



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

DAYLLANNA STEFANNY LOPES LIMA FEITOSA

**DESREGULAÇÃO DE IL-8 E CLAUDINA-2 NO ESÔFAGO DE PACIENTES COM
COVID-19 PÓS-AGUDA: IMPLICAÇÕES PARA A DISFUNÇÃO DA BARREIRA
EPITELIAL**

FORTALEZA, CE

2024

DAYLLANNA STEFANNY LOPES LIMA FEITOSA

DESREGULAÇÃO DE IL-8 E CLAUDINA-2 NO ESÔFAGO DE PACIENTES COM
COVID-19 PÓS-AGUDA: IMPLICAÇÕES PARA A DISFUNÇÃO DA BARREIRA
EPITELIAL

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas. linhas de pesquisa: Farmacologia clínica.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza

FORTALEZA, CE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

-
- F336d Feitosa, Dayllanna stefanny lopes lima.
Desregulação de il-8 e claudina-2 no esôfago de pacientes com covid-19 pós-aguda: implicações para a
disfunção da barreira epitelial / Dayllanna stefanny lopes lima Feitosa. – 2025.
124 f.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médicas, Fortaleza, 2025.
Orientação: Prof. Dr. Miguel Angelo Nobre e Souza.
1. COVID-19. 2. Síndrome de COVID-19 pós-aguda. 3. Mucosa esofágica. 4. Interleucina-8. 5.
Claudina-2. I. Título.

CDD 610

DAYLLANNA STEFANNY LOPES LIMA FEITOSA

DESREGULAÇÃO DE IL-8 E CLAUDINA-2 NO ESÔFAGO DE PACIENTES COM
COVID-19 PÓS-AGUDA: IMPLICAÇÕES PARA A DISFUNÇÃO DA BARREIRA
EPITELIAL

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas. Linha de pesquisa: Farmacologia clínica.

Aprovada em: 28/01/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhaes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Jeová Kenny Baima Colares (Unifor)
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Prof. Dra. Tatiana de Medeiros Colletti Cavalcante
Universidade de Fortaleza (Unifor)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e incentivo constante, a minha filha por entender minha ausência e me ajudar a perseverar.

Aos meus amigos e colegas, que compartilharam esta jornada comigo, oferecendo apoio nos momentos mais desafiadores.

E, em memória das vítimas da COVID, cuja luta e resiliência inspiram a busca contínua por conhecimento e soluções que possam melhorar a vida de todos.

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais e minha filha por ser fonte de força e luz e motivação todos os dias e em todos os momentos entenderem as minhas ausências.
- Ao Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza, por todos os ensinamentos durante esses anos, obrigada por compartilhar seus infinitos conhecimentos.
- Aos professores participantes da banca pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.
- Aos meus amigos doutores enfermeiros Wesley e Aglauvanir, por sempre estarem ao meu lado quando mais precisei.
- Aos participantes do estudo, pelo tempo e paciência concedidos nos exames.
- Aos colegas de Laboratório, Kerolyne, Klaire, Késia, Thiago, Bela, Lara, Larissa e Roney pela parceria de todos os momentos. Obrigada por não me deixaram desanimar e seguir junto comigo em cada passo dessa caminhada.
- A amiga Nádia, Claudinha e Márcia que ao longo desses anos se tornou parte da minha vida, agradeço o carinho e atenção constantes.
- A minha amiga e mãe acadêmica, Dra. Suliana Mesquita Paula, que com todo amor e carinho pegou na minha mão e sempre esteve ao meu lado me apoiando e ajudando em tudo que era preciso.
- Ao Setor de Endoscopia Digestiva do HUWC, por toda a acolhida durante os exames realizados. As secretarias da Pós-Graduação em Ciências Médicas por toda força e organização necessária para concluir esse processo.
- Ao Prof. Dr. Marcellus Henrique pelos ensinamentos de todos os dias e por contribuir para a realização deste trabalho.

“Não podemos mudar a direção do vento, mas
podemos ajustar as velas para sempre alcançar
nosso destino”

— Jimmy Dean

RESUMO

A pandemia de COVID, causada pelo SARS-CoV-2, revelou uma série de sintomas além do sistema respiratório, incluindo manifestações gastrointestinais significativas, evidências sugerem que esses sintomas podem persistir por meses após a alta hospitalar, o que pode levar a complicações de longo prazo. Nesse contexto, a integridade da barreira esofágica é essencial para prevenir sintomas esofágicos como a azia e o refluxo ácido. O objetivo do estudo foi determinar a prevalência dos sintomas esofágicos na síndrome de COVID-19 pós-aguda (SPCA) e possível associação com possíveis alterações na integridade da barreira epitelial esofágica. Trata-se de estudo de coorte prospectivo em um hospital universitário com indivíduos internados com a doença. Realizada avaliação durante a hospitalização e entre 3 a 6 meses após a alta, usando questionários como o GSRS e o RDQ e submetidos à endoscopia digestiva alta, com biópsias da mucosa esofágica e analisadas para resistência elétrica transepitelial (RET), permeabilidade e expressão de citocinas inflamatórias e proteínas de junção celular. Com isso, a população foi composta por 55 indivíduos, ao comparar a evolução da intensidade e frequência dos sintomas gastroesofágicos nessa população foi observado aumento significativo durante e após a COVID no sintoma de azia e no sintoma de refluxo (Durante: $1,65 \pm 0,18$ vs. Depois: $2,63 \pm 0,29$, $p=0,003$), (Durante: $1,54 \pm 0,18$ vs. Depois: $2,63 \pm 0,28$, $p=0,0001$) respectivamente. O uso de medicamentos contínuos teve significância, sugerindo uma possível associação com azia moderada-intensa ($p=0,041$; teste Chi-quadrado, teste de Fisher. A RET de 9 indivíduos não-COVID e 23 pós-COVID apresentou redução significativa no curso do tempo em presença de solução de Krebs de pH 2 quando comparado aos tecidos expostos a solução de Krebs pH 7.4 [não-COVID (pH 7.4: $98 \pm 2,87$ vs. pH 2: $80 \pm 6,56 \Omega \cdot \text{cm}^2$); pós-COVID (pH 7.4: $100,7 \pm 0,93$ vs. pH 2: $86,3 \pm 4,54 \Omega \cdot \text{cm}^2$, * $p < 0.05$)]. Observou-se que o grupo pós-COVID exposto à solução de Krebs pH 2 apresentou aumento significativo da permeabilidade quando comparado aos grupos não-COVID no mesmo ambiente ácido (não-COVID pH 2: $717,80 \pm 168,29 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ vs. pós-COVID pH 2: $1377,57 \pm 316,37 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$) * $p < 0,05$. Evidenciou-se também um aumento nos níveis de IL-8 em biópsias do esôfago de indivíduos pós-COVID em comparação com indivíduos saudáveis não-COVID ($p=0,0369$) e o aumento da proteína de junção Claudina-2 (não-COVID: $0,241 \pm 0,082$ vs. pós-COVID: $0,588 \pm 0,116$, $p < 0,05$). Conclui-se que os indivíduos com maiores níveis de citocinas inflamatórias e maior comprometimento da barreira esofágica (aumento da

permeabilidade decorrente do aumento de claudina-2 nas junções apertadas) tendem a apresentar sintomas gastroesofágicos mais graves, sugerindo que a inflamação e a disfunção da barreira são fatores importantes na perpetuação dos sintomas pós-COVID.

Palavras-chave: COVID-19, Síndrome de COVID-19 pós-aguda, Mucosa esofágica, Interleucina-8, Claudina-2.

ABSTRACT

The COVID pandemic, caused by SARS-CoV-2, has revealed a series of symptoms beyond the protective system, including significant gastrointestinal manifestations. Evidence suggests that these symptoms may. In this context, the integrity of the esophageal barrier is essential to prevent esophageal symptoms such as heartburn and acid reflux. The aim of the study was to determine the prevalence of esophageal symptoms in post-acute COVID-19 syndrome (PACS) and their possible association with possible changes in the integrity of the esophageal epithelial barrier. This is a prospective cohort study in a university hospital with individuals hospitalized with the disease. Assessment was carried out during hospitalization and between 3 and 6 months after discharge, using questionnaires such as the GSRS and RDQ and submitted to upper digestive endoscopy, with biopsies of the esophageal mucosa and tests for transepithelial electrical resistance (RET), permeability and expression of cytokines and cellular proteins. Thus, a population was composed of 55 individuals, when comparing the evolution of the intensity and frequency of gastroesophageal symptoms in this population, a significant increase was observed during and after COVID, no symptoms of heartburn and no symptoms of reflux (During: 1.65 ± 0.18 vs. After: 2.63 ± 0.29 , $p = 0.003$), (During: 1.54 ± 0.18 vs. After: 2.63 ± 0.28 , $p = 0.0001$) respectively. The use of continuous medications was significant, indicating a possible association with moderate-severe heartburn ($p = 0.041$; Chi-square test, Fisher test). The RET of 9 non-COVID and 23 post-COVID individuals showed a significant reduction over time in the presence of Krebs solution at pH 2 when compared to tissues exposed to Krebs solution at pH 7.4 [non-COVID (pH 7.4: $98 \pm 2,87$ vs. pH 2: $80 \pm 6,56 \Omega \cdot \text{cm}^2$); post-COVID (pH 7.4: $100,7 \pm 0,93$ vs. pH 2: $86,3 \pm 4,54 \Omega \cdot \text{cm}^2$, $*p < 0.05$)]. It is noted that the post-covid group exposed to the Krebs solution pH 2 showed a significant increase in permeability when compared to the non-covid groups in the same acidic environment (non-COVID pH 2: $717,80 \pm 168,29 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ vs. post-COVID pH 2: $1377,57 \pm 316,37 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$) $*p < 0.05$. An increase in IL-8 levels was also evident in esophageal biopsies from post-COVID individuals compared to healthy non-COVID individuals ($p = 0.0369$) and an increase in the exception protein Claudin-2 (non-COVID: 0.241 ± 0.082 vs. post-COVID: 0.588 ± 0.116 , $p < 0.05$). It is concluded that individuals with higher levels of inflammatory cytokines and greater impairment of the esophageal barrier (increased permeability resulting from increased claudin-2 in tight junctions) tend to have more severe gastroesophageal symptoms, revealing that inflammation and barrier dysfunction are important factors in the perpetuation of post-COVID symptoms.

Keywords: COVID-19, Post-acute COVID-19 syndrome, Esophageal mucosa, Interleukin-8, Claudin-2.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

SPCA - Síndrome de COVID-19 Pós-Aguda

ECA2 - Enzima de Conversão de Angiotensina 2

EDA: Endoscopia Digestiva Alta

ERO - Espécies reativas de oxigênio

GSRS: Escala de Avaliação de Sintomas Gastrointestinais

HIFs - Fatores induzíveis por hipóxia

HUWC: Hospital Universitário Walter Cantídio

IFN- γ - Interferon- γ

IL-10- Interleucina 10

IL-1 β - Interleucina um Beta

IL-6- Interleucina 6

LABGASTRO- Laboratório de Pesquisa em Gastroenterologia

RDQ- Questionário de Doença do Refluxo

SCPA- Síndrome de COVID-19 pós aguda

SARS-CoV-2- Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

EPM - Erro padrão da média

TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TDCA – Ácido Taurodeoxicólico

RET - Resistência Elétrica Transepitelial

TGI -Trato gastrointestinal

TJ – Tight Junctions

UFC: Universidade Federal do Ceará

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classificação de COVID longo. Fonte adaptada: Raveendran, A. V *et al.* 2021.

Figura 2. Esquematização da entrada do vírus na célula hospedeira e ativação de mediadores inflamatórios e células de defesa. Adaptada. Fonte: Razaghi, A. et al 2022

Figura3. Análise de células pulmonares e gastrointestinais humanos saudáveis quanto a presença da ECA 2 e do vírus no TGI. Adaptada. Fonte: Zhang, H. *et al.*, 2020

Figura 4. cíclica de causa e efeito na Síndrome de COVID-19 pós-aguda. Fonte própria do autor.

