase theta-1 (GSTT1) and Mu 1 (GSTM1) allele frequencies and their association with moderate and severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases, mortality rates, and patient survival. In total, 270 inpatients tested positive for COVID-19 with a mean age of 56 years were evaluated from 2020 to 2021 in this study. The patient cohort was predominantly male. Among them, 55.8% of patients had a severe clinical status, followed by 41.5% of patients with a moderate status. Ninety patients died, whereas 174 (65.9%) individuals were discharged. The mean length of stay was eleven days. As for comorbidities, 43.4% of patients had high blood pressure (HBP). The null genotypes GSTM1⁻ and GSTT1⁻ were identified in 66.8 and 58.78% of inpatients, respectively. Conversely, GSTM1⁺ and GSTT1⁺ allelic forms showed frequencies of 33.2 and 41.22% in inpatients, respectively. The frequency of individuals with both deleted alleles (GSTM1⁻/GSTT1⁻) was 46.2%. Polymorphisms were not associated with disease severity or patient outcomes. However, the GSTM1⁻/GSTT1⁺ combination significantly increased the odds of patient survival, whereas the combination of polymorphisms in association with HBP decreased the odds of survival by two-fold in hypertensive patients and increased the risk of death.

Keywords

Glutathione S-Transferase, Severity, High blood pressure, SARS-CoV-2, Survival

1 INTRODUCTION

Severe acute respiratory syndrome (SARS) caused by the novel coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was first diagnosed in December 2019, in the city of Wuhan, China, leading to the coronavirus disease 2019 (Covid-19) pandemic⁽¹⁻²⁾. The virus has a high rate of transmission, can be transmitted via inhalation or contact with infected droplets, and has an incubation period ranging from 1 to 14 days⁽³⁻⁴⁾.

Once SARS-CoV-2 enters the body, the individual may be asymptomatic or show various mild, moderate, or severe symptoms⁽⁵⁻⁶⁾. Moderate cases present with symptoms such as persistent cough and daily fever, in addition to other mild symptoms, and as the disease gradually worsens, adynamia, prostration, hyporexia, and pneumonia without signs of severity may also be observed. These individuals require in-hospital monitoring⁽⁷⁻⁸⁾. In severe cases, SARS is associated with intense dyspnea, respiratory distress, persistent chest pressure, peripheral oxygen saturation (SpO₂) of <95% in room atmosphere at sea level, as well as limb, lip, and facial cyanosis⁽⁹⁻¹⁰⁾. Such symptoms usually require admission to the intensive care unit (ICU), increasing the risk of sepsis and septic shock⁽⁸⁾. Due to prolonged hospitalization for a significant number of days, the risk of death increases not only due to Covid-19 but also because of weaknesses associated with other infections⁽⁸⁾. High blood pressure (HBP) is another factor that contributes to disease severity and worse clinical outcomes⁽¹¹⁾. Hypertensive individuals are three times more likely to progress to death than those without comorbidities⁽¹¹⁻¹²⁾.

Several factors are related to Covid-19 severity and lethality, including advanced age, hyperglycemia, and obesity, among other chronic diseases, which trigger or intensify cellular oxidative stress (OS)⁽¹³⁾. OS is characterized by the imbalance between reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species and antioxidant components. It is commonly found in several diseases, including those caused by viruses such as human immunodeficiency (HIV) and hepatitis viruses⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

Among antioxidant components, enzyme systems play a key role in preventing oxidative damage to cells and regulating several metabolic pathways essential for homeostasis and recovery⁽¹⁶⁾. These enzyme systems include glutathione-S-transferases (GSTs), which are a family of phase II drug metabolizing enzymes that catalyze the conjugation of glutathione (GSH) to electrolytes to protect cells from OS damage⁽¹⁷⁾. Among their genes, those encoding for GST isoforms μ 1 (*GSTM1*) and θ 1 (*GSTT1*) are located on chromosomes 1p13.3 and 22q11.23, respectively, and show null alleles, which are attributed to gene deletions⁽¹⁸⁻¹⁹⁾. In this case, null genotypes lead to the inability to produce the protein, causing loss of function

during cell detoxification and amplification of OS damage⁽²⁰⁾.

Although GSTM1 and GSTT1 null alleles are directly associated with some diseases, such as cancer, their relationship with viral agents remains controversial^(15,21,22,23). In the context of COVID-19, a study conducted by Saadat (2020a) showed that the deleted allele GSTT1 can be a predictor of both case fatality (CFR) and mortality (MR) rates of Covid-19 in several parts of the world. In contrast, GSTM1 and GSTT1 null allele frequencies were not related to the susceptibility to infection in the Indian population, but the GSTT1 null allele was associated with the risk of death⁽²⁴⁾.

In Brazil, no study has reported any association of these genes with viral infections and Covid-19 so far. Since this gene family has a high potential for intra- and interpopulation variation, the present study aimed to determine the genotypic frequency of GSTM1 and GSTT1 in inpatients with Covid-19, thereby assessing whether null alleles are associated with disease severity, mortality, and patient survival.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Study population and design

This quantitative, descriptive, and cross-sectional study was conducted in the municipality of Francisco Beltrão, southwestern Paraná, Brazil. The study population included 270 inpatients admitted to two tertiary referral hospitals for Covid-19, namely, Dr. Walter Alberto Pécoits Southwest Regional Hospital (*Hospital Regional do Sudoeste – HRS*) and São Francisco Hospital (*Hospital São Francisco – HSF*) (*Sociedade Hospitalar Beltronense*) from 2020 to 2021. The inclusion criteria of the participants were hospitalization and positive quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) results for SARS-CoV-2 by. Patients suspected of Covid-19 but demonstrating a negative result for SARS-CoV-2 and those who were not inpatients were excluded. The project was approved by the Human Research Ethics Committee (*Comitê de Ética em Pesquisa – CEP*) under opinion number 4.224.011 and Certificate of Presentation for Ethical Consideration (*Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE*) number 31837720.5.0000.0107.

2.2 Data and blood sample collection

During hospitalization, data corresponding to age, sex, symptoms, and comorbidities (for example, HBP) were collected. Disease severity classification was performed, considering individuals with moderate disease who showed, in addition to mild symptoms, persistent cough and daily fever, as well as gradual worsening of disease with adynamia, prostration, hyporexia, and pneumonia without signs of severity⁽⁷⁻⁸⁾. Severe cases were characterized by SARS, peripheral oxygen saturation (SpO₂) of <95% in room atmosphere at sea level, and limb, lip, and facial cyanosis, as defined by the World Health Organization (WHO)⁽⁹⁻¹⁰⁾. In addition, data were collected on hospital discharge or death and length of stay.

A total of 5 mL of venous blood was also collected from each patient on the day of admission into a labeled tube containing the anticoagulant ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), homogenized, and placed in a cooler with ice until storage. Subsequently, the samples were stored in a freezer at -20°C until further processing.

2.3 Isolation of genetic material

Total DNA from each individual was extracted from an aliquot (200 μ L) of the original blood sample using the kit QIAamp® DNA Mini Kit, DNA Purification from Blood or Body Fluids (Spin Protocol) (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's instructions and stored in a freezer at -20°C. Following DNA extraction, a 268-bp segment of the human β -globin gene was synthesized by PCR using the primers GH20 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3') and PC04 (5'- CAACTTCATCCACGTTCCACC-3') to assess the presence and quality of the genetic material. For each reaction, the amplification was performed with 190 nM of dNTPs, 500 nM of each primer, 2 mM of MgCl₂ buffer (200 mM Tris-HCl, 500 mM KCl), 1.25 U of DNA polymerase (Ludwig™), and approximately 50 ng of DNA, with the following sequence of cycling steps: 94°C for 10 min, 37 cycles of 94°C for 1 min, 55°C for 1 min, 72°C for 1 min, and 72°C for 10 min⁽²³⁾.

2.4 GSTM1 and GSTT1 genotyping

GSTM1 and GSTT1 were genotyped using the PCR Multiplex method. For this purpose, two pairs of primers were used, namely 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'(F) and 5'-GTTGGGCTCAAATA TACGGTGG-3'(R), 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' (F) and 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'(R). These pairs produce 219- and 459-bp amplicons of the GSTM1⁺ and GSTT1⁺ alleles, respectively⁽²³⁾. The PCR was performed with components at concentrations similar to those used in the PCR of the β -globin gene, and the cycling steps were as follows: initial denaturation at 94°C for 5 min, followed by 35 cycles at 94°C for 1 min, 58°C for 1 min, and 72°C for 1 min, and final extension at 72°C for 10 min. Genotypes were determined by separating the PCR products using 2% agarose gel electrophoresis, staining with ethidium bromide, visualizing the fragments under UV light, and photographing the gels. The presence of amplicons corresponded to the presence of GSTM1⁺ and GSTT1⁺ alleles (wild-type alleles), and the absence of the fragments indicated null alleles (GSTM1⁻ and GSTT1⁻).