Figura 5. Anatomia da junção gastroesofágica ilustrando os principais elementos da barreira antirrefluxo. Adaptada. Fonte: Joel E. Richter, Frank K. Friedenberg, 2012.

Figura 6. Representação das teorias de origem dos sinais e sintomas esofágicos. Fonte própria do autor.

Figura7. Componentes estruturais de junções da barreira esofágica. Fonte adaptada: [Home Page: AGA Journals](#)

Figura 8. Foto típica de minicâmaras de Ussing. Representação esquemática do estudo da RET em câmara de Üssing. Fonte: Foto adaptada de Humberto Barbosa.

Figura 9. Representação esquemática do estudo da permeabilidade à fluoresceína na câmara de Üssing. Fonte: Foto adaptada da dissertação de Humberto Barbosa.

Figura 10. Evolução da intensidade e frequência dos sintomas de azia e refluxo ácido durante e após a infecção pelo vírus SARS-CoV-2. Os dados foram obtidos a partir dos escores da escala de avaliação de sintomas gastrointestinais (GSRS), avaliando os sintomas de azia (A) e refluxo ácido (B). N=55. Teste T de Student * $p < 0.005$ vs. Durante.

Figura 11. Evolução da intensidade e frequência dos sintomas de azia e refluxo ácido durante e após a infecção pelo vírus SARS-CoV-2. Os dados foram obtidos a partir dos escores do questionário de diagnóstico do refluxo (RDQ), avaliando sintomas de azia (A) e refluxo ácido (B), N=55 indivíduos por grupo. Teste T de Student. * $p < 0,05$ vs. Durante.

Figura 12. Resistência elétrica transepitelial basal da mucosa esofágica de indivíduos pós-COVID. Registro da RET nos 30' iniciais, do tecido esofágico de indivíduos saudáveis não-

COVID (n=9) e indivíduos pós-COVID (n=21). Resultados expressos como média $\pm$ Erro padrão da média (EPM) e analisados pelo teste T de Student, * $p < 0,05$.

Figura 13. Resistência elétrica transepitelial do tecido esofágico de indivíduos saudáveis Não-COVID e indivíduos pós-COVID. A RET de indivíduos não-COVID e pós-COVID ao longo de 30 min (A) e em 30 min (B) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste two way ANOVA e teste T de Student quando apropriado, * $p < 0,05$ vs. pH 7,4 não-COVID, # $p < 0,05$ vs. pH 7,4 pós-COVID.

Figura 14. Resistência elétrica transepitelial em indivíduos com e sem COVID na presença ou ausência de sintoma de refluxo (RDQ). A RET do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID na sem sintoma e com sintoma de refluxo ao longo de 30 min (A) e em 30 min (B) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. Resultados expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste one way ANOVA e teste T de Student quando apropriado, * $p < 0,05$ vs. pH 7,4 de cada grupo.

Figura 15. Resistência elétrica transepitelial em indivíduos com e sem COVID na presença ou ausência de sintoma de azia (RDQ). Resistência elétrica transepitelial do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID na presença ou ausência de sintoma de azia ao longo de 30 min (A) e em 30 min (B) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. Resultados expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste one way ANOVA e teste T de Student quando apropriado, * $p < 0,05$ vs. pH 7,4 de cada grupo.

Figura 16. Permeabilidade do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID. Permeabilidade de indivíduos não-COVID e pós-COVID ao longo de 90 min (A) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste two way ANOVA, * $p < 0,05$ vs. pH 7,4 pós-COVID, # $p < 0,05$ vs. pH 2 Não-COVID.

Figura 17. Permeabilidade do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID, com e sem sintoma de azia (RDQ). Permeabilidade de indivíduos não-COVID e pós-COVID na presença ou ausência de sintoma de Azia ao longo de 90 min na presença de pH neutro 7,4 (A) e pH ácido 2,0 (B). O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste two way ANOVA.

Figura 18. Permeabilidade do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID, com e sem sintoma de refluxo. Permeabilidade de indivíduos não-COVID e pós-COVID na presença ou ausência de sintoma de refluxo ao longo de 90 min na presença de pH neutro 7,4 (A) e pH ácido 2,0 (B). O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste two way ANOVA, * $p < 0,05$ vs. pH 2 não-COVID, # $p < 0,05$ vs. pH 2 pós-COVID sem sintoma de refluxo.

Figura 19. Biomarcadores inflamatórios em biópsias da porção distal do esôfago de indivíduos após COVID. As citocinas inflamatórias IL-6 (A), IL-8 (B), IL-1 β (C) e TNF- α (D) de indivíduos não-COVID e pós-COVID foram analisadas pelo ensaio Multiplex. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste T de Student, * $p < 0,05$ vs. Não-COVID.

Figura 20. Expressão da proteína claudina-2 por Western Blot em biópsias de pacientes pós-COVID. Os resultados são expressos como média + S.E.M., $n=7$ e 16 por grupo e foram analisados usando o teste T de Student * $p < 0,05$ vs. Grupo controle.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos indivíduos hospitalizados por COVID.

Tabela 2. Prevalência de sintomas de refluxo ácido e azia segundo questionário Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS).

Tabela 3. Prevalência de sintomas de refluxo de acordo com o RDQ

Tabela 4: Comparação dos níveis de citocinas em indivíduos com COVID e não- COVID

LISTA DE SÍMBOLOS

%:porcentagem

®:Registrado

h:Hora(s)

H⁺:ácido

mg: miligrama

min: minuto(s)

mL: mililitro

mM: milimolar

ms: milissegundo

s: segundo

T₀: tempo inicial

Ωcm²: Ohm por centímetro quadrado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 “Síndrome de COVID-19 pós-aguda.....	15
1.2A invasão sistêmica do vírus e a tempestade de citocinas na COVID.....	177
1.3 Possíveis mecanismos fisiopatológicos envolvidos na síndrome de COVID-19 pós-aguda.....	200
1.4 Envolvimento do trato gastrointestinal na síndrome de COVID-19 pós-aguda	22
1.5 O esôfago, mecanismos de proteção e origem de sinais e sintomas esofágicos	25
1.6 Justificativa	29
1.7 Hipótese.....	30
2. OBJETIVOS	31
2.1 Geral.....	31
2.2 Objetivos Específicos.....	31
3. MATERIAIS E MÉTODO	32
3.1 Delineamento.....	32
3.2 Local e período.....	322
3.3 População do estudo.....	32
3.4 Coleta de dados e amostras.....	33
3.5 Análise estatística.....	39
3.6 Aspectos éticos e legais.....	400
4. RESULTADOS	41
5. DISCUSSÃO.....	51
6. CONCLUSÃO	59
7. REFERÊNCIAS	60
ANEXO I.....	88
ANEXO II.....	1009
ANEXO III.....	90
ANEXO IV	92
ANEXO V	100
APENDICE I.....	101
APENDICE II	103

1. INTRODUÇÃO

1.1 “Síndrome de COVID-19 pós-aguda

A Síndrome de COVID Pós-Aguda (SCPA) refere-se à persistência de sintomas ou ao surgimento de novas manifestações clínicas após a fase aguda da infecção pelo SARS-CoV-2. Esses sintomas podem comprometer múltiplos órgãos e sistemas, incluindo os sistemas respiratório, cardiovascular, neurológico, gastrointestinal e renal, impactando significativamente a qualidade de vida dos pacientes (VANDERHEIDEN; DIAMOND, 2025).

A prevalência da SCPA varia de acordo com a população estudada, os critérios diagnósticos adotados e o tempo de acompanhamento pós-infecção. Estudos indicam que entre 10% e 30% dos indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2 podem apresentar sintomas persistentes, independentemente da gravidade inicial da infecção (ZOLLNER et al., 2024). As manifestações clínicas da SCPA incluem fadiga crônica, dispneia, disfunções cognitivas e gastrointestinais, como a síndrome do intestino irritável pós-infecciosa e alterações na microbiota intestinal (Mattioli et al., 2024). Além disso, há evidências crescentes de que a SCPA pode estar associada a danos renais crônicos, agravando condições preexistentes ou levando a novos distúrbios metabólicos (Marzoog,B.A. 2024).

Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à SCPA ainda estão sendo investigados, mas há consenso de que processos inflamatórios persistentes, desregulação do sistema imunológico e lesões em tecidos durante a fase aguda da infecção desempenham um papel fundamental. Estudos indicam que a inflamação crônica, induzida pela infecção viral, pode contribuir para o desenvolvimento de sintomas prolongados e complicações em diversos órgãos, incluindo o sistema digestivo, onde foram observadas alterações na barreira intestinal e disbiose (Zollner et al., 2024).

A repercussão da SCPA no trato gastrointestinal é significativa, uma vez que o SARS-CoV-2 pode afetar diretamente o sistema digestivo, levando a sintomas persistentes como dor abdominal, diarreia, náuseas e refluxo gastroesofágico (Mattioli et al., 2024). A inflamação crônica da mucosa intestinal, a desregulação do eixo intestino-cérebro e a alteração na composição da microbiota podem desencadear condições como a síndrome do intestino irritável e dispepsia funcional (Marzoog,B.A. 2024). Estudos indicam que a infecção pode comprometer a barreira epitelial do intestino, favorecendo a translocação bacteriana e contribuindo para a perpetuação da inflamação sistêmica (Zollner et al., 2024). Além disso, a presença prolongada do vírus no trato gastrointestinal pode levar a alterações na motilidade

intestinal, resultando em constipação ou diarreia crônica, sintomas frequentemente relatados em pacientes com SCPA (Mattioli et al., 2024).

Evidências apontam que indivíduos com COVID-19 podem desenvolver alterações duradouras na absorção de nutrientes, levando a déficits nutricionais e complicações metabólicas a longo prazo (Zollner et al., 2024). A persistência da resposta inflamatória no epitélio intestinal pode comprometer a motilidade gastrointestinal, aumentando a predisposição a distúrbios funcionais do trato digestivo (Marzoog, B.A. 2024). Dessa forma, a avaliação clínica e o manejo adequado dos sintomas gastrointestinais na SCPA são fundamentais para melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

Além disso, há indícios de que a persistência viral em tecidos específicos e a ativação imune prolongada podem estar associadas a manifestações tardias da doença (Mattioli et al., 2024). Pacientes que apresentaram quadros moderados a graves de COVID-19 possuem maior risco de desenvolver a SCPA, mas indivíduos com infecções leves também podem apresentar sintomas persistentes, o que reforça a necessidade de um acompanhamento clínico adequado para todos os recuperados da infecção pelo SARS-CoV-2 (Zollner et al., 2024).

A compreensão da prevalência e dos mecanismos fisiopatológicos da SCPA é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e tratamento. A complexidade e a variabilidade dos sintomas tornam desafiadora a abordagem terapêutica, exigindo um esforço conjunto de pesquisas científicas para melhor caracterizar a condição e propor diretrizes clínicas eficazes para minimizar seu impacto na saúde pública e na qualidade de vida dos pacientes (Vanderheiden; Diamond, 2025).

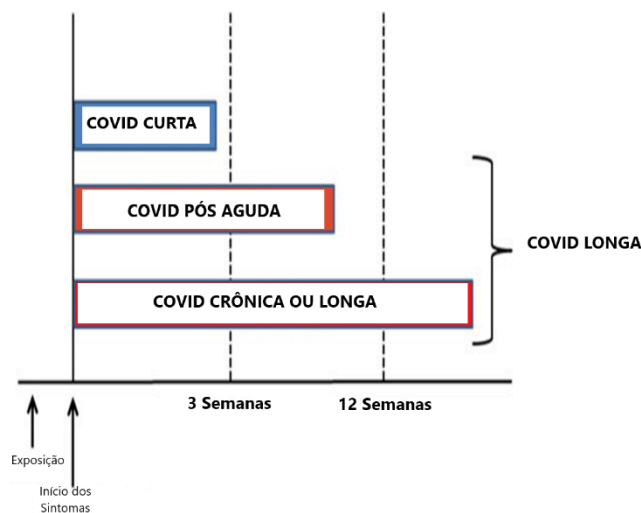


Figura1. Classificação da síndrome COVID-19 pós-aguda. Fonte adaptada: Raveendran, A. V. *et al.* 2021.