2.5 Statistical analysis

The data were tabulated and analyzed using the software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 24.0. The normal distribution of continuous variables was assessed

using the Kolmogorov-Smirnov test ($p < 0.05$) and, as others, categorized. Absolute and relative frequencies were determined for each individual genotype and combination. The chi-squared test (X^2) with Yates's correction for continuity and Fisher's exact test were used for comparisons between categorical independent variables and case severity, death, and hospital discharge. These tests were also used to evaluate the distribution and association of single nucleotide polymorphisms (SNPs). The Kaplan-Meier test and Cox proportional-hazard regression analysis were performed to assess the effect of GST genotypes and their combinations and the effect of HBP comorbidity on overall patient survival considering a significance level of 95% ($p < 0.05$). The number of days considered in the analyses was the maximum number of days of hospitalization in the study group (30 days), and the main outcome was death (ABBAS et al., 2021). Differences in survival with respect to GST and HBP genotypes were determined using the Log-rank test, considering the maximum period of hospitalization (30 days). The hazard ratio (HR) was determined using the age- and sex-adjusted Cox proportional-hazard regression analysis, considering $p < 0.05$ and a 95% confidence interval (CI).

3 RESULTS

3.1 General and clinical characteristics of patients with Covid-19

The mean age of the study participants was 56 years ($M = 56.41$ years; ± 16.2), and the patient cohort was predominantly male (55.8%). Regarding case severity, 58.5% of patients had a severe clinical status; 55.4% of this patient cohort comprised men. In terms of outcome, 90 (34.1%) inpatients died; 62.9% of these patients were men (Table 1). When restricting the approach to severe cases only, we found that severity was a key factor responsible for the worst possible outcome, i.e., death. Hence, patients with severe disease accounted for 96.7% of the deaths ($p < 0.001$). Regarding comorbidities, HBP was observed in almost 45% of severe cases and in more than 50% of patients who died.

TABLE 1 General and genotypic characteristics of the group of inpatients diagnosed with COVID-19 in the municipality of Francisco Beltrão, PR, Brazil

Variables	Participants (N= 270)	Frequency (%)
Age (Md = 56.41 years; ± 16.2)		
≤ 56 years	126	46.8
> 56 years	143	53.2
Sex		
Male	150	55.8
Female	119	44.2
Case severity		
Severe	158	58.5
Moderate	112	41.5
Inpatient outcome		
Death	90	34.1
Discharge	174	65.9
HBP		
No	151	56.6
Yes	116	43.4
GSTM1		
M1 ^{+/+}	87	33.2
M1 ^{-/-}	175	66.8
GSTT1		
T1 ^{+/+}	108	41.22
T1 ^{-/-}	154	58.78
GST combinations		
M1 ^{+/+} / T1 ^{+/+}	54	20.6
M1 ^{-/-} /T1 ^{+/+}	54	20.6

M1 ^{+/+} /T1 ^{-/-}	33	12.6
M1 ^{-/-} / T1 ^{-/-}	121	46.2

HBP – High blood pressure. GST – Glutathione S-Transferase. GSTM1 - Glutathione S-Transferase isoform μ 1. GSTT1 - Glutathione S-Transferase isoform θ 1. Source: Authors.

After GST genotype frequency analysis, GSTM1 and GSTT1 null alleles were identified in 66.8% and 58.78% of inpatients, respectively. The most frequent genotypic combination was the GSTM1⁻/GSTT1⁻ double deletion (46.2%) (Table 1). Null genotypes, single or combined, were more prevalent than wild-type genotypes, at frequencies of 65.2, 64, and 50.6%, respectively, regardless of the inpatient outcome and clinical status; however, the differences were not significant (Table 2). Therefore, whether single or combined, the nullity of these genetic polymorphisms may be a characteristic of the population infected with SARS-Cov-2 that developed COVID-19 in the geographical region under study.

TABLE 2 Relationship of GSTM1 and GSTT1 genotypes with clinical variables and outcomes of inpatients with COVID-19 in Francisco Beltrão, PR, Brazil

Variables	Inpatient outcome		<i>p</i> value	Clinical status		<i>p</i> value
	Death N (%)	Discharge N (%)		Severe N (%)	Moderate N (%)	
GST						
M1 ^{+/+}	31 (34.8%)	52 (31.1%)	0.548	47 (30.5%)	40 (37.0%)	0.270
M1 ^{-/-}	58 (65.2%)	115 (68.9%)		107 (69.5%)	68 (63.0%)	
T1 ^{+/+}	32 (36.0%)	72 (43.1%)	0.267	62 (40.3%)	46 (42.6%)	0.706
T1 ^{-/-}	57 (64.0%)	95 (56.9%)		92 (59.7%)	62 (57.4%)	
Combinations						
M1 ^{+/+} / T1 ^{+/+}	19 (21.3%)	33 (19.8%)	0.505	29 (18.8%)	25 (23.1%)	0.463
M1 ^{-/-} /T1 ^{+/+}	13 (14.6%)	39 (23.4%)		33 (21.4%)	21 (19.4%)	
M1 ^{+/+} /T1 ^{-/-}	12 (13.5%)	19 (11.4%)		18 (11.7%)	15 (13.9%)	
M1 ^{-/-} / T1 ^{-/-}	45 (50.6%)	76 (45.5%)		74 (48.1%)	47 (43.5%)	

The significance level was set at $p < 0.05$ for the Chi-squared test. GST – Glutathione S-Transferase. M1 - Glutathione S-Transferase isoform μ 1. T1 - Glutathione S-Transferase isoform θ 1.

The analysis of the genotypic frequency by sex showed that GSTM1 and GSTT1 null alleles were predominantly present in males at frequencies of 59.2 and 59.5%, respectively. Allelic deletions were also more common in patients older than 56 years, who accounted for 53.7% of GSTM1⁻ and 52.6% of GSTT1⁻ alleles, than in the younger age group. In contrast, the GSTM1⁺ and GSTT1⁺ wild-type alleles were more frequent in non-hypertensive individuals than in hypertensive individuals (Table 3).

TABLE 3 GSTM1 and GSTT1 genotype frequency by sex, age, and HBP of inpatients with COVID-19 in Francisco Beltrão, PR, Brazil

Variables	GSTM1		<i>p</i> value	GSTT1		<i>p</i> value
	M1 ^{-/-} N (%)	M1 ^{+/+} N (%)		T1 ^{-/-} N (%)	T1 ^{+/+} N (%)	
Sex						
Male	103 (59.2%)	44 (50.6%)	0.186	91 (59.5%)	56 (51.9%)	0.221
Female	71 (40.8%)	43 (49.4%)		62 (40.5%)	52 (48.1%)	
Age						
≤ 56 years	81 (46.3%)	42 (48.8%)	0.698	73 (47.4%)	50 (46.7%)	0.915
>56 years	94 (53.7%)	44 (51.2%)		81 (52.6%)	57 (53.3%)	
HBP						
No	102 (58.6%)	45 (52.9%)	0.386	85 (55.6%)	62 (58.5%)	0.639
Yes	72 (41.4%)	40 (47.1%)		68 (44.4%)	44 (41.5%)	

The significance level was set at $p < 0.05$ for the Chi-squared test. HBP – High blood pressure. GSTM1 - Glutathione S-Transferase isoform μ 1. GSTT1 - Glutathione S-Transferase isoform θ 1. Source: Authors.

3.2 Patient survival with Covid-19

The mean length of stay of inpatients was 11 days ($M = 11.47$ days; ± 7.4 days) (Table 1), with a maximum duration of 30 days. Considering that 34% of inpatients died, the mean survival duration of these patients was 19 days, and the median was 21 days. Survival as a function of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms (Table 4 and Figure 1 A, B, and C) and HBP was analyzed using the Kaplan-Meier method and was graphically represented by survival curves (Figure 1). Age- and sex-adjusted Cox proportional-hazard regression analysis was conducted (Table 5).

TABLE 4 Survival of inpatients with Covid-19 as a function of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in Francisco Beltrão, PR, Brazil

Polymorphism	GST	Survival estimate*	<i>p</i> **	GST and HBP combination	Survival estimate *	<i>p</i> **
GSTM1	M1 ^{+/+}	19.85	0.643	M1 ^{+/+} /T1 ^{+/+} and non-hypertensive	19.46	0.072
	M1 ^{-/-}	19.14		M1 ^{+/+} /T1 ^{+/+} and hypertensive	17.09	
GSTT1	T1 ^{+/+}	20.57	0.265	M1 ^{-/-} /T1 ^{+/+} and non-hypertensive	24.89	
	T1 ^{-/-}	18.75		M1 ^{-/-} /T1 ^{+/+} and hypertensive	19.06	
GST combinations	M1 ^{+/+} /T1 ^{+/+}	18.75	0.054	M1 ^{+/+} /T1 ^{-/-} and non-hypertensive	23.83	
	M1 ^{-/-} /T1 ^{+/+}	22.65		M1 ^{+/+} /T1 ^{-/-} and hypertensive	20.00	
	M1 ^{+/+} /T1 ^{-/-}	22.61		M1 ^{-/-} /T1 ^{-/-} and non-hypertensive	20.45	
	M1 ^{-/-} /T1 ^{-/-}	17.68		M1 ^{-/-} /T1 ^{-/-} and hypertensive	13.88	

GST – Glutathione S-Transferase. GSTM1 - Glutathione S-Transferase isoform μ 1. GSTT1 - Glutathione S-Transferase isoform θ 1. HBP – High blood pressure. * Survival estimate - in days. ** Log-rank significance value according to the Kaplan-Meier estimator ($p < 0.05$). Source: Authors.

Patient survival was not related to GSTM1 and GSTT1 polymorphisms alone (Table 5).