1.2 A invasão sistêmica do vírus e a Tempestade de Citocinas na COVID

A enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2) é o receptor do SARS-CoV-2 e outros coronavírus, se tornando crucial para a entrada celular do vírus, visto que é expressa nos pulmões e outros órgãos, explicando o seu alto poder de infectividade (Xu *et al.*, 2020; Mendiola-Salazar et al., 2024).

A alta eficácia de entrada nas células é alcançada de três maneiras: alta afinidade de ligação do domínio de ligação ao receptor da proteína spike, evasão do sistema imunológico do hospedeiro pela exposição reduzida ao receptor ao exterior e ativação da protease Furina do vírus antes da entrada nas células hospedeiras, reduzindo assim sua dependência de proteases de células-alvo, como a protease transmembrana, serina 2 (TMPRSS2).⁷⁰ Após a ligação viral, o receptor ACE2 e o vírus são endocitados, levando a uma redução nos níveis de ACE2 na superfície celular. (Hoffmann M. et al. 2020; Shang, J. et al. 2020).

A proteína spike presente na superfície externa do SARS-CoV-2 se liga ao receptor de ECA 2 (figura2) aumentando sua atividade e desencadeando liberação de citocinas, mediadores inflamatórios e células de defesa, comprometendo o sistema imunológico e influenciando a resposta imunológica sistêmica, exacerbando a progressão da COVID (Livanos, A. *et al.*, 2021; Chen, R. *et al.*, 2021; Razaghi, A. *et al.*, 2022; Mendiola-Salazar et al., 2024;).

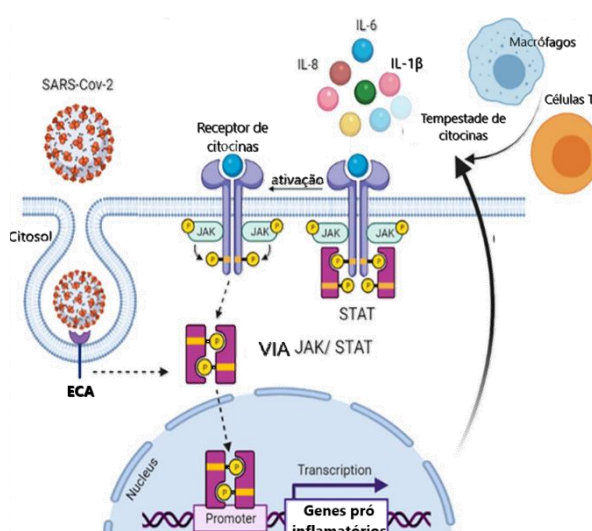


Figura 2. Esquemática da entrada do vírus na célula hospedeira e ativação de mediadores inflamatórios e células de defesa. Adaptada. Fonte: Razaghi, A. et al 2022

Esse receptor é altamente expresso em células gastrointestinais, sendo detectado em todo Trato gastrointestinal (TGI), no esôfago, estômago, duodeno e reto, justificando esses sintomas durante a fase aguda da infecção, incluindo o envolvimento do trato gastrointestinal (Zhang, H. *et al.*, 2020). Por sua vez, impondo desafios a comunidade científica e médica, podendo surgir independentemente ou em conjunto com os sintomas respiratórios clássicos (Xiao *et al.*, 2020; Dhar, A. *et al.*, 2020; Lin, L. *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020).

Uma análise de células de sistemas pulmonares e gastrointestinais humanos saudáveis identificou que a ECA 2 (figura 3) não é encontrada apenas no pulmão, mas nas células epiteliais do esôfago, enterócitos e intestino e que o vírus esteve presente nesses tecidos (Zhang, H. *et al.*, 2020).

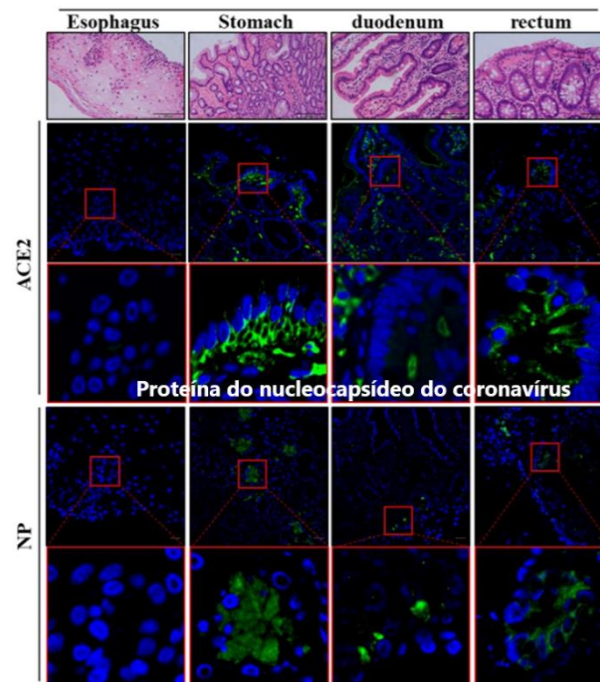


Figura 3. Uma análise de células de sistemas pulmonares e gastrointestinais humanos saudáveis identificou que a ECA 2. Adaptada. Fonte: Zhang, H. *et al.*, 2020

A inflamação sistêmica em casos moderados e graves de COVID bem como a elevação de citocinas pró-inflamatórias (proteínas produzidas pelo sistema imunológico em resposta a infecções) decorrentes da entrada do vírus nas diferentes células do organismo, são componentes centrais da resposta imunológica ao SARS-CoV-2 e desempenham um papel crucial na progressão e persistência de sintomas da Síndrome de COVID-19 pós-aguda (Crook *et al.*, 2021; Zhang; Garrett; Sun, 2021; Thomas *et al.*, 2024).

Durante a infecção, um desarranjo inflamatório inicia uma cascata de respostas que envolvem a liberação de citocinas (Wang, J. *et al.* 2021; Liu; Yili *et al.* 2021; Gheorghita *et al.*, 2024). Embora essa resposta seja fundamental para controlar a replicação viral, leva a uma inflamação descontrolada conhecida como "tempestade de citocinas". Esse processo resulta em danos teciduais agudos e pode continuar a perpetuar o processo inflamatório (Xu, Z. *et al.*, 2024).

Essa inflamação crônica gerada pela elevação de citocinas pode perdurar, mantendo um estado de ativação imune contínua que contribui para a persistência dos sintomas, gerando a Síndrome de COVID-19 pós-aguda (Page *et al.*, 2024). As citocinas liberadas não apenas afetam os tecidos infectados diretamente pelo vírus, mas também têm efeitos sistêmicos que resultam em disfunções em órgãos distantes, agravando a patogênese desta Síndrome (Ra *et al.*, 2024).

A alteração no equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, prejudica diretamente as defesas para evitar danos colaterais aos tecidos saudáveis (Li; Yao; Yang, 2024). Há uma predominância de citocinas pró-inflamatórias que prolonga a inflamação e contribui para a disfunção persistente em múltiplos órgãos (Patterson *et al.*, 2024). Podendo levar a manifestações clínicas deletérias ou mortalidade nos indivíduos críticos com COVID (Hu; Shaoying; Lianghong, 2021).

Algumas estão correlacionadas com piores prognósticos e alto risco de internação na UTI e óbito dos indivíduos. A elevação de IL-10 IL-8, IL-6 e IL-5 (variação de foram os que tiveram maior de admissão em UTI e mortalidade) em uma amostra de 242 indivíduos relacionando o aumento de IL-10 IL-8, IL-6 e IL-5 com a letalidade e piora clínica (Chen *et al.*, 2020; Liu *et al.* 2021; Wang, J. *et al.*, 2021). E com disfunção extrapulmonar de múltiplos órgãos em indivíduos com COVID contribuindo para a dificuldade de recuperação completa (WANG, J., *et al.*, 2021; Mehrotra-Varma *et al.*, 2024).

Sistemas como o cardiovascular, o nervoso central, muscular, renal, imunológico e microbiológico também podem ser afetados com a elevação desregulada de citocinas liberadas durante a infecção e apresentar sintomas no período após a infecção aguda perpetuando sintomas caracterizando a Síndrome (Xu *et al.*, 2020; Effenberger *et al.*, 2020; Livanos, A. *et al.*, 2021; Bhuvaneshwar; Madhavan; Gusev, 2024; Ghorra *et al.*, 2024; Shabil *et al.*, 2024; Page *et al.*, 2024; Patterson *et al.*, 2024; Ghorra *et al.*, 2024; Veerdonk; Leo, 2024; Iuliano *et al.*, 2024; Calcaterra *et al.*, 2024; Currie *et al.*, 2024; Cabau *et al.*, 2024).

1.3 Possíveis Mecanismos fisiopatológicos envolvidos na Síndrome de COVID-19 pós-aguda

A SCPA é uma condição complexa que envolve múltiplos mecanismos patológicos subjacentes e que se retroalimentam, sendo três deles cruciais para a sua compreensão: a hipóxia, o aumento da permeabilidade das barreiras epiteliais e endoteliais, e inflamação sistêmica prolongada (Thomas *et al.*, 2024).

Cada um desses mecanismos contribui de forma distinta para a persistência dos sintomas em indivíduos após a recuperação inicial da infecção aguda, interferindo diretamente em diversas funções fisiológicas e causando danos duradouros aos tecidos e órgãos (Kenny *et al.*, 2023).

A hipóxia, um dos mecanismos principais, ocorre quando há uma redução significativa nos níveis de oxigênio no sangue e nos tecidos e durante a fase aguda da COVID, especialmente em casos graves com envolvimento pulmonar, os indivíduos frequentemente experimentam uma diminuição da oxigenação sanguínea devido à inflamação e ao edema nos pulmões, que comprometem a troca gasosa (Iosef *et al.*, 2023). Alguns continuam a apresentar baixos níveis de oxigênio por semanas ou meses, o que pode resultar em danos prolongados aos tecidos e essas persistências da hipóxia é um indicativo de que os danos pulmonares ou a disfunção microvascular permanecem por tempo ainda indeterminado (Wynberg *et al.*, 2024).

A hipóxia crônica tem implicações severas no funcionamento celular, uma vez que o metabolismo dos tecidos depende da oxigenação adequada para manter a homeostase e essa redução no fornecimento de oxigênio pode resultar na ativação de vias compensatórias, como a necrose celular e a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que por sua vez ativam o fator induzível por hipoxia e codifica citocinas pró- inflamatórias contribuindo para o dano tecidual (Thomas *et al.*, 2024).

Além da hipóxia, o aumento da permeabilidade das barreiras epiteliais e endoteliais desempenha um papel crucial na patogênese da SCPA pois o vírus, infectando o epitélio respiratório e outros tecidos, induz uma resposta imunológica desregulada e intensa, causando uma tempestade de citocinas que pode comprometer a integridade das barreiras celulares que separam os compartimentos internos do ambiente externo, aumentando sua permeabilidade permitindo a continuidade da inflamação e a entrada de mais microrganismos (Chen *et al.*, 2023; Molnar *et al.*, 2024).

A inflamação sistêmica prolongada também tem consequências diretas sobre o sistema endotelial, que quando exposto a níveis elevados de citocinas, pode sofrer disfunção,

levando à formação de microtrombos e à redução da perfusão dos tecidos contribuindo para a persistência de sintomas e aumento do risco de comorbidades em indivíduos que já estão predispostos a essas condições, frequentemente relatados por indivíduos com SCPA (Crook *et al.*, 2021). A ativação crônica e excessiva desse sistema que pode levar a uma produção contínua de citocinas, mesmo na ausência de infecção ativa, enquanto a resposta imune deficiente pode predispor os indivíduos a infecções secundárias ou à reativação de outros vírus latentes que podem exacerbar os sintomas da SCPA (Iosef *et al.*, 2023). A liberação de uma cascata de citocinas, como as interleucinas e fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) durante a fase aguda pode culminar em danos teciduais importantes (Thomas *et al.*, 2024).