However, the GSTM1^{+/+}/GSTT1^{-/-} polymorphic combination increased the odds of patient survival, lowering the risk of death by 55.8% in comparison to that observed with other combinations (HR: 0.442; 95% CI: 0.214–0.916; p=0.028). Examination of the GSTM1/GSTT1 double deletion combination also suggested that individuals with this genotype may have increased survival, albeit with borderline significance (HR: 0.461; 95% CI: 0.209–1.015; p=0.055). In addition, BPH was significantly associated with reduced odds of survival by more than two-fold and, consequently, with an increased risk of death by 113% (HR: 2.139; 95% CI: 1.315 – 3.480; p=0.002) (Table 5). The results from this study also identified the lowest mean survival of 13 days among hypertensive patients with a double deletion of GSTM1 and GSTT1 (Table 4).

TABLE 5 Cox proportional-hazard regression analysis for GST polymorphism and high blood pressure considering the survival of inpatients with COVID-19 in Francisco Beltrão, PR, Brazil

Polymorphism GST	Cases (n= 262)	Deaths (n= 89)	HR (95%CI)	p value
GSTM1				
M1 ^{+/+}	87 (33.2%)	31 (34.8%)	1.0 (Ref.)	
M1 ^{-/-}	175 (66.8%)	58 (65.2%)	1.115 (0.689 - 1.804)	0.657
GSTT1				
T1 ^{+/+}	108 (41.22%)	32 (36.0%)	1.0 (Ref.)	
T1 ^{-/-}	154 (58.78%)	57 (64.0%)	1.301 (0.807 - 2.096)	0.280
GST e HBP				
M1 ^{+/+} / T1 ^{+/+}	54 (20.6%)	19 (36.5%)	1.0 (Ref.)	
M1 ^{-/-} /T1 ^{+/+}	54 (20.6%)	13 (25%)	0.749 (0.422 - 1.328)	0.322
M1 ^{+/+} /T1 ^{-/-}	33 (12.6%)	12 (38.7%)	0.442 (0.214- 0.916)	0.028
M1 ^{-/-} / T1 ^{-/-}	121 (46.2%)	45 (37.6)	0.461 (0.209- 1.015)	0.055
HYPERTENSIVE	116 (43.4%)	48 (53.3%)	2.139 (1.315 - 3.480)	0.002

GST – Glutathione S-Transferase. GSTM1 - Glutathione S-Transferase isoform μ 1. GSTT1 - Glutathione S-Transferase isoform θ 1. HBP – High blood pressure. CI – Confidence Interval. HR – Hazard ratio (risk). Significance value, p<0.05. Source: Author.

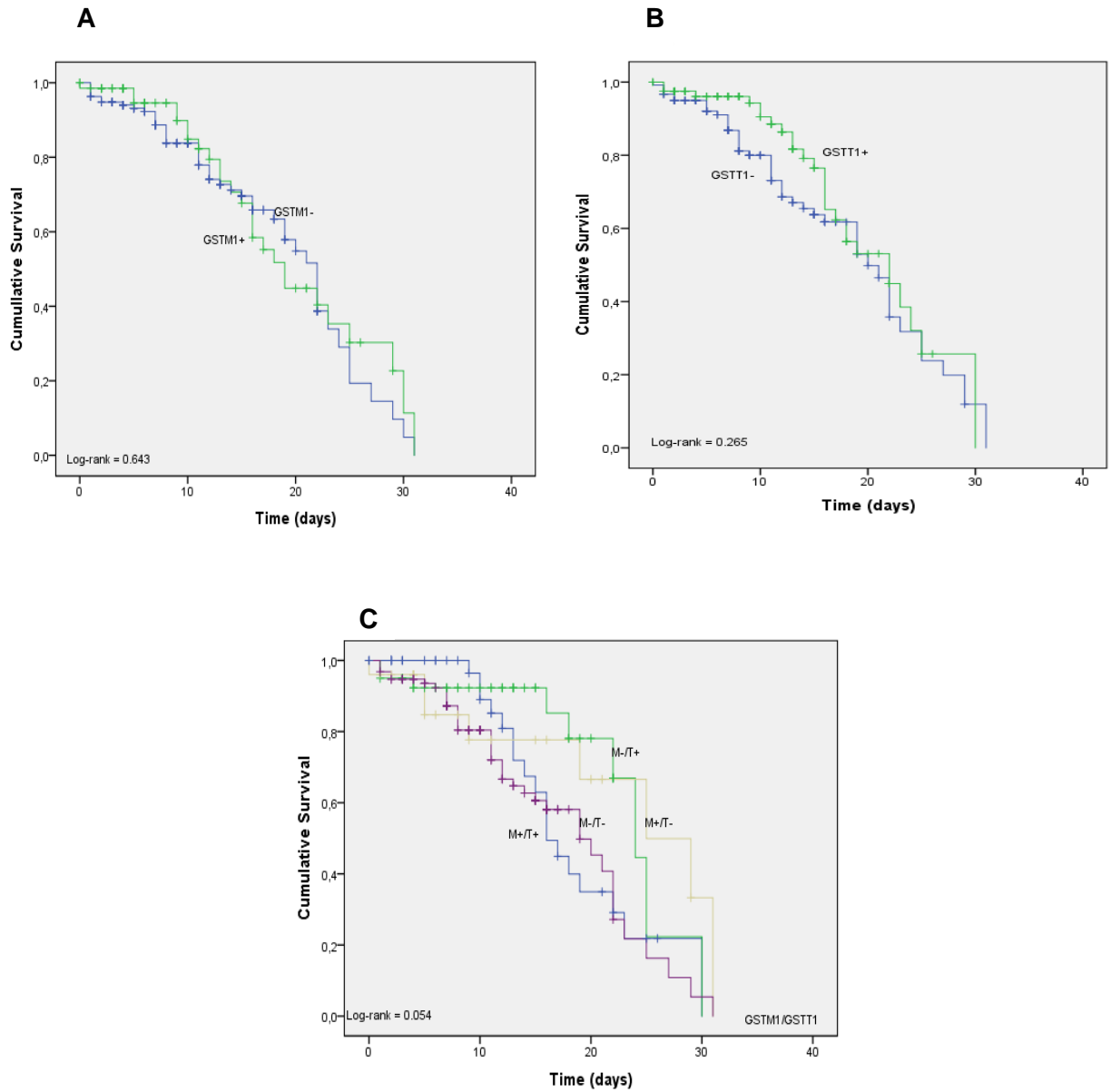


FIGURE 1 Kaplan-Meier estimates of survival rates of inpatients with Covid-19 for GSTM1 (A) and GSTT1 (B) genotypes and (C) combinations with the log-rank test

4 DISCUSSION

The GSTM1 and GSTT1 genes play a key role in cellular detoxification⁽²⁵⁾. Polymorphic combinations, particularly null alleles, contribute to the absence of enzymatic activity⁽²⁰⁻²⁶⁾. Hence, normally, null genotypes amplify the risk for several diseases associated with oxidative stress, including susceptibility to respiratory viral infections, such as those attributed to SARS-CoV-2⁽²⁰⁻²⁷⁻²⁸⁾.

Ding et al.⁽²⁹⁾ showed that individuals with GSTT1⁻ or GSTM1⁻ deletions are more likely to develop pulmonary fibrosis in chronic obstructive pulmonary disease, a disease that is common among individuals with severe Covid-19⁽³⁰⁾. In addition, mortality associated with respiratory problems in patients with Covid-19 is high and may be potentiated in individuals with GSTM1 and GSTT1 null genotypes⁽²⁵⁻³¹⁾.

In the present study, although the prevalence of SARS-CoV-2 infection was not determined, GSTM1 and GSTT1 null alleles were more prevalent than wild-type alleles in the study population. However, the genotypes, alone and in combination, were not associated with disease severity, as previously demonstrated by Abbas et al.⁽²⁴⁾, who failed to find an association of GSTM1 and GSTT1 gene deletion with COVID-19 severity ($p > 0.05$). Another finding was the absence of a direct relationship between deletion polymorphisms and mortality rates and hospital discharge among inpatients. Although Saadat⁽²⁵⁾ in various regions of the world, including Brazil, and Abbas et al.⁽²⁴⁾ in India, reported evidence of an association of GSTT1 deletion with case fatality and mortality from Covid-19, this relationship was not observed in the population of southwestern Paraná.

For the first time, the present study described that the GSTM1⁺/GSTT1⁻ polymorphic combination increased the survival of inpatients with Covid-19, lowering the odds of death by approximately 55% (OR: 0.442; 95% CI: 0.214–0.916; $p=0.028$). In addition, this study also speculates about the possible relationship of the GSTM1⁻/GSTT1⁻ double deletion with increased odds of survival; however, the findings show borderline significance (OR: 0.461; 95% CI: 0.209–1.015; $p=0.055$). This conclusion contradicts the findings of Abbas et al.⁽²⁴⁾, which indicated that Indians with the same genotypic profile show reduced survival and an increased risk of death.

Many studies indicate a direct relationship between GSTM1 and GSTT1 null alleles and the evolution or progression of several diseases, such as cervical neoplasia⁽³²⁾, viral hepatitis C⁽¹⁵⁾, chronic obstructive pulmonary disease⁽²⁹⁾, Human Papillomavirus infection⁽³³⁾, and COVID-19⁽²⁴⁾. However, a consensus has not been established. Single or combined GSTT1

and GSTM1 deletions are not always reported to worsen the prognosis of and susceptibility to viral infections. The findings of other researchers in this group revealed that GSTT1 deletion acts as a protective factor against HPV infection in a group of women in the same study area, namely, southwestern Paraná⁽²³⁾. A similar condition was described in patients with HIV whose disease progression is slower than that of individuals with GSTM1 and GSTT1 double deletions⁽³⁴⁾. In other chronic diseases related to oxidative stress, such as some thyroid⁽³⁵⁾, bladder⁽³⁶⁾ cancers, and schizophrenia⁽³⁷⁾, single or combined GST null alleles may play a protective role in disease progression in different populations.

Another key result was the significant relationship between HBP and reduced survival of patients with Covid-19 (OR: 2.139; 95%CI: 1.315 – 3.480; p=0.002). Even among hypertensive patients with a GSTM1⁻/GSTT1⁻ genotype, the mean survival was only 13 days, possibly determined by HBP, as observed by Martins-Filho et al.⁽³⁸⁾. The authors reported that patients with HBP and diabetes mellitus over 65 years of age were 1.5 times more likely to die (OR: 1.50, 95% CI: 1.02–2.19).

The results presented in this study, which did not show a relationship between GST polymorphisms and HBP, corroborate previous findings^(39,40,41). Conversely, some authors highlight that GSTM1 and GSTT1 null genotypes may increase the risk for cardiovascular problems related to both diastolic and systolic blood pressure when compared with wild-type genotypes^(42,43,44).

Thus, HBP is considered a risk factor for Covid-19⁽⁴⁵⁾. HBP is the most frequently observed comorbidity (20%) among individuals with Covid-19, followed by obesity (19.20%) and diabetes mellitus (16.2%)⁽⁴⁶⁾. In addition, according to the study cited above, the death rates associated with these comorbidities were 42.8, 24.8, and 37.3%, respectively. Therefore, the results from the present study corroborate those findings, which state that the risk of death from Covid-19 is higher among hypertensive individuals whose survival is more than two-fold lower than that of non-hypertensive individuals.

Several studies have shown a high prevalence of HBP in patients with SARS-CoV-2, but no study has proved that HBP is a predictor of mortality, separate from other factors such as age, obesity, diabetes, and chronic respiratory diseases^(6, 9, 47, 48). For example, advanced age (approximately >60 years) is related to a higher prevalence of diseases such as HBP, diabetes mellitus, cardiovascular diseases, and kidney impairment^(11, 49, 50).

The present study has some limitations, similar to other studies with a similar design. Although the results demonstrate new hypotheses, no concrete association was established between GST polymorphisms and Covid-19 outcomes. Therefore, further research should be

performed, including case-control or cohort studies, to test such associations and, thus, strengthen our findings.

Although the prevalence of infection with Sars-CoV-2 was not determined, the prevalence of GSTM1 and GSTT1 null alleles was higher than that of wild-type alleles in the study population. Conversely, BPH was significantly associated with decreased survival and increased death rates. Moreover, the protective GSTM1⁺/GSTT1⁻ genotype combination was associated with increased survival among patients with Covid-19. In addition, the mean survival of hypertensive patients with a double null profile was only 13 days, possibly determined by HBP and not by the genotypic profile of the population.

CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

This manuscript has not been published and is not being considered for publication elsewhere. There are no conflicts of interest or funding sources to be disclosed.

DATA AVAILABILITY DECLARATION

Data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

REFERÊNCIAS

1. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020;109:102433. doi:10.1016/j.jaut.2020.102433
2. Adhikari SP, Meng S, Wu YJ et al. Epidemiologia, causas, manifestação clínica e diagnóstico, prevenção e controle da doença coronavírus (COVID-19) durante o período inicial de surto: revisão de escopo. *Infectar a Pobreza.* 2020;9;(1):1-29.
3. Lin Q, Zhao S, Gao D et al. Um modelo conceitual para o surto da doença coronavírus 2019 (COVID-19) em Wuhan, China com reação individual e ação governamental. *Int J Infect Dis.* 2020;93:211-216. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.058>
4. Rohit A, Rajasekaran S, Karunasagar I, Karunasagar I. Destino de gotículas respiratórias em ambientes tropicais vs temperados e implicações para a transmissão SARS-CoV-2. *Hipóteses de Med.* 2020;144.
5. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, Azman AS, Reich NG, Lessler J. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):577-582. doi: 10.7326/M20-0504
6. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Patogênese imunológica molecular e diagnóstico de COVID-19. *Pharm Analv.* 2020;10(2):102-108.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica: emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019, covid-19 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2022b.
8. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, Ji R, Wang H, Wang Y, Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. **Int J Infect Dis.** 2020;94:91-95. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017.
9. Chen N, Zhou M, Dong X et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395:507-13.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Coronavírus. Ed. Brasília, 2022. Disponível em: <Coronavírus Brasil (saude.gov.br)>. Acesso em: 05 fev. 2022a.

11. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;28(395):1054-1062. doi: 10.1016/S01406736(20)30566-3
12. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, Liang HR, Chen ZS, Li YM, Liu XQ, Chen RC, Tang CL, Wang T, Ou CQ, Li L, Chen PY, Sang L, Wang W, Li JF, Li CC, Ou LM, Cheng B, Xiong S, Ni ZY, Xiang J, Hu Y, Liu L, Shan H, Lei CL, Peng YX, Wei L, Liu Y, Hu YH, Peng P, Wang JM, Liu JY, Chen Z, Li G, Zheng ZJ, Qiu SQ, Luo J, Ye CJ, Zhu SY, Cheng LL, Ye F, Li SY, Zheng JP, Zhang NF, Zhong NS, He JX; China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *Eur Respir J*. 2020;14;55(5):2000547. doi: 10.1183/13993003.00547-2020
13. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K et al. Open SAFELY: fatores associados à morte de COVID-19 em 17 milhões de pacientes, *Nature*. 2020;584:430-436. doi:https://doi.org/10.1038/s41586-020-2521-4.
14. Yoshikawa T, Naito Y. What is oxidative stress? *Jpn Med Assoc J.*, 2020;124(11):1549-1553.
15. Araujo OC, de Paula VS, do Ó KM, Villela-Nogueira CA, Araujo NM. Association of Polymorphisms in the Glutathione S-Transferase Theta-1 Gene with Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma in Brazilian Patients with Chronic Hepatitis C. *Vaccines (Basel)*. 2021;29,9(8):831. doi: 10.3390/vaccines9080831
16. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med*. 2009;30(1-2):1-12. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006
17. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005;45:51-88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857
18. Okcu MF, Selvan M, Wang LE, Stout L, Erana R, Airewele G, Adatto P, Hess K, Ali-Osman F, Groves M, Yung AW, Levin VA, Wei Q, Bondy M. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in primary malignant glioma. *Clin Cancer Res*. 2004;10(8):2618-25. doi: 10.1158/1078-0432
19. Luo W, Kinsey M, Schiffman JD, Lessnick SL. Glutathione s-transferases in pediatric cancer. *Front Oncol*. 2011;1:39. doi:10.3389/fonc.2011.00039
20. Hollman AL, Tchounwou PB, Huang HC. The Association between Gene-Environment

- Interactions and Diseases Involving the Human GST Superfamily with SNP Variants. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(4):379. doi: 10.3390/ijerph13040379
21. Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol*. 2007;212(4):356-67. doi:10.1002/path.2192
 22. Wongworawat Y, Filippova M, Williams VM, Filippov V, Duerksen-Hughes PJ. Chronic oxidative stress increases the integration frequency of foreign DNA and human papillomavirus 16 in human keratinocytes. *Am J Cancer Res*. 2016;15;6(4):764-80. doi: 27186429; PMID: PMC4859882.
 23. Bortolli APR, Vieira VK, Stefanski EE, Lazarotto AK, Lucio LC. Relationship between GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and HPV infection: a systematic review. *Mol Biol Rep*. 2021;48(9):6631-6636. doi: 10.1007/s11033-021-06515-6
 24. Abbas M, Verma S, Verma S, Siddiqui S, Khan FH, Raza ST, Siddiqi Z, Eba A, Mahdi F. Association of GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with COVID-19 susceptibility and its outcome. *J Med Virol*. 2021;93(9):5446-5451. doi: 10.1002/jmv.27076
 25. Saadat M. An evidence for correlation between the glutathione S-transferase T1 (GSTT1) polymorphism and outcome of COVID-19. *Clin Chim Acta*. 2020;508:213-216. doi:10.1016/j.cca.2020.05.041a
 26. Allocati N, Masulli M, Di Ilio C, Federici L. Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*. 2018;24,7(1):1-8. doi: 10.1038/s41389-017-0025-3
 27. Khomich OA, Kochetkov SN, Bartosch B, Ivanov AV. Redox Biology of Respiratory Viral Infections. *Viruses*. 2018;10(8):392. doi: 10.3390/v10080392
 28. Saadat M. No significant correlation between ACE Ins/Del genetic polymorphism and COVID-19 infection. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(7):1127-1128. doi:10.1515/cclm-2020-0577b
 29. Ding Z, Wang K, Li J, Tan Q, Tan W, Guo G. Association between glutathione S-transferase gene M1 and T1 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease risk: A meta-analysis. *Clin Genet*. 2019;95(1):53-62. doi: 10.1111/cge.13373
 30. de Lusignan S, Dorward J, Correa A, Jones N, Akinyemi O, Amirthalingam G, Andrews N, Byford R, Dabrera G, Elliot A, Ellis J, Ferreira F, Lopez Bernal J, Okusi C, Ramsay M, Sherlock J, Smith G, Williams J, Howsam G, Zambon M, Joy M, Hobbs FDR. Risk factors for SARS-CoV-2 among patients in the Oxford Royal College of General Practitioners