Visto que, a hipoxia pode comprometer a integridade das barreiras das mucosas, aumentando a permeabilidade, facilitando a entrada de agentes inflamatórios e os danos teciduais (Eltzschig, 2011). Essa interação entre hipóxia, permeabilidade aumentada e inflamação sistêmica cria uma cíclica de causa e efeito na SCPA (figura 4), com a hipóxia crônica promovendo mais inflamação, ao passo que a exacerbação da inflamação contribui para o aumento da permeabilidade das barreiras epiteliais e endoteliais, resultando na entrada de mais patógenos e citocinas nos tecidos agravando os danos (Kenny *et al.*, 2023).

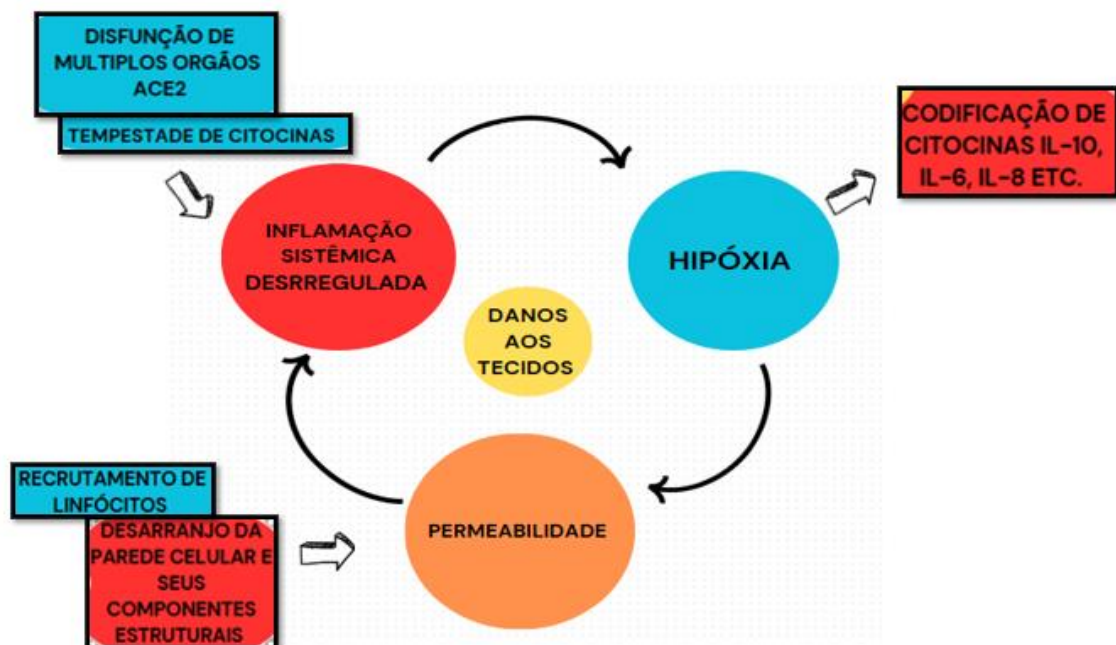


Figura 4. cíclica de causa e efeito na Síndrome de COVID-19 pós-aguda. Fonte própria do autor.

Esse duradouro e intenso ciclo inflamatório dificulta a recuperação completa dos indivíduos e contribui para a variabilidade dos sintomas, que podem se manifestar de forma diferente em cada indivíduo, dependendo de sua predisposição genética e estado de saúde prévio (Kenny *et al.*, 2023).

1.4 Envolvimento do Trato Gastrointestinal na Síndrome de COVID-19 pós-aguda

Uma coorte mostrou que os pacientes que tiveram COVID-19 apresentaram um risco maior de desenvolver distúrbios gastrointestinais, e esse risco aumentou proporcionalmente à gravidade da infecção, persistindo mesmo após um ano de acompanhamento, (Ma, Y. *et al.*, 2023). Isso pode-se relacionar as consequências da resposta inflamatória severa e contribuir para a sintomatologia da SCPA, bem como alterações na permeabilidade das barreiras das mucosas epiteliais no trato gastrointestinal (Zhou *et al.*, 2020).

No intestino é documentado um aumento dessa permeabilidade, decorrente da resposta inflamatória desregulada, condição conhecida como "intestino permeável" e esse processo permite a translocação de toxinas e microrganismos do lúmen intestinal para a corrente sanguínea, aumentando a resposta imunológica e os níveis de inflamação sistêmica (Wynberg *et al.*, 2024). Essa inflamação sistêmica severa e a hipóxia tissular causadas pela infecção viral grave também podem comprometer a integridade da barreira gastrointestinal (Zhang; Garrett; Sun, 2021).

A microbiota intestinal também parece desempenhar um papel importante no desenvolvimento de sintomas gastrointestinais na SCPA. Há evidências crescentes de que o SARS-CoV-2 pode alterar a composição da microbiota intestinal, levando a um desequilíbrio entre as bactérias benéficas e patogênicas (Chancharoenthana *et al.*, 2023). Esse desequilíbrio, conhecido como disbiose, pode agravar condições como a síndrome do intestino irritável (SII) e a doença inflamatória intestinal, além de contribuir para sintomatologia e desconforto geral (Fernández *et al.*, 2023).

A disfunção da barreira intestinal em indivíduos com SCPA está associada à persistência dos sintomas como diarreia, dor abdominal, má digestão e o aumento da permeabilidade que pode agravar condições inflamatórias pré-existentes e predispor os indivíduos a novas complicações infecciosas e metabólicas (Wynberg *et al.*, 2024). Esse aumento também permite a entrada de agentes inflamatórios, exacerbando a resposta inflamatória e os danos teciduais como ocorre em outros sistemas (Furuta *et al.*, 2001; Wölfel, E. M. *et al.*, 2020; Effenberger *et al.*, 2020; Livanos, A. *et al.* 2021).

A literatura também traz que o envolvimento do trato gastrointestinal durante a COVID-19 pode ser devido a lesão viral direta e/ou uma resposta imune inflamatória e pode levar à má absorção, um desequilíbrio nas secreções intestinais e ativação do sistema nervoso entérico (Zhang H, Kang Z, Gong H et al. 2020) resultando em uma disfunção desse sistema e em alterações na motilidade gastrointestinal, contribuindo ainda mais para os sintomas (Gawey et al., 2023; Sherif; Zaki et al., 2023).

Entretanto, quanto a barreira epitelial esofágica, as citocinas liberadas no processo inflamatório do tecido podem alterar a integridade da mucosa a qual é controlada por proteínas de junção (Souza *et al.*, 2009; Xiao *et al.*, 2020; Zang *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020), que em um processo inflamatório podem ser desorganizadas, contribuindo no aumento da permeabilidade (Asaoka *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2009; Jovov *et al.*, 2011; Mönkemüller *et al.*, 2012). E em casos moderados e graves da COVID, Codo *et al.* (2021) relatou que níveis elevados de citocinas estavam correlacionados com sintomas esofágicos nesses indivíduos e essa resposta inflamatória por sua vez pode promover a hipoxia tecidual local e exacerbar esses sintomas (Charpiat *et al.*, 2020; Pantazi *et al.*, 2021; Ong, J. S. *et al.*, 2022).

Histologicamente há uma infiltração ocasional de linfócitos no esôfago e degradação epitelial parcial, necrose e descamação da mucosa no estômago, além disso, há dilatação e congestão de pequenos vasos sanguíneos e edema da lâmina própria e submucosa do estômago e intestino delgado com infiltração de células imunes (linfócitos, monócitos e células plasmáticas) observadas tanto no estômago quanto nos intestinos (Xiao F, Tang M, Zheng X et al.;2020; Tian S, Xiong Y, Liu H et al.; 2020; Yao X, Li T, He Z et al.;2020; Deshmukh V, Motwani R, Kumar A et al.;2021; Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J et al.;2020).

Na SCPA, frequentemente são relatados sintomas de queimação retroesternal, dor torácica, regurgitação ácida e, em alguns casos, disfagia, e essas sensações são geralmente causadas pelo refluxo do conteúdo gástrico ácido para o esôfago, que normalmente é protegido pela barreira epitelial (Xiong et al., 2020; Lee, M. et al., 2024). No comprometimento desta barreira, possivelmente devido à inflamação contínua que afeta a integridade da mucosa esofágica ou a pressão no esfíncter esofágico inferior (que normalmente impede o refluxo), pode estar reduzida, permitindo que o ácido estomacal suba com mais facilidade, agravando os sintomas gastroesofágicos (Wechsler et al., 2024).

Contudo fatores extrínsecos, relacionados a esses sintomas esofágicos, durante o período pandêmico podem ter contribuído para a persistência destes na SCPA, o uso prolongado de alguns medicamentos durante a fase aguda da doença poderia predispor os indivíduos a

danos gastrointestinais a longo prazo (Mwangi; Siegelman, 2024). Drogas que são conhecidas por aumentar o risco de úlceras no trato gastrointestinal e por reduzir a eficácia das barreiras protetoras naturais do estômago e do esôfago podendo causar em tratamento prolongado, lesões esofágicas e gástricas persistentes, usadas de forma indiscriminada e sem orientação médica E exacerbando os sintomas (Zhang et al., 2024).

Foi visto que os corticosteroides afetam a depuração viral, Ling et al. 2020, encontraram um atraso significativo na depuração viral das fezes em comparação com swabs orofaríngeos (20 vs. 11 dias) em pacientes que receberam corticosteroides.

Além disso, fatores relacionados ao estilo de vida, como alterações na dieta e na atividade física durante o período de recuperação, sedentarismo e a obesidade durante a pandemia pode agravar os sintomas de azia e refluxo, uma vez que o exercício regular é importante para a regulação da motilidade gastrointestinal (Meringer; W. M., 2023). Da mesma forma, mudanças nos hábitos alimentares, incluindo o consumo de alimentos ricos em gordura e carboidratos, podem aumentar a pressão no estômago, facilitando o refluxo ácido (Lee, Y. R. et al., 2024).

A literatura endossa essa relação, mostrando que os sintomas esofágicos, como azia e refluxo ácido, podem permanecer por tempo indeterminado após a infecção aumentados na frequência e intensidade e podem ser relacionados as mudanças de vida e hábitos alimentares, estresse, questões relacionadas ao sono e o aumento no uso de medicações ao longo da pandemia tanto em pessoas com alto risco quanto baixo risco de desenvolver sintomas (Al-Momani; Hafez et al., 2023; Zaidan et al., 2023; Fauzi et al., 2024). Revelando uma associação significativa entre a infecção e um aumento no risco a longo prazo de desenvolver distúrbios do sistema digestivo (Ma, Y. et al., 2023; Ma, Y. et al., 2023).

Até então, entende-se que a patogênese dos sintomas esofágicos na COVID é multifatorial (He et al., 2023). A gênese pode ser a inflamação sistêmica desregulada e direta do epitélio esofágico pelo vírus que pode contribuir com uma cascata de disfunções e nos sintomas subsequentes (Gu et al., 2020; Cheung et al., 2020; Meringer; Wang; Mehndru, 2023).

Essa inflamação crônica na SCPA desempenhar um papel no desenvolvimento de outras condições inflamatórias persistentes que podem ser exacerbadas pelo aumento da atividade inflamatória sistêmica (Mattioli et al., 2024). A presença contínua de citocinas inflamatórias e a ativação do sistema imune podem alterar também a motilidade gastrointestinal, prejudicando o processo digestivo o que pode impactar significativamente a qualidade de vida dos indivíduos (Tsai et al., 2024). A exposição prolongada a citocinas pode

provocar agravamento de patologias já existentes, levando a uma maior permeabilidade dos tecidos e um agravamento dos sintomas (Wilson, *et al.*, 2017; He et al., 2023).

1.5 O Esôfago, mecanismos de proteção e origem de sinais e sintomas esofágicos.

O esôfago é um órgão dividido em três porções: cervical, torácica e abdominal, formado por multicamadas que se organizam para conferir transporte e proteção contra danos mecânicos e químicos e coordenado, na porção muscular esquelética inicial, pelo sistema nervoso somático e em seu corpo e porção distal coordenado pelo sistema nervoso autônomo, atuando sobre fibras musculares lisas (Orlando et al., 1992; Orlando et al., 2006; Schumann et al., 2012; Zhang *et al.*, 2018; Gyawal *et al.*, 2020; Krieger et al., 2016).

A própria anatomia proporciona uma barreira mecânica contra a agressão do refluxo ácido para a mucosa esofágica: o esfíncter esofágico inferior, o diafragma crural, o ligamento freno esofágico e o ângulo de HIS (figura 5) trabalham em sincronia como barreiras protetoras antirrefluxo, evitando exposição constante da mucosa ao conteúdo gástrico, mantendo a integridade do epitélio e na disfunção dessas barreiras e alterações na motilidade podem desencadear uma agressão a mucosa esofágica e consequentemente a sintomatologia. (Tobey, et al., 2001; Thangarajah et al., 2002; Orlando, 2008; Souza et al., 2009; Herregods; B. S. 2015; Usai, S. O. P. 2017).

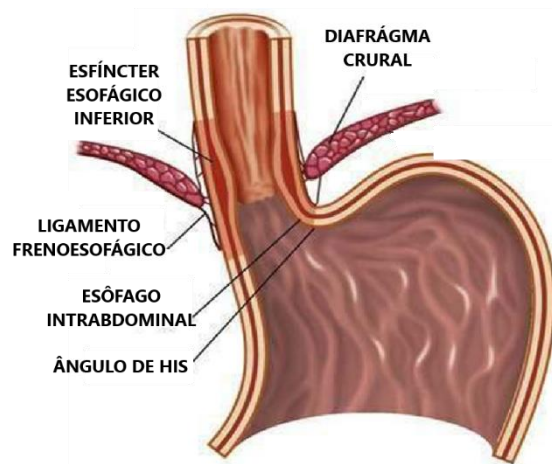


Figura 5. Anatomia da junção gastroesofágica ilustrando os principais elementos da barreira antirrefluxo.

Adaptada. Fonte: Richter, J. Frank K. Friedenberg (2012).

Histologicamente, o epitélio esofágico também possui barreiras de proteção. A resistência do epitélio escamoso estratificado contra danos mecânicos decorrentes da passagem do alimento, a camada de muco que é produzida pelas glândulas que neutraliza os agentes agressores e tem propriedades antimicrobianas, a camada basal que atua na regeneração do epitélio, as junções intercelulares (junções estreitas, junções aderentes e desmossomos) com componentes estruturais que impedem a entrada de ácido e as próprias células de defesa que atuam na proteção e regeneração do epitélio (Takahashi *et al.*, 2012; Woodland; Sifrim, 2014; Hesterberg *et al.*, 2015; Kim, J. J. *et al.*, 2018; Iseyeva; Bykov, 2019; Gyawali *et al.*, 2020; Pan, Y. Y. *et al.*, 2022;).

A integridade dessas barreiras esofágicas e o seu funcionamento é essencial para prevenir o refluxo de conteúdos gástricos como ácido clorídrico (HCl), ácidos biliares, pepsina e microrganismos e proteger a mucosa esofágica de danos e consequentemente contra a dor relacionada a agressão da mucosa por substâncias gástricas e duodenais, que diminuem a qualidade de vida e causando a inflamação persistente que pode levar a graves complicações como o câncer de esôfago (Orlando *et al.*, 1996; Orlando *et al.*, 2006; Schumann *et al.*, 2012; Krieger *et al.*, 2016).

A principal característica da falha dessas barreiras é o refluxo intenso dessas substâncias agressoras a esse tecido, que, na maioria das vezes, provoca sinais e sintomas inespecíficos como laringite, tosse crônica, rouquidão, asma, erosões dentárias, e mais específicos, como a azia, regurgitação ácida, sensação de globo, disfagia, dor no peito que podem ocorrer tanto na presença quanto na ausência de erosão na mucosa (Chen; Brady, 2019; Gyawali *et al.*, 2020; Woodland; Sifrim, 2014). Além disso, diversos fatores de risco têm sido associados: a obesidade, condições socioeconômicas desfavorecidas, consumo de tabaco, ingestão excessiva de álcool, distúrbios do tecido conjuntivo, gravidez e a supinação pós-prandial e diferentes classes de fármacos (Eusebi *et al.*, 2018).

As teorias que justificam a origem dos sintomas de dor e os sinais de inflamação esofágica, quando ocorre a disfunção das barreiras de proteção, funcionam em conjunto. A literatura descreve duas vias, inicialmente a única via que era compreendida era a lesão ácido-péptica, iniciando na superfície luminal, onde o ácido refluxado e a pepsina danificavam as proteínas dos complexos juncionais estreitos e aderentes entre as células escamosas do esôfago, permitindo a penetração de íons hidrogênio que ativam canais iônicos e receptores sensíveis ao ácido liberando moduladores de dor, vasodilatação e inflamação (substância P e calcitonina)

no epitélio e resultando na morte das células superficiais, uma resposta proliferativa adaptativa (figura 6) (Shweikeh et al., 2024).

Posteriormente a teoria das citocinas pró-inflamatórias veio complementar e elucidar o mecanismo, onde mostra que a hiperplasia basal celular vem antes do dano celular superficial. O processo inflamatório se inicia pela infiltração de linfócitos T na submucosa, estendendo-se à lâmina própria e à camada epitelial antes do surgimento de granulócitos. O conteúdo refluxado ativa a geração de espécies reativas de oxigênio que por sua vez ativam fatores induzíveis por hipóxia, codificando no núcleo células, citocinas pró-inflamatórias (como IL-8, IL-1B, IL-6) atraindo linfócitos T para o local da inflamação, causando uma hiperplasia basal e consequentemente o rearranjo das proteínas de junção, permitindo uma maior exposição dos receptores e fibras nervosas a agentes ácidos e tripsina, causando dor e inflamação (figura 6) (Tobey et al., 2008; Souza; R. F., 2009; Kandulski;Arne, 2010; Yu et al., 2016; Ustaoglu et al., 2020; Patel; Fass; Vaezi, 2021; Meringer; Wang; Mehandru, 2023).

Dentre as citocinas já estudadas na sintomatologia esofágica, observou-se a IL-8 é expressa em grandes quantidades na mucosa, sendo liberada apenas em condições inflamatórias (Fitzgerald et al., 2002; Isomoto, H. et al., 2004).

Esta sinalização de inflamação aguda por meio da IL-8 pode ser amplificada por células e tecidos por ser uma citocina quimioatraente e ativadora de leucócitos, o que tem relação direta com a gravidade dos sintomas e posteriormente em uma patologia (Fitzgerald et al., 2002; Isomoto, H. et al., 2004; Yoshida, N. et al., 2004; Zavala-Solares et al., 2021; Ustaoglu et al., 2022).

Sendo assim, o conteúdo refluxado pode ativar diretamente os receptores sensíveis ao ácido nos nervos aferentes da mucosa esofágica e nas células epiteliais, ou indiretamente, por meio do microambiente ácido criado pela inflamação induzida por citocinas (Figura 6) (Chancharoenthana et al., 2023).

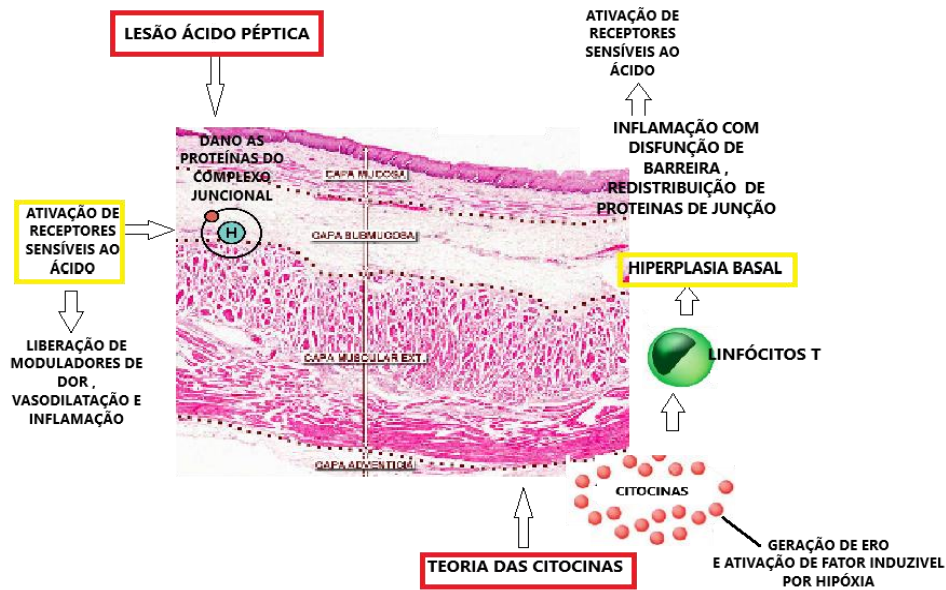


Figura 6. Representação das teorias de origem dos sinais e sintomas esofágicos. Fonte própria do autor.

Além disso, cabe ressaltar que a adesão entre as células desse epitélio escamoso estratificado, que é o alvo principal de agressão, é mediada por complexos de junção, incluindo componentes estruturais como proteínas de adesão celular (claudinas e ocludinas), que formam junções apertadas e desmossomos (figura7) (Kim, J. J. *et al.*, 2018; Pan, Y. Y. *et al.*, 2022).

Essas junções estreitas criam uma barreira seletiva que impede a passagem de substâncias nocivas e microrganismos, regula a polaridade celular e participa na sinalização celular, essenciais para processos de reparo e regeneração, garantindo a estabilidade e a funcionalidade do revestimento esofágico, preservando a integridade do esôfago através de uma rede complexa de mecanismos celulares e moleculares que protegem contra danos e promovem a homeostasia (Ustaoglu *et al.*, 2020). O comprometimento dessa barreira ocorre através de indução de uma resposta inflamatória intensa, que pode ser causado ou exacerbada pela a infecção pelo SARS-CoV-2 (Wang, Y. *et al.*, 2020).

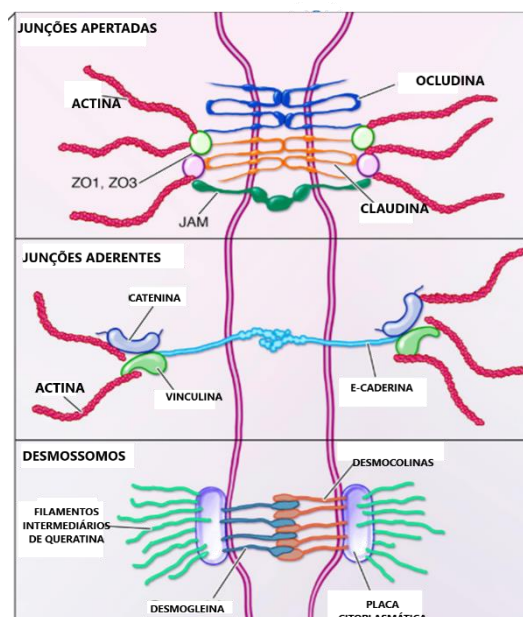


Figura7. Componentes estruturais de junções intercelulares da barreira epitelial esofágica. Fonte adaptada: [Home Page: AGA Journals](#)

A teoria das citocinas ocorre no tecido esofágico de forma similar ao que acontece com os epitélios que são invadidos pelo vírus da COVID. De forma resumida, o vírus atua causando uma resposta inflamatória intensa onde a hipóxia crônica resultante desencadeia uma tempestade de citocinas que recrutam células de defesa e permite a entrada de substâncias pró-inflamatórias nos tecidos, alterando barreira epitelial e seus componentes estruturais, aumentando permeabilidade e perpetuando a resposta inflamatória, cronificando sintomas. (Eltzschig, 2011; Chen *et al.*, 2023; Kenny *et al.*, 2023; Phen *et al.*, 2024; Wynberg *et al.*, 2024; Molnar *et al.*, 2024; Thomas *et al.*, 2024).

A compreensão dos mecanismos pelos quais o SARS-CoV-2 compromete este órgão e a integridade da sua barreira epitelial é crucial, porém ainda limitada, requerendo uma investigação detalhada e sistemática (Zhou *et al.*, 2020).