- Research and Surveillance Centre primary care network: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(9):1034-1042. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30371-6
31. Henry BM, Vikse J, Benoit S, Favalaro EJ, Lippi G. Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: A novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis. *Clin Chim Acta.* 2020;507:167-173. doi: 10.1016/j.cca.2020.04.027
 32. Gao LB, Pan XM, Li LJ, Liang WB, Bai P, Rao L, Su XW, Wang T, Zhou B, Wei YG, Zhang L. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to risk of cervical neoplasia: an evidence-based meta-analysis. *PLoS One.* 2011;6(5):e20157. doi: 10.1371/journal.pone.0020157
 33. Tian S, Yang X, Zhang L et al. Variantes polimórficas que conferem risco genético às lesões cervicais suportam GSTs como loci associado importante. *Medicina (EUA).* 2019;98(41):174-187. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017487>
 34. Kuleape JA, Tagoe EA, Puplampu P, Bonney EY, Quaye O. Homozygous deletion of both GSTM1 and GSTT1 genes is associated with higher CD4+ T cell counts in Ghanaian HIV patients. *PLoS One.* 2018;13(5):e0195954. doi: 10.1371/journal.pone.0195954
 35. Lemos MC, Coutinho E, Gomes L, Carilho F, Rodrigues F, Regateiro FJ, Carneiro M. Os genótipos nulos GSTM1 e GSTT1 combinados estão associados a um menor risco de câncer papilar de tireoide. *J Endocrinol Invest.* 2008;31(6):542-5. doi: 10.1007/BF03346405.
 36. Kima WJ, Kim H, Kim CH, Leed MS, Ohe RB, Leef HM, Katohg T. O genótipo GSTT1-null é um fator protetor contra o câncer de bexiga. *Journals & Books.* 2002;60(5):913-918. doi: 10.1016/s0090-4295(02)01892-7
 37. Zhang X, Yang J, Liu X, Zhao G, Li X, Xun G. Glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTT1 and GSTM1) and risk of schizophrenia: A case-control study in Chinese Han population. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(36). doi: 10.1097/MD.00000000000021918
 38. Martins-Filho PR, Araujo AAS, Pereira LX, Quintans-Junior LJ, Barboza WS, Cavalcante TF, Souza MF, Oliveira Geis MAO, Santos VS. Fatores associados à mortalidade entre pacientes hospitalizados com COVID-19: uma retrospectiva Estudo de coorte. *Sou. J. Trop. Med. Hyg.* 2021;104(1):103–105. doi:10.4269/ajtmh.20-1170
 39. Ge XH, Hu B, Shi ZL. Morcegos e vírus: uma nova fronteira das doenças infecciosas

- emergentes. *Bat coronaviruses*. 2015;127-155.
40. Lee, BK., Lee, S.J., Joo, J.S. et al. Association of Glutathione S-transferase genes (GSTM1 and GSTT1) polymorphisms with hypertension in lead-exposed workers. *Mol. Cell. Toxicol.* 2012;8:203–208. doi:<https://doi.org/10.1007/s13273-012-0025-5>
 41. Yang Y, Kao MT, Chang CC, Chung SY, Chen CM, Tsai JJ, Chang JG. Glutathione S-transferase T1 deletion is a risk factor for developing end-stage renal disease in diabetic patients. *Int J Mol Med*. 2004;14(5):855-9. doi: <https://doi.org/10.3892/ijmm.14.5.855>
 42. Oniki K, Hori M, Takata K, Yokoyama T, Mihara S, Marubayashi T, Nakagawa K. Association between glutathione S-transferase A1, M1 and T1 polymorphisms and hypertension. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(3):275-7. doi:10.1097/FPC.0b013e3282f56176
 43. Bessa SS, Ali EM, Hamdy SM. The role of glutathione S- transferase M1 and T1 gene polymorphisms and oxidative stress-related parameters in Egyptian patients with essential hypertension. *Eur J Intern Med*. 2009;20(6):625-30. doi: 10.1016/j.ejim.2009.06.003
 44. Capoluongo E, Onder G, Concolino P, Russo A, Santonocito C, Bernabei R, Zuppi C, Ameglio F, Landi F. GSTM1-null polymorphism as possible risk marker for hypertension: results from the aging and longevity study in the Sirente Geographic Area (ilSIRENTE study). *Clin Chim Acta*. 2009;399(1-2):92-6. doi: 10.1016/j.cca.2008.09.017
 45. Wolff D, Nee S, Hickey NS, Marschollek M. Risk factors for Covid-19 severity and fatality: a structured literature review. *Infection*. 2021;49(1):15-28. doi:10.1007/s15010-020-01509-1
 46. Gaspar MPB, Lopez-Villalobos N, Parra-Bracamonte FE. Clinical characteristics and risk factors for mortality of patients with COVID-19 in a large data set from Mexico. *Ann Epidemiol*. 2020;52:93-98.e2. doi: 10.1016/j.annepidem.2020.08.005
 47. Du Y, Tu L, Zhu P et al. Características clínicas de 85 casos fatais de COVID-19 de Wuhan: um estudo observacional retrospectivo. *Sou J Respir Crit Care Med*. 2020;201(11):1372-1379.
 48. Deng Y, Liu W, Liu K et al. Características clínicas de casos fatais e recuperados da doença coronavírus 2019 (COVID-19) em Wuhan, China: um estudo retrospectivo. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(11):1261- 1267.
 49. Guo T, Fan Y, Chen M et al. Implicações cardiovasculares dos desfechos fatais de pacientes com doença coronavírus 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020;114(5):834-838. doi:

<https://doi.org/10.36660/abc.20200243>

50. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, Wang B, Xiang H, Cheng Z, Xiong Y, Zhao Y, Li Y, Wang X, Peng Z. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061-1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585

6. ANEXOS

Anexo 1 - Comprovante de submissão no periódico "Journal of Medical Virology"

20/11/2022 07:22

Final Review | Wiley Authors

Wiley Authors | Submission

My Submissions

Léia ▾

Journal of Medical Virology

JOURNAL HOME

AUTHOR GUIDELINES

EDITORIAL CONTACT

Powered by Atypon ReX

Congratulations

Your manuscript has been processed and submitted to the journal.

What to expect next

Your manuscript is being shared with the journal editors. You'll hear from them via email, confirming that your manuscript was received and is being reviewed. After that, you may receive emails requesting revisions, or a notification of acceptance or rejection. The length of the peer-review process varies by journal. [Click here to learn more about what happens during the peer-review process.](#)

You can go to [My Submissions](#) at any time to check the status of your manuscript.

The screenshot shows a Gmail interface. On the left is the navigation sidebar with folders like 'Caixa de entrada' (7,313), 'Adiados', 'Importante', 'Enviados', 'Rascunhos' (63), 'Spam' (94), 'Social' (647), 'Atualizações' (2,930), 'Fóruns' (34), 'Promoções' (3,705), and 'Mais'. The main area displays an email from 'Journal of Medical Virology' (no-reply@atypnrex.com) received at 07:22. The subject is 'Manuscript submitted to Journal of Medical Virology'. The email body contains the following text:

Dear Léia Lucio,

Your manuscript entitled "GSTT1 AND GSTM1 ALLELE FREQUENCY IN PATIENTS WITH COVID-19 AND ITS ASSOCIATION WITH SURVIVAL" has been successfully submitted online and is being delivered to the Editorial Office of *Journal of Medical Virology* for consideration.

You will receive a follow-up email with further instructions from our electronic editorial office platform, ScholarOne Manuscripts, typically within one business day. That message will confirm that the Editorial Office has received your submission and will provide your Manuscript ID.

Thank you for submitting your manuscript to *Journal of Medical Virology*

Sincerely,
The Editorial Staff at Journal of Medical Virology

Anexo 2 – Normas do periódico “Journal of Medical Virology”

INSTRUÇÕES PARA COLABORADORES

OBJETIVOS E ESCOPO

O Journal of Medical Virology fornece um meio de publicação rápida de artigos científicos originais sobre pesquisas fundamentais e aplicadas sobre vírus que afetam seres humanos. Estes incluem relatórios que descrevem a caracterização, diagnóstico, epidemiologia, imunologia e patogênese da infecção por vírus humanos, bem como estudos básicos sobre morfologia, genética, replicação e interações entre células hospedeiras.

TIPOS DE ARTIGOS PARA SUBMISSÃO

Artigos de pesquisa descrevem descobertas significativas, originais e completas em virologia médica. Um Artigo de Pesquisa consiste em um Resumo de até 200 palavras, Texto de até 4.000 palavras (incluindo Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão), não mais de 50 Referências e ilustrações limitadas a 8 itens (figuras e tabelas).

Comunicações curtas descrevem observações importantes, originais e urgentes que são mais restritas em escopo do que aquelas descritas em artigos de pesquisa. Uma Comunicação Curta consiste em um Resumo de até 200 palavras, Texto de até 2.000 palavras (incluindo Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão), não mais de 20 Referências e ilustrações limitadas a 4 itens (figuras e tabelas).

Os comentários são convidados pelo Editor. Eles cobrem os avanços mais atualizados e significativos no campo. Uma Revisão consiste em um Resumo de até 150 palavras, Texto de até 5.000 palavras, não mais de 100 Referências e Ilustrações limitadas a 4 itens (figuras e tabelas). Por favor, não envie comentários não solicitados.

Os comentários fornecem observação ou análise de um artigo. Eles geralmente aparecem na mesma edição do artigo original, mas podem se referir a qualquer artigo publicado nos 12 meses anteriores. Eles são fornecidos pelo Editor da revista ou por um revisor. Eles também podem ser enviados pelos autores apenas por convite. Os comentários devem ser enviados em formato de carta com no máximo 1.000 palavras, 10 referências e 1 item (figura e tabela).

Cartas ao Editor são críticas de artigos publicados na JMV nos últimos 12 meses. Também pode abordar um tópico urgente, um relato de caso significativo ou uma série de casos. Uma Carta não deve exceder 750 palavras e conter no máximo 12 referências e 2 itens (figura ou tabela).

Para todos os estudos clínicos e epidemiológicos, o manuscrito deve declarar claramente a aprovação dos comitês de revisão institucional, o desenho do estudo, a estratégia de amostragem, os critérios de inclusão dos sujeitos, um resumo dos principais dados clínicos e patológicos dos grupos de estudo.

MATERIAL COMPLEMENTAR

(Apenas publicação online) O material suplementar deve ser enviado com o manuscrito para revisão por pares e aprovação dos Editores. O material suplementar, que deve ser referenciado no corpo do texto principal, pode incluir figuras, tabelas, filmes e animações. Recomendamos o uso dos seguintes tipos de arquivo: Word Doc ou PDF para texto, formato tif ou eps para imagens e filmes nos formatos mov, wmv, mpg ou avi. O Material Suplementar somente online será publicado conforme enviado. Não será copiado ou formatado pelo editor de forma alguma. A precisão e apresentação do Material Suplementar é de responsabilidade exclusiva dos autores. Por favor, tente restringir os tamanhos de arquivos individuais a um máximo de 10Mb (compactado ou descompactado).

NOTA: A revista não aceita mais Estudos de Caso.

SUBMISSÕES

É responsabilidade dos autores garantir que o manuscrito esteja completo e correto antes da submissão. Após a emissão de uma decisão de 'aceitar', o manuscrito não pode ser retirado. Quaisquer solicitações de retirada após a aceitação precisarão ser fortemente justificadas e serão avaliadas pelo Editor-Chefe e pela editora.

Todos os manuscritos devem ser enviados eletronicamente através do [portal de submissão Research Exchange \(ReX\)](#) . Caso seu manuscrito prossiga para a fase de revisão, você será direcionado para fazer suas revisões através do mesmo portal de submissão. Você pode verificar o status do seu envio a qualquer momento acessando [submit.wiley.com](#) e clicando no botão “Meus envios”. Para obter ajuda técnica com o sistema de envio, consulte nossas [Perguntas frequentes](#) ou entre em contato com submithelp@wiley.com .

Se enviar seu arquivo de manuscrito em formato LaTeX via Research Exchange, selecione a designação de arquivo “Main Document – LaTeX .tex File” no upload. Ao enviar um documento principal do Latex, você também deve fornecer uma versão em PDF do manuscrito para revisão por pares. Carregue este arquivo como “Main Document - LaTeX PDF”. Todos os arquivos de suporte mencionados no documento principal do Latex devem ser carregados como um "Arquivo suplementar do LaTeX".

Envio de formato gratuito

O Journal of Medical Virology agora oferece [envio em formato gratuito](#) para um processo de envio simplificado e simplificado.

Antes de enviar, você vai precisar de:

- Seu manuscrito: deve ser um arquivo editável incluindo texto, figuras e tabelas, ou arquivos separados – o que você preferir. Todas as seções necessárias devem estar contidas em seu manuscrito, incluindo resumo, introdução, métodos, resultados e conclusões. Figuras e tabelas devem ter legendas. As figuras devem ser enviadas na maior resolução possível. Se as figuras não forem de qualidade suficientemente alta, seu manuscrito pode ser adiado.] As referências podem ser enviadas em qualquer estilo ou formato, desde que sejam consistentes em todo o manuscrito. As informações de suporte devem ser enviadas em arquivos separados. Se o manuscrito, figuras ou tabelas forem difíceis de ler para você, também serão difíceis para os editores e revisores, e o escritório editorial os enviará de volta para revisão. Seu manuscrito também pode ser devolvido a você para revisão se a qualidade do idioma inglês for ruim.
- Um ID ORCID, disponível gratuitamente em <https://orcid.org> . *(Por que isso é importante? Seu artigo, se aceito e publicado, será anexado ao seu perfil ORCID. Instituições e financiadores estão exigindo cada vez mais que os autores tenham IDs ORCID.)*
- A página de título do manuscrito, incluindo:
 - Seus detalhes de coautor, incluindo afiliação e endereço de e-mail. *(Por que isso é importante? Precisamos manter todos os coautores informados sobre o resultado do processo de revisão por pares.)*
 - Declarações relacionadas às nossas políticas de ética e integridade, que podem incluir qualquer uma das seguintes *(por que elas são importantes? Precisamos manter padrões éticos rigorosos para a pesquisa que consideramos para publicação):*
 - declaração de disponibilidade de dados
 - declaração de financiamento
 - divulgação de conflito de interesses
 - declaração de aprovação ética
 - declaração de consentimento do paciente

- permissão para reproduzir material de outras fontes
- registro de ensaio clínico

Para enviar, faça o login no [site de submissão JMV](#) e crie uma nova submissão. Siga as etapas de submissão conforme necessário e envie o manuscrito.

Numere todas as páginas em sequência e comece cada seção em uma nova página. Os manuscritos devem ser divididos nas seguintes seções:

FOLHA DE ROSTO. Deve conter o título completo do trabalho; os nomes, títulos e afiliações de todos os autores (listas de graus e diplomas não devem ser incluídos); a instituição em que o trabalho foi realizado; o nome, endereço, telefone e e-mail institucional do autor correspondente; e um título abreviado, de até 40 caracteres, para ser usado como cabeçalho.

ABSTRATO. Esta deve ser uma condensação factual de todo o trabalho e incluir declarações do problema, método de estudo, resultados e conclusões. O resumo não pode exceder 250 palavras.

PALAVRAS-CHAVE. Forneça uma lista de três a seis palavras-chave (não há problema em repetir palavras no título), pertinentes ao artigo, que aparecerão abaixo do resumo e serão incluídas no índice ao final do volume.

OTIMIZAÇÃO DO MECANISMO DE PESQUISA . Impulsionar o uso e o número de leitores é extremamente importante para aumentar a visibilidade de sua pesquisa publicada. Um dos principais fatores para sustentar o uso a longo prazo é por meio da otimização de mecanismo de busca (SEO). Abaixo está uma lista de maneiras sugeridas de maximizar seu SEO.

1. Verifique se o título do seu artigo é compatível com SEO. Deve ser descritivo e deve incluir uma frase-chave do seu tópico.
2. Forneça até cinco palavras-chave ou frases específicas do tópico no campo de palavra-chave.
3. Certifique-se de que suas palavras-chave e frases apareçam em seu resumo várias vezes, mas não exagere ou o mecanismo de pesquisa pode expulsá-lo.
4. Ao referenciar autores, seja consistente. Use seus nomes como geralmente aparecem em publicações on-line anteriores.
5. Quando apropriado, use suas palavras-chave nos títulos das seções do artigo. Lembre-se: eles não poderão ler se não puderem encontrá-lo!

Para obter informações mais detalhadas sobre SEO, incluindo exemplos úteis, acesse <http://authorservices.wiley.com/bauthor/seo.asp> .

NOMENCLATURA DO VÍRUS. Cada vírus deve ser identificado pelo menos uma vez, preferencialmente na *Introdução* ou *Materiais e Métodos* seção, usando termos formais de família, gênero e espécie e, sempre que possível, usando um termo de designação de linhagem preciso, desenvolvido por um grupo de especialidade reconhecido internacionalmente ou coleção de cultura. Observe que a palavra tipo não é usada antes de designações de espécies que incluem um número. Os termos formais usados para famílias, gêneros e espécies de vírus devem ser aqueles aprovados pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV): Van Regenmortel, MHV, Fauquet, CM, Bishop, DHL, Carstens, EB, Estes, MK, Lemon , SM, McGeoch, DJ, Maniloff, J., Mayo, MA, Pringle, CR e Wickner, Taxonomia de Vírus RB, Classificação e Nomenclatura de Vírus, Sétimo Relatório ICTV, Imprensa Acadêmica. Este volume também inclui abreviaturas padrão para espécies. Uma vez que nomes taxonômicos formais tenham sido dados em um artigo, termos vernaculares podem ser usados.

Nomenclatura taxonômica

formal No uso taxonômico formal, as primeiras letras dos nomes de ordem, família, subfamília, gênero e espécie do vírus são maiúsculas e os termos são impressos em itálico. Outras palavras no nome da espécie não são maiúsculas, a menos que sejam nomes próprios ou partes de nomes, por exemplo, *vírus do Nilo Ocidental* . Uso informal, o nome do táxon deve preceder o termo

da unidade taxonômica; por exemplo: "a família *Paramyxoviridae* ", "o gênero *Morbillivirus* ". Os exemplos a seguir representam a terminologia taxonômica formal completa:
 1 Ordem *Mononegavirales* , Família *Rhabdoviridae* , gênero *Lyssavirus* , Espécies *vírus da raiva* .