1.6 Justificativa

A relação entre sintomas esofágicos e COVID-19 ainda não está totalmente elucidada na literatura, dificultando o diagnóstico e o manejo clínico desses casos. A investigação desses mecanismos pode contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e diretrizes mais eficazes, beneficiando tanto a prática clínica quanto a saúde pública.

Este estudo busca ampliar a compreensão sobre o impacto da COVID-19 na função esofágica e na integridade da mucosa, auxiliando na formulação de estratégias de prevenção e tratamento, especialmente diante de novas variantes virais. Seus resultados poderão favorecer o diagnóstico precoce, a estratificação de riscos e a personalização das intervenções, melhorando os desfechos clínicos e a qualidade de vida dos indivíduos afetados.

1.7 Hipótese

Alterações na barreira epitelial do esôfago justifica a persistência de sintomas esofágicos na síndrome de COVID-19 pós-aguda.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Determinar a frequência de sintomas esofágicos na fase aguda e pós-aguda da COVID-19, buscando identificar sua associação com alterações da barreira epitelial esofágica.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a frequência de sintomas esofágicos na fase aguda e pós-aguda da doença;
- Caracterizar a integridade funcional, resistência e permeabilidade da barreira esofágica.;
- Quantificar as citocinas pró-inflamatórias presentes no tecido esofágico;
- Investigar a expressão de proteínas de junção de parede esofágica, especialmente as claudinas.
- Determinar a associação entre as alterações da barreira epitelial e a persistência de sintomas esofágicos.

3. MATERIAIS E MÉTODO

3.1 Delineamento

Trata-se de um estudo prospectivo de coorte envolvendo indivíduos internados por COVID-19 em uma unidade hospitalar terciária. Os indivíduos foram entrevistados e acompanhados por profissionais de saúde qualificados.

3.2 Local e período

O estudo foi conduzido em um hospital público terciário, o Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), afiliado à Universidade Federal do Ceará, Brasil. Com indivíduos internados durante a pandemia de COVID em 2021, em 82 leitos rotativos destinados ao tratamento de COVID, no período entre maio e julho de 2021. Durante o período de 3 a 6 meses após a alta desses indivíduos, realizaram exame no centro de exames do referido hospital e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de estudos da Fisiofarmacologia Gastrointestinal- LEFFAG.

3.3 População do estudo

Inicialmente, uma população de indivíduos internados por manifestações graves da COVID-19 foi selecionada, com diagnóstico confirmado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) no referido hospital.

Posteriormente, foi realizado o exame endoscópico na população de estudo e recrutada a população controle e esses foram selecionados por meio de anúncios na sala de espera de endoscopia do hospital e digitalmente em plataformas eletrônicas. Os indivíduos recrutados para compor esse grupo não podiam pontuar nos questionários para sintomas esofágicos ou ter histórico de COVID-19.

Uma média de 738 pacientes com COVID-19 foi internada entre maio e julho de 2021, com uma estimativa do tamanho da amostra de 135 pacientes. No entanto, devido a perdas relacionadas a óbitos e piora do quadro clínico, a amostra final da primeira fase foi composta por 109 pacientes. Entre 3 a 6 meses após a alta hospitalar, uma nova amostra de 66 pacientes foi estimada a partir da população inicial de 109. Alguns participantes se recusaram a realizar

exames adicionais. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado com intervalo de confiança de 80% com margem de erro de 5% para ambas as fases.

3.3.1 Critérios de Inclusão

Indivíduos diagnosticados com COVID-19, confirmada por teste laboratorial (RT-PCR ou teste de antígeno), que foram internados devido à infecção e complicações relacionadas e em todos os níveis de gravidade da doença.

3.3.2 Critérios de Exclusão

Indivíduos com doenças crônicas e/ou outras doenças infecciosas crônicas que poderiam afetar o funcionamento do trato digestivo como doenças autoimunes, doenças inflamatórias intestinais e gestantes ou indivíduos com alterações cognitivas que dificultassem a colaboração com o estudo.

3.4 Coleta de dados e Amostras

Os indivíduos foram entrevistados no leito durante a internação com formulário sociodemográfico e clínico e questionários específicos para sintomas esofágicos bem como análise de características clínicas retiradas dos prontuários.

Um formulário foi elaborado com características sociodemográficas e clínicas e baseado no conjunto mínimo de medidas de resultados para estudos do surto emergente de COVID-19 (APENDICE II) e de acordo com o WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 Infection (2020), os critérios de inclusão para estudos clínicos envolvendo COVID-19. A escala fornece uma medida da gravidade da doença em um intervalo de 0 (não infectado) a 10 (ANEXO I)

Os sintomas esofágicos foram avaliados em frequências e intensidade utilizando questionários padronizados e validados, O Questionário de Doença do Refluxo (RDQ) (ANEXO II), e um instrumento abrangente para avaliação de sintomas gastrointestinais, a Escala de Avaliação de Sintomas Gastrointestinais (GSRS) (ANEXO III) com cada resposta recebendo uma pontuação pré-estabelecida conforme o questionário.

Entre 3 e 6 meses após a recuperação da COVID os indivíduos foram contactados novamente para a reavaliação dos sintomas com os mesmos questionários e foram convidados

a realizar o exame endoscópico digestivo alto para retirada de biópsias esofágicas e as amostras de biópsia foram analisadas ou congeladas em -80°C no Laboratório de Estudo da Fisiofarmacologia Gastrointestinal da UFC (LEFFAG). Todos os instrumentos de coleta foram administrados por profissionais de saúde, permitindo a avaliação quantitativa dos sintomas.

3.4.1 Questionário de Doença do Refluxo (RDQ)

Utilizado para avaliação da frequência e a intensidade de sintomas gastrointestinais superiores, selecionadas somente as subescalas nomeadas de azia (sensação de queimação no meio do peito e dor nomeio do peito) e Refluxo ácido (gosto de ácido na boca e movimento de liquido ou alimento do estômago em direção a boca) foram usadas e combinadas para formar uma dimensão de DRGE e considerando presença dos sintomas os indivíduos que pontuaram de moderado a intenso ≥ 4 (Shaw, M. *et al.*; 2001).(ANEXO II)

3.4.2 Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)

Avalia a frequência e intensidade dos sintomas relacionados ao trato gastro intestinal de forma geral (Souza *et al.*, 2016; Kulich *et al.*, 2008). Foi utilizado para esse estudo apenas a sessão referente aos sintomas esofágicos, os sintomas abordados nessa categoria são: azia, refluxo ácido, a pontuação utilizada no estudo para corte de cada questão foi a partir de 4 pontos que é referente a desconforto moderado/poucas vezes a desconforto muito forte/muitíssimas vezes. (ANEXO III)

3.4.3 Avaliação da Resistência Elétrica Transepitelial (RET)

As biópsias foram avaliadas com o uso de uma lupa estereoscópica para identificar as superfícies luminal e serosa. Posteriormente, as amostras foram montadas em câmaras de Üssing (Mussler Scientific Instruments, Aachen, Alemanha) (Figura 8), adaptadas para a análise da mucosa, com área de exposição de 0,017 cm². com o intuito de avaliar a resistência elétrica transepitelial (RET).

Após a montagem, solução Krebs-Henseleit (pH 7,4; contendo NaCl 118 mM; KCl 4,7 mM; CaCl₂ 1,2 mM; MgSO₄ 1,2 mM; NaH₂PO₄ 1,2 mM; NaHCO₃ 25 mM e glicose 11 mM) foi adicionada em ambos os lados da câmara luminal e serosa, continuamente aerada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂) e mantida a 37°C. O sistema foi equilibrado

até que uma resistência elétrica transepitelial (RET) basal estável fosse estabelecida (~30 min). Biópsias que não cobriram completamente a área do orifício da câmara ou que apresentaram RET basal $<50 \Omega/\text{cm}^2$ foram excluídas da análise. (Woodland *et al.*, 2013). Foi analisado também o efeito da solução ácida de pH 2 em adição de pepsina, sal biliar TDCA (ácido taurodeoxicólico) Krebs com pH 2 + pepsina (1mg/ml) + TDCA (5 mM) (Woodland *et al.*, 2013; Bingana, 2020). Foram avaliados os dados nos tempos 30', 60' e 90' min.

A calibração da resistência elétrica do meio e do circuito foi realizada inicialmente e monitorada continuamente por eletrodos de Ag/AgCl. Em seguida, o tecido foi montado na câmara de Ussing conforme descrito anteriormente. A RET basal foi calculada de acordo com a lei de Ohm, a partir das deflexões de voltagem induzidas por pulsos bipolares de corrente de 50 μA , com duração de 200 ms, a cada 6 s, aplicados através de fios de platina.

As variações na RET foram expressas como percentagem (%) da resistência basal (corrigida pela área de exposição: Ω/cm^2) (Woodland *et al.*, 2013).

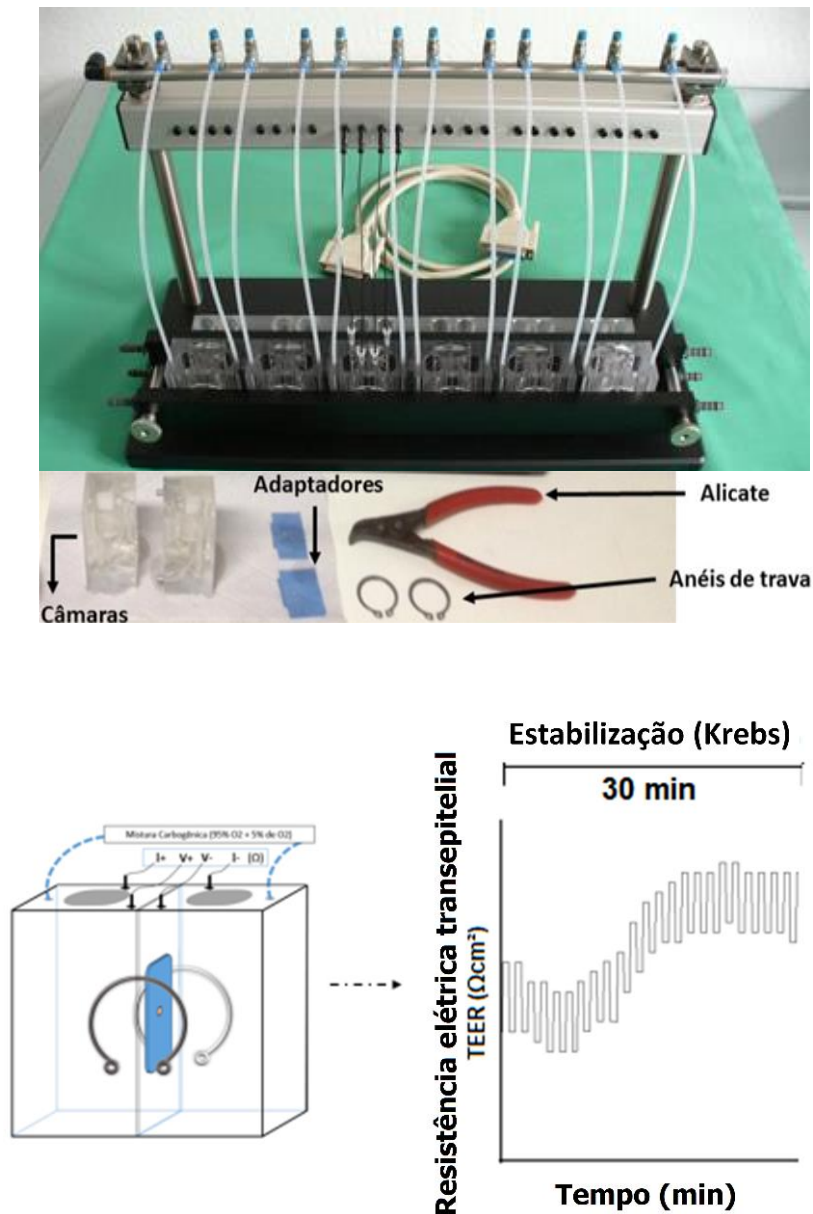


Figura 8. Foto típica de minicâmaras de Ussing. Representação esquemática do estudo da RET em câmara de Üssing. Fonte: Foto adaptada de Humberto Barbosa.