2 Família *Poxviridae* , subfamília *Chordopoxvirinae* , gênero *Orthopoxvirus* , espécie *Vaccinia virus* .

3 Família *Picornaviridae* , gênero *Enterovirus* , espécie *Poliovirus* .

4 Família *Bunyaviridae* , gênero *Tospovirus* , espécie *Vírus da murcha manchada do tomateiro* .

Nomenclatura taxonômica vernacular

No uso vernáculo formal, os nomes da ordem, família, subfamília, gênero e espécie dos vírus são escritos em caracteres romanos minúsculos; não estão em maiúsculas, nem são impressos em itálico ou sublinhados. No uso informal, o nome do táxon não deve incluir o sufixo formal e o nome do táxon deve seguir o termo da unidade taxonômica; por exemplo, "a família dos picornavírus", "o gênero enterovírus". Uma fonte particular de ambigüidade na nomenclatura vernacular reside no uso comum dos mesmos termos de raiz em nomes formais de família, gênero ou espécie. A imprecisão decorre de não ser capaz de identificar facilmente no uso vernacular qual nível hierárquico está sendo citado. Por exemplo, o nome vernacular "paramyxovirus" pode se referir à família *Paramyxoviridae* , a subfamília *Paramyxovirinae* , ou uma espécie do gênero *Respirovirus* , como o *Human parainfluenza virus 1* . A solução no uso vernacular é evitar níveis hierárquicos "saltando" e adicionar identificação de táxon sempre que necessário. Por exemplo, ao citar a colocação taxonômica do *Human parainfluenza virus 1* , a identificação do táxon deve sempre ser acrescentada: " *Human parainfluenza virus 1* é uma espécie do gênero *Respirovirus* , família *Paramyxoviridae* ." Nesse exemplo, como costuma acontecer, não é necessário acrescentar a informação de que esse vírus também é membro da subfamília *Paramyxovirinae* e da ordem *Mononegavirales* .

Deve-se ressaltar que letras iniciais maiúsculas e itálicas devem ser usadas apenas se o nome da espécie se referir à categoria taxonômica. Quando o nome se refere a objetos virais, como virions presentes em uma preparação ou vistos em uma micrografia eletrônica, não são necessários itálicos e letras iniciais maiúsculas e os nomes são escritos em caracteres romanos minúsculos. Isso também se aplica quando os nomes são usados na forma de adjetivos, por exemplo, polimerase do vírus do mosaico do tabaco. O uso de itálico quando se refere ao nome de uma espécie como uma entidade taxonômica sinaliza que ela tem o status de espécie oficialmente reconhecida. O 7º Relatório ICTV (Van Regenmortel, MHV et al., 1999, Academic Press) deve ser consultado para verificar quais nomes foram aprovados como nomes oficiais de espécies. Quando o status taxonômico de uma nova espécie putativa é incerto ou sua posição dentro de um gênero estabelecido não foi esclarecida, ela é considerada uma espécie provisória e seu nome não é escrito em itálico, embora sua letra inicial seja maiúscula.

TEXTO:

É essencial que os autores cujo "primeiro" idioma não seja o inglês providenciem para que seus manuscritos sejam escritos em inglês idiomático antes da submissão. Os autores podem usar o estilo inglês ou americano; para o primeiro, consulte o Oxford Shorter Dictionary; para este último, consulte o Merriam-Webster's. Os manuscritos que relatam os resultados de investigações experimentais em seres humanos devem incluir uma declaração de que os procedimentos receberam aprovação institucional e ética oficial. Referencie os pacientes pelo número (ou, em relatos anedóticos, por iniciais anônimas). Os pronomes "nós" e "nosso" não devem ser usados. Os infinitivos divididos devem ser evitados. Nomes completos ou

designações identificáveis não devem ser usados no texto, tabelas ou ilustrações. Todas as medições devem estar em unidades métricas. Evite o uso excessivo de siglas e não use abreviações incomuns. Os nomes das espécies devem estar em itálico e ter a primeira letra da primeira palavra em maiúscula. Todas as outras palavras do nome não devem ser maiúsculas, a menos que sejam nomes próprios ou partes de nomes. Coloque os agradecimentos como último elemento do texto, antes das referências.

REFERÊNCIAS:

Todas as referências devem ser numeradas consecutivamente por ordem de aparecimento e devem ser o mais completas possível. Nas citações de texto devem citar referências em ordem consecutiva usando algarismos arábicos sobrescritos. Exemplos de referências a seguir:

Artigo de jornal: King VM, Armstrong DM, Apps R, Trott JR. Aspectos numéricos das projeções pontina, reticular lateral e olivar inferior para duas zonas corticais paravermais do cerebelo do gato. *J Comp Neurol* 1998;390:537-551.

Livro: Voet D, Voet JG. *Bioquímica*. Nova York: John Wiley & Sons; 1990. 1223 p.

Observe que as abreviações de títulos de periódicos devem estar de acordo com as práticas do Chemical Abstracts. Para obter mais informações sobre o estilo de referência AMA - [AMA Manual of Style](#)

LEGENDAS. Uma legenda descritiva deve acompanhar cada ilustração e deve definir todas as abreviações nelas utilizadas.

TABELAS. Cada tabela deve ter um título. Eles devem ser numerados em ordem de aparecimento com algarismos romanos e digitados no texto.

ILUSTRAÇÕES. Para garantir a mais alta qualidade de impressão, suas figuras devem ser enviadas em formato TIF de acordo com as seguintes resoluções mínimas:

1200 dpi (pontos por polegada) para arte de linha em preto e branco (gráficos de barras simples, tabelas, etc.)

300 dpi para meios-tons (fotografias em preto e branco)

600 dpi para meios-tons combinados (fotografias que também contêm arte de linha, como rótulos ou linhas finas)

COLOR ART. Além das diretrizes de resolução acima, a arte colorida deve ser enviada no espaço de cores CMYK. Não envie figuras coloridas em RGB.

FORMATOS INACEITÁVEIS. Não envie figuras nos seguintes formatos: JPG, GIF, PSD, CRD, PCT, PPT, PDF, XLS, DOC, BMP, 123 (ou outros formatos da Lotus).

DIRETRIZES PARA ENVIOS DE CAPAS. Se você gostaria de enviar sugestões de artes relacionadas ao seu manuscrito para serem consideradas na capa da revista, [siga estas diretrizes gerais](#).

Apoio à preparação do artigo

[Wiley Editing Services](#) oferece ajuda especializada com edição em inglês, bem como tradução, formatação de manuscrito, ilustração de figura, formatação de figura e design gráfico de resumo - para que você possa enviar seu manuscrito com confiança.

Além disso, confira nossos recursos para [Preparar seu artigo](#) para obter orientações gerais sobre como escrever e preparar seu manuscrito.

POLÍTICAS EDITORIAIS

TODOS OS MANUSCRITOS submetidos ao Journal of Medical Virology devem ser submetidos exclusivamente a este periódico, não podem ter sido publicados em nenhuma parte, idioma ou forma em outra publicação de qualquer tipo, profissional ou leiga, e tornam-se

propriedade do editor. A editora reserva os direitos autorais e nenhum material publicado pode ser reproduzido ou publicado em outro lugar sem a permissão por escrito da editora e do autor. A revista não se responsabilizará pela perda de manuscritos em nenhum momento. Todas as declarações ou omissões de manuscritos publicados são de responsabilidade dos autores, que auxiliarão os editores revisando as provas antes da publicação. Os formulários de pedido de reimpressão serão enviados com provas de página. Nenhuma cobrança de página será cobrada dos autores ou de suas instituições para publicação na revista.

Ao enviar um manuscrito ou revisar para esta publicação, seu nome, endereço de e-mail e afiliação e outros detalhes de contato que a publicação possa exigir serão usados para as operações regulares da publicação, incluindo, quando necessário, compartilhamento com o editor (Wiley) e parceiros para produção e publicação. A publicação e o editor reconhecem a importância de proteger as informações pessoais coletadas dos usuários na operação desses serviços e adotam práticas para garantir que sejam tomadas medidas para manter a segurança, integridade e privacidade dos dados pessoais coletados e processados. Você pode saber mais em <https://authorservices.wiley.com/statements/data-protection-policy.html>.

ID

ORCID

Esta revista incentiva os autores a obterem o ORCID. Consulte [os recursos de Wiley no ORCID](#).

Política de alteração de nome de autor da Wiley

Nos casos em que os autores desejam alterar seu nome após a publicação, a Wiley atualizará e republicará o artigo e reenviará os metadados atualizados aos serviços de indexação. Nossas equipes editoriais e de produção usarão de discrição ao reconhecer que as alterações de nome podem ser de natureza confidencial e privada por vários motivos, incluindo (mas não limitado a) alinhamento com a identidade de gênero ou como resultado de casamento, divórcio ou conversão religiosa. Assim, para proteger a privacidade do autor, não publicaremos um aviso de correção no artigo e não notificaremos os coautores sobre a alteração. Os autores devem entrar em contato com o Escritório Editorial da revista com o pedido de mudança de nome.

Divulgação de Conflitos de Interesse. Os autores devem divulgar no manuscrito qualquer conflito de interesse financeiro ou outro que possa ser interpretado como influenciando o conteúdo do manuscrito, incluindo os resultados ou a interpretação da publicação. Todas as fontes de apoio financeiro para o estudo devem ser divulgadas e reconhecidas.

Além disso, os editores devem divulgar os interesses que possam afetar sua capacidade de apresentar ou revisar o trabalho de forma objetiva. Isso pode incluir interesses financeiros relevantes (por exemplo, propriedade de patentes e propriedade de ações, consultorias ou honorários de palestrantes superiores a US\$ 5.000 por ano) ou interesses pessoais, políticos ou religiosos. Em particular, os Editores que prestam serviços editoriais e de consultoria contínuos dos quais obtêm um interesse comercial ou financeiro direto devem declarar tais atividades e devem abster-se de manusear quaisquer manuscritos que estejam relacionados a essas atividades.

Diante disso, todos os envolvidos no processo de revisão por pares, incluindo autores, editores e revisores, devem declarar todos os potenciais conflitos de interesse ocorridos até 3 anos após a realização da pesquisa em questão ou preparação do artigo para publicação. Os interesses fora do prazo de 3 anos também devem ser declarados se puderem ser razoavelmente percebidos como conflitantes de acordo com a seguinte definição: Um conflito de interesse é qualquer coisa que interfira ou possa ser razoavelmente percebida como interferindo no pleno e objetivo apresentação, revisão por pares, tomada de decisão editorial ou pesquisa de publicação ou artigos não relacionados à pesquisa submetidos ao Journal.

No momento da submissão, os autores devem listar todos os conflitos de interesses relevantes para a pesquisa submetida.

Editores e revisores devem declarar seus próprios conflitos de interesse e, se necessário, desqualificar-se de envolvimento na avaliação de um manuscrito.

O Wiley Data Sharing Polices *Journal of Medical Virology* espera que os dados que suportam os resultados do artigo sejam arquivados em um repositório público apropriado. Os autores são obrigados a fornecer uma declaração de disponibilidade de dados para descrever a disponibilidade ou ausência de dados compartilhados. Quando os dados forem compartilhados, os autores devem incluir em sua declaração de disponibilidade de dados um link para o repositório que usaram e citar os dados que compartilharam. Sempre que possível, os scripts e outros artefatos usados para gerar as análises apresentadas no artigo também devem ser arquivados publicamente. Se o compartilhamento de dados comprometer os padrões éticos ou os requisitos legais, não se espera que os autores os compartilhem. Consulte nossa página de políticas de [compartilhamento de dados da Wiley](#) para obter mais informações.

Ética Experimental. Nos casos em que um estudo envolve o uso de animais vivos ou seres humanos, os autores devem incluir na seção apropriada do manuscrito uma declaração de que todos os experimentos foram realizados em conformidade com as leis e diretrizes institucionais relevantes e de acordo com os padrões éticos da Declaração de Helsinque. Os comitês institucionais que aprovaram os experimentos devem ser nomeados.

Os autores também devem incluir uma declaração de que o **consentimento informado** foi obtido para qualquer experimentação com seres humanos, incluindo voluntários humanos.

Tais afirmações devem ser repetidas no texto do artigo na seção “Materiais e Métodos” ou “Pacientes e Métodos”.

(Esta política de ética experimental foi informada e adaptada das diretrizes éticas de autoria da EuCheMS, a Associação Europeia de Ciências Químicas e Moleculares. Para obter mais informações, consulte <http://www.euchems.org/Publications/index.asp>.)

Para autores que assinam o contrato de transferência de direitos autorais:

Se a opção Open Access não for selecionada, o autor correspondente receberá o contrato de transferência de direitos autorais (CTA) para assinar. Os termos e condições do CTA podem ser visualizados nas amostras associadas às perguntas frequentes sobre direitos autorais abaixo:

Termos e Condições do CTA http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

Para autores que escolhem acesso aberto

Se a opção Acesso Aberto for selecionada, o autor correspondente poderá escolher entre os seguintes Contratos de Acesso Aberto de Licença Creative Commons (OAA):

Licença Creative Commons Atribuição Não Comercial OAA

Creative Commons Attribution Non-Comercial-NoDerivs License OAA

Para visualizar os termos e condições desses acordos de acesso aberto, visite as perguntas frequentes sobre direitos autorais hospedadas no Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp e

visite <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.htm> l.

Se você selecionar a opção Open Access e sua pesquisa for financiada pelo The Wellcome Trust e membros do Research Councils UK (RCUK), você terá a oportunidade de publicar seu artigo sob uma licença CC-BY, apoiando-o no cumprimento do Wellcome Trust e Requisitos do Conselho de Pesquisa do Reino Unido. Para obter mais informações sobre esta política e a política de autoarquivamento compatível com o Journal, visite: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

Para autores RCUK e Wellcome Trust, clique no link abaixo para visualizar os termos e condições desta licença:

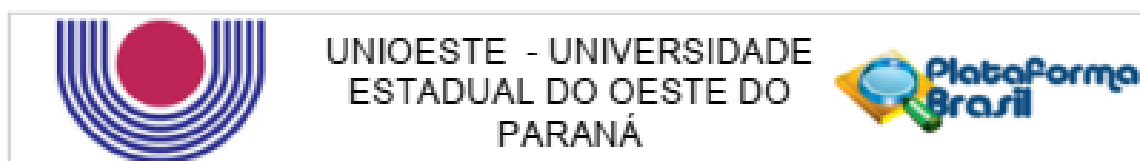
Licença de Atribuição Creative Commons OAA

Para visualizar os termos e condições desses acordos de acesso aberto, visite as perguntas frequentes sobre direitos autorais hospedadas no Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp e visite <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>

Definições e políticas de auto-arquivamento: Observe que o acordo de direitos autorais padrão da revista permite o [auto-arquivo](#) de diferentes versões do artigo sob condições específicas.

Taxas de Acesso Aberto: Se você optar por publicar usando o Acesso Aberto, será cobrada uma taxa. Uma lista de taxas de publicação de artigos para revistas Wiley está disponível [aqui](#).

Anexo 3 – Aprovação no comitê de ética


PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP
DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E CLÍNICA DA POPULAÇÃO EXPOSTA A COVID-19: ESTUDO TRANSVERSAL

Pesquisador: Lirane Elze Defante Ferreto

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 31837720.5.0000.0107

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.224.011

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E CLÍNICA DA POPULAÇÃO EXPOSTA A COVID-19: ESTUDO TRANSVERSAL

Pesquisador Responsável: Lirane Elze Defante Ferreto

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 31837720.5.0000.0107

Submetido em: 18/08/2020

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANA

Situação da Versão do Projeto: Em relatório

Objetivo da Pesquisa:

Submissão Ementa n. 025 anexa na PB

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Descrito Anteriormente

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Descrito Anteriormente

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Descrito Anteriormente

Endereço: RUA UNIVERSITARIA,2069

Bairro: UNIVERSITARIO

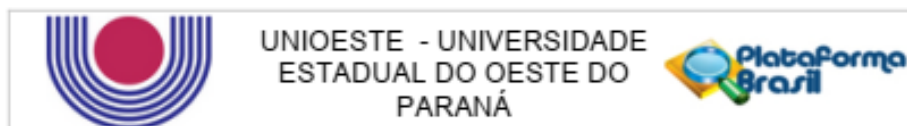
CEP: 85.819-110

UF: PR

Município: CASCAVEL

Telefone: (45)3220-3092

E-mail: cep.prgpg@unioeste.br



Continuação do Parecer: 4.224.011

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_161467_6_E2.pdf	18/08/2020 17:29:28		Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	laboratoriodebiologiamolecular.pdf	18/08/2020 11:58:57	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Outros	memorando025cep.pdf	18/08/2020 11:54:27	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID19FB2alterado.pdf	18/08/2020 11:51:45	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Outros	scan0008.pdf	11/06/2020 13:40:19	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Brochura Pesquisa	COVID19FB2.pdf	11/06/2020 13:22:51	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	scan0006.pdf	11/06/2020 13:19:55	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Pollclinica.jpeg	11/06/2020 13:09:24	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Declaração de Pesquisadores	pesquisadores.png	15/05/2020 15:04:47	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Outros	DOCUMENTOINFORMATIVO.pdf	15/05/2020 11:50:46	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID19FB.pdf	15/05/2020 11:48:36	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Folha de Rosto	folharosto.pdf	15/05/2020 11:22:08	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	20200514184751956.pdf	14/05/2020 18:07:42	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Outros	FORMULARIOCOLETACOV19.pdf	14/05/2020 18:06:43	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto
Outros	20200514175721086.pdf	14/05/2020 17:55:12	Lirane Eltze Defante Ferreto	Acelto

Endereço: RUA UNIVERSITÁRIA, 2069

Bairro: UNIVERSITÁRIO

CEP: 85.819-110

UF: PR Município: CASCAVEL

Telefone: (45)3220-3092

E-mail: cep.progp@unioeste.br



UNIOESTE - UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO OESTE DO
PARANÁ



Continuação do Parecer: 4.224.011

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CASCABEL, 19 de Agosto de 2020

Assinado por:
Dartel Ferrari de Lima
(Coordenador(a))

Endereço: RUA UNIVERSITARIA 2069

Bairro: UNIVERSITARIO

CEP: 85.819-110

UF: PR Município: CASCAVEL

Telefone: (45)3220-3092

E-mail: cep.prpg@unioeste.br