3.4.4 Avaliação da permeabilidade à fluoresceína

A avaliação da permeabilidade foi realizada após o registro da TEER basal ter sido concluído. Para esta abordagem, os tecidos esofágicos foram mantidos nas câmaras de Ussing, onde a solução no lado luminal foi trocada por uma solução de KREBS, pH 7,4 contendo fluoresceína (375 kDa; 1 mg/ml), um marcador permeável que atravessa a via paracelular (Figura 9).

Uma amostra de 100 μl foi coletada do lado seroso no tempo 0 (T0, basal; após a adição de fluoresceína) e em intervalos de 30 minutos ao longo de 90 minutos (T30, T60 e T90). O marcador fluorescente foi analisado utilizando um leitor de fluorescência (FLUOstarOmega; BMG Labtech, Ortenberg, Alemanha), com um comprimento de onda de excitação de 485nm e emissão de 538nm. Os valores de fluoresceína foram quantificados em micromols por centímetro quadrado ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$), calculados a partir de uma curva padrão preparada para cada análise (Farré *et al.*, 2007).

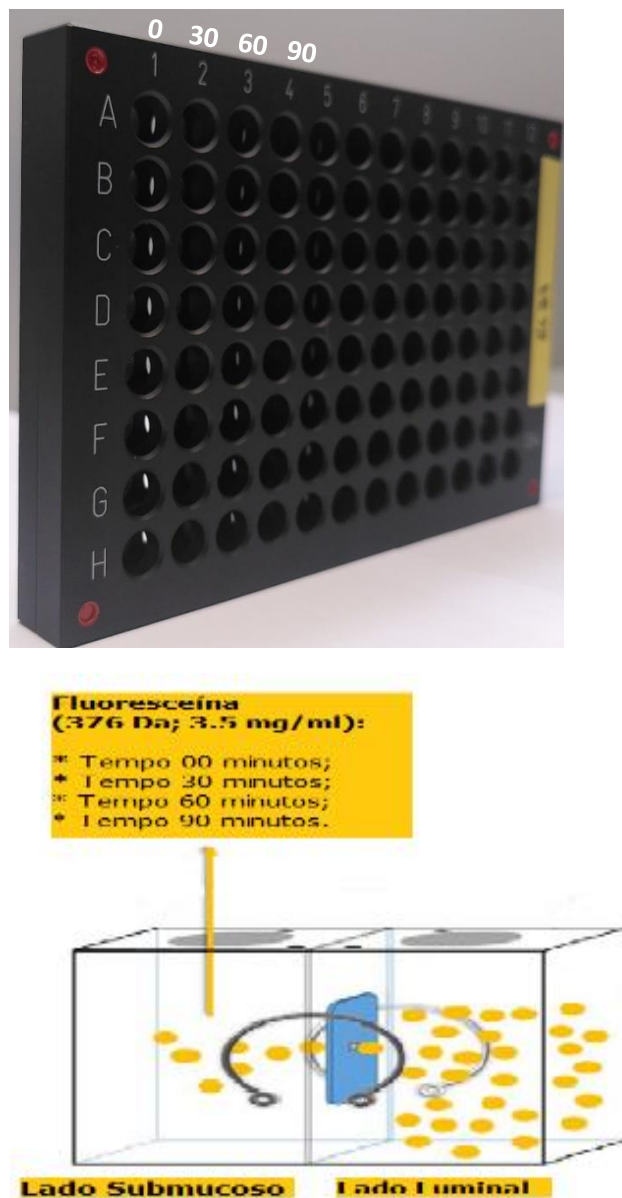


Figura 9. Representação esquemática do estudo da permeabilidade à fluoresceína na câmara de Ussing. Fonte: Foto adaptada da dissertação de Humberto Barbosa.

3.4.5 Dosagens de citocinas

O teste multiplex de citocinas foi conduzido utilizando *Kit MILLIPLEX® Cytokine/Chemokine 4-plex* (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA) para amostras de esôfago de indivíduos que tiveram COVID e sintomas esofágicos e os indivíduos controle não COVID, foram usados os anticorpos de IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF α .

Resumidamente, as amostras de tecido esofágico de humanos foram diluídas 1:2 em tampão de ensaio e após foi adicionado 25 μ L de padrões, controles de qualidade e amostras à placa em duplicata, este procedimento foi seguido pela adição de 25 μ L das esferas magnéticas. A placa foi selada, coberta com papel alumínio e incubado durante a noite em um agitador de placas a 4°C. A placa foi lavada três vezes e 25 μ L de anticorpo de detecção sendo adicionado a cada poço. Após incubar a placa em temperatura ambiente por 1 h, 25 μ L de estreptavidina-ficoeritrina foi adicionado por poço.

A placa foi selada, coberta e incubada por mais 30 min em temperatura ambiente. A placa passou por uma série final de lavagens antes da adição de 150 μ L de fluido de acionamento. As concentrações de marcadores foram medidas no instrumento *Luminex® MAGPIX®* com *softwarexPONENT®* (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA) (figura 10). Os valores de controle de qualidade para cada marcador estavam consistentemente dentro do intervalo indicado pelo fabricante (Richens, J. L. et al. 2010).

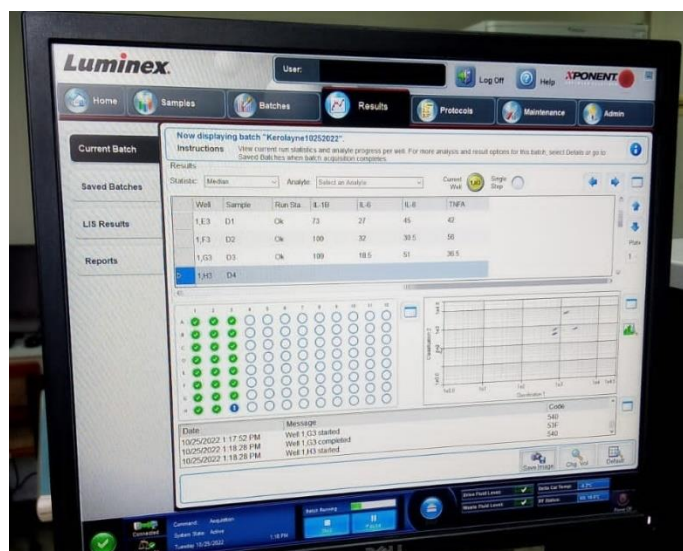


Figura 10. Figura típica do registro O ensaio multiplex MILLIPLEX®, as concentrações dos marcadores foram medidas no instrumento Luminex® MAGPIX® utilizando o software xPONENT® (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA). Fonte: foto arquivo pessoal

3.4.6 Análises de Western Blot

Para a identificação da proteína de junção Claudina-2, foi utilizado o método de Western Blot conforme descrito por Fido *et al.*, 1995. Os tecidos coletados dos indivíduos serão homogeneizados em tampão de extração (1% Triton X-100, 100 mM Tris (pH 7.4), 100 mM pirofosfato de sódio, 100 mM fluoreto de sódio, 10 mM EDTA, 10 mM vanadato de sódio, 2 mM fluoreto de fenilmetanossulfonila e 0.1 mg/ml aprotinina). O homogeneizado será centrifugado em microcentrífuga refrigerada a 4°C (Bioanalytical) a 12.000 rpm por 40 minutos, e o sobrenadante obtido será dividido em duas partes. Uma parte será utilizada para determinar a concentração de proteínas por meio do método de Bradford, enquanto a outra parte aliquoteada e misturada com tampão de Laemmli (Laemmli, 1970) contendo DTT 200 mM na proporção de 1:5 (400 µl do sobrenadante em 100 µl do tampão de Laemmli com DTT). Este material foi fervido a 100°C por 5 minutos e submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida para a separação de proteínas (SDS-PAGE).

A eletroforese por sua vez, será realizada em cuba de minigel da Bio-Rad, utilizando solução tampão previamente diluída. As proteínas separadas foram transferidas para membranas de nitrocelulose e incubadas em solução bloqueadora (albumina 5%) por duas horas a temperatura ambiente para reduzir a ligação inespecífica dos anticorpos. Em seguida, as membranas lavadas em solução basal e incubadas com anticorpos específicos para as proteínas Cystathionase (CTH ab151769) e HIF-2 α (ab199; ab157249) a 4°C sob agitação contínua por uma noite.

Após incubação, as membranas foram expostas à solução de quimioluminescência SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate da Pierce e então expostas a filmes radiográficos RX (Eastman Kodak, Rochester, NY) com o uso de intensificadores (Cronex Lightning Plus intensifying screens – DuPont, Washington, DE). As membranas foram submetidas à leitura por densitometria óptica utilizando o software *Scion*, e os resultados foram expressos em mg de proteína e como porcentagem do grupo controle para os grupos experimentais.

3.5 Análise estatística

O cálculo amostral foi baseado em um poder de 80%, com um nível de significância de 5% e uma estimativa de efeito mínimo relevante de 20% de diferença entre os grupos (infectados versus controles) (Chow, Shein-Chung, et al. 2017).

As variáveis categóricas foram analisadas pelo qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher, de acordo com as suas características; os experimentos realizados em Câmara de Üssing foram analisados utilizando teste t de Student não pareado e two-way ANOVA teste; os resultados referentes às análises de Western Blot e Multiplex foram analisados usando teste t de Student não pareado. Para as variáveis numéricas, a normalidade foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, e, quando os dados não apresentaram distribuição normal, foram utilizados testes não paramétricos apropriados. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism 7.0® (San Diego, CA, EUA). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para valores de $p < 0,05$.

3.6 Aspectos éticos e legais

Este estudo foi realizado em conformidade com os princípios éticos da Declaração de Helsinki e recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (UFC) (Parecer 5.342.989).(ANEXO IV), Todos os participantes foram plenamente informados sobre a natureza e os objetivos do estudo, Os indivíduos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APENDICE I), concordando em participar da pesquisa, conforme a resolução 466/12, o TCLE também prevê o ressarcimento dos gastos com transporte e alimentação decorrentes da pesquisa para o paciente e seu acompanhante, se necessário.

4. RESULTADOS

No presente estudo, foram recrutados 109 participantes, que inicialmente foram abordados nas enfermarias destinadas a COVID. Durante o seguimento, 55 desses participantes completaram o estudo clínico ao responder os mesmos questionários aplicados na fase inicial. Desses, 23 aceitaram realizar a avaliação endoscópica para coleta de biópsias. O seguimento foi realizado por telefone, e algumas amostras foram descartadas por não atenderem ao tamanho necessário para análise na câmara do experimento. Foram também recrutados 9 pacientes saudáveis, que não pontuaram para sintomas esofágicos e não tiveram a doença até a coleta dos exames.

A amostra de (55) indivíduos que responderam os questionários do durante e após a infecção, era em sua maioria, do sexo masculino (61,8%) com idade média de 46,6 anos. Mais de 70% dos indivíduos já tinham comorbidades diagnosticadas anteriormente. O sintoma respiratório inicial mais relatado foi a dispneia (60,0%), e dos sintomas relacionados ao TGI, a diarreia (34,5%) e náuseas ou vômitos (27,3%). A prevalência de internação superior a 8 dias foi de 69,1%. Quanto ao tratamento durante a internação por COVID, 41 indivíduos fizeram uso de oxigenoterapia (74,5%), 49 usaram antibioticoterapia (89,3%), 47 usaram corticosteróides (85,45%) e 32 usaram anticoagulantes (58,2%) (Tabela 1).

Com base nos critérios da escala de progressão clínica da OMS, os 55 participantes pontuaram ≥ 4 , sendo estes doentes moderados a grave.

Tabela 1. Variantes demográficas e clínicas do grupo de pacientes estudados.

Variáveis	Total (%) n=55
Sexo	
Homem	34 (61,82)
Mulher	21 (38,18)
Idade	46,6
Comorbidades prévias	39 (70,91)
Náuseas e vômitos	15 (27,27)
Diarreia	19 (34,54)
Dispneia	33 (60,00)
Oxigenoterapia	41 (74,54)
Corticosteroides	47 (85,45)
Antibióticos	49 (89,27)
Anticoagulante	32 (58,18)
Hospitalização > 8 dias	38 (69,10)

4.1 Prevalência e frequência de sintomas de sintomas esofágicos em indivíduos pós-COVID

Usando o questionário GSRS, observou-se um aumento de azia e refluxo ácido após a COVID. O sintoma de azia apresentou uma média de $(1,65 \pm 0,18)$ durante a infecção e $(2,63 \pm 0,29)$ após a recuperação ($p=0,003$, teste t de Student). Da mesma forma, o sintoma de refluxo ácido mostrou um aumento de $(1,54 \pm 0,18)$ durante para $(2,63 \pm 0,28)$ após a COVID ($p=0,0001$, teste t de Student). Quando os dados foram analisados usando a mediana e intervalo interquartil (IIQ), os resultados também foram consistentes, com diferenças estatisticamente significativas entre os períodos, como indicado pelo teste não paramétrico de Wilcoxon ($p<0,005$). A figura 10 ilustra esses resultados. (figura 10).

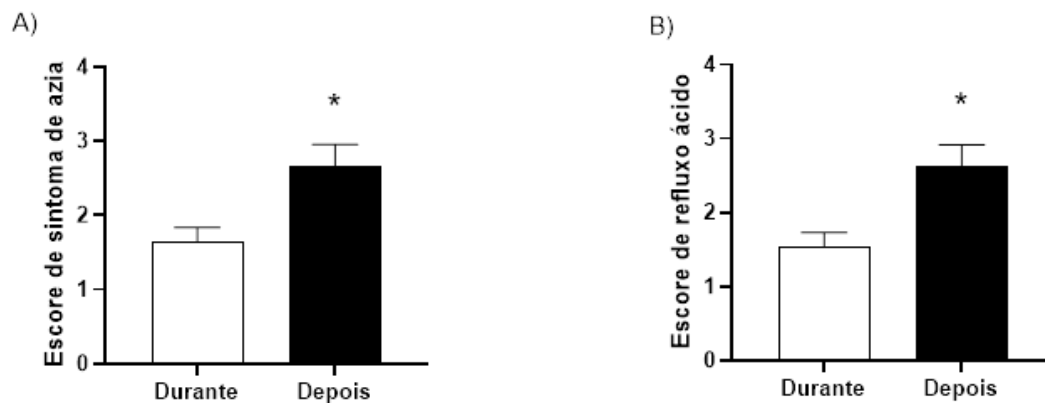


Figura 10. Evolução da intensidade e frequência dos sintomas de azia e refluxo ácido durante e após a fase aguda da COVID-19. Os dados foram obtidos a partir dos escores da escala de avaliação de sintomas gastrointestinais (GSRS), avaliando os sintomas de azia (A) e refluxo ácido (B). N=55. Teste T de Student * $p<0,005$ vs. Durante.

Tabela 2. Prevalência de sintomas de refluxo ácido e azia segundo questionário GSRS.

GSRS	Durante n=55 (%)	Após n=55 (%)	Valor de p
Azia	sim 5 (9,09)	18 (32,73)	0,002
Refluxo ácido	sim 6 (10,91)	17 (30,91)	0,009

Foram consideradas sintomáticas as respostas com pontuação de intensidade e frequência maior ou igual a 4. $P<0,05$, (Teste qui-quadrado e exato de Fisher).

Além disso, houve um aumento significativo na prevalência desses sintomas 3-6 meses após a alta hospitalar, 5 indivíduos (9%) tiveram azia e 6 indivíduos (10,9%) tiveram refluxo durante a fase aguda da doença. Na fase pós-aguda, 18 indivíduos (32,7%) relataram

azia e 17 (30,9%) relataram refluxo, com aumento significativo ($p=0,002$) e ($p=0,009$) respectivamente (Tabela 2). Teste qui-quadrado e exato de Fisher.

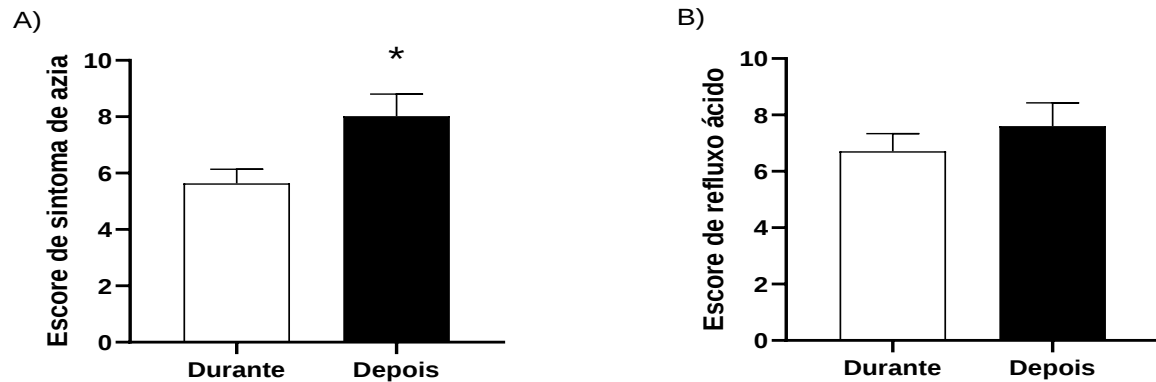


Figura 11. Evolução da intensidade e frequência dos sintomas de azia e refluxo ácido durante e após a infecção pelo vírus SARS-CoV-2. Os dados foram obtidos a partir dos escores do questionário de diagnóstico do refluxo (RDQ), avaliando sintomas de azia (A) e refluxo ácido (B), N=55 indivíduos por grupo. Teste T de Student. * $p<0,05$ vs. Durante.

Quando analisado os mesmos sintomas relacionados a intensidade e frequência por meio do RDQ, observou-se aumento significativo dos sintomas de azia após a COVID (Durante: $5,63 \pm 0,50$ vs. Depois: $8,01 \pm 0,78$, $*p=0,002$), entretanto, o sintoma de refluxo ácido não apresentou diferença estatística (Durante: $6,70 \pm 0,62$ vs. Depois: $7,60 \pm 0,83$, $p=0,162$), Student's T-test. $*p<0,05$ vs. durante (Figura 13).

Tabela 3. Prevalência de sintomas de refluxo de acordo com o RDQ.

RDQ	Durante n=55 (%)	Após n=55 (%)	Valor de p
Azia	sim 10 (18,18)	18 (32,73)	0,062
Refluxo ácido	sim 8 (14,55)	14 (25,45)	0,116

Foram consideradas sintomáticas as respostas com soma de intensidade e frequência maior ou igual a 4. $P<0,05$, teste Chi-quadrado (teste exato de Fisher).

Quando comparado o sintoma de azia do RDQ nos pós infecção com as variáveis clínicas do formulário (ANEXO II) dos 55 indivíduos, somente o uso de medicamentos contínuos foi significante na presença do sintoma de azia moderada-intensa, (87.5 %) dos

indivíduos que relataram o sintoma faziam uso de terapias farmacológicas contínuas, apresentando um p-valor de 0,041, teste Chi-quadrado (teste exato de Fisher).

4.2 Resistência Elétrica Transepitelial esofágica pós-COVID

Na avaliação da RET (figura 12) não houve alterações significativas na linha de base em biópsias de esôfago humano entre grupos de indivíduos controles não-COVID ($145,06 \pm 19,84 \Omega \cdot \text{cm}^2$) indivíduos pós-COVID ($162,55 \pm 11,38 \Omega \cdot \text{cm}^2$).

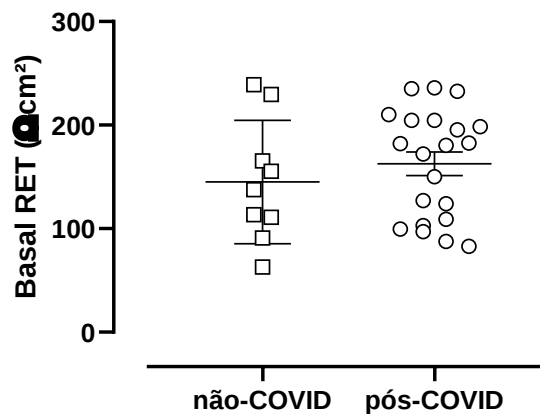


Figura 12. Resistência elétrica transepitelial basal da mucosa esofágica de indivíduos pós-COVID. Registro da RET nos 30' iniciais, do tecido esofágico de indivíduos saudáveis não-COVID (n=9) e indivíduos pós-COVID (n=21). Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste T de Student, *p<0,05.

A RET de indivíduos não-COVID e pós-COVID apresentou redução significativa no curso do tempo em presença de solução de Krebs de pH 2 quando comparado aos tecidos expostos a solução de Krebs pH 7.4 (figura 13 A e B) em biópsias de esôfago não-COVID (pH 7.4: $98 \pm 2,87$ vs. pH 2: $80 \pm 6,56 \Omega \cdot \text{cm}^2$); pós-covid (pH 7.4: $100,7 \pm 0,93$ vs. pH 2: $86,3 \pm 4,54 \Omega \cdot \text{cm}^2$). No entanto, a queda em presença de solução de Krebs de pH 2 não apresentou diferença entre os grupos não-COVID e pós-COVID.

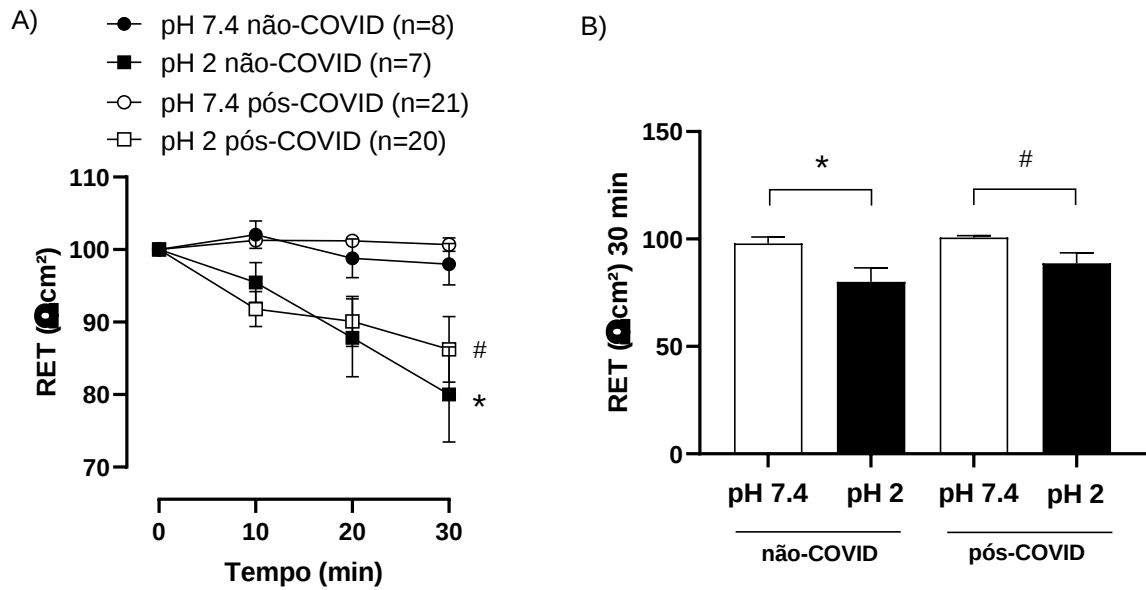


Figura 13. Resistência elétrica transepitelial do tecido esofágico de indivíduos saudáveis Não-COVID e indivíduos pós-COVID. A RET de indivíduos não-COVID e pós-COVID ao longo de 30 min (A) e em 30 min (B) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste two way ANOVA e teste T de Student quando apropriado, * $p < 0,05$ vs. pH 7,4 não-COVID, # $p < 0,05$ vs. pH 7,4 pós-COVID.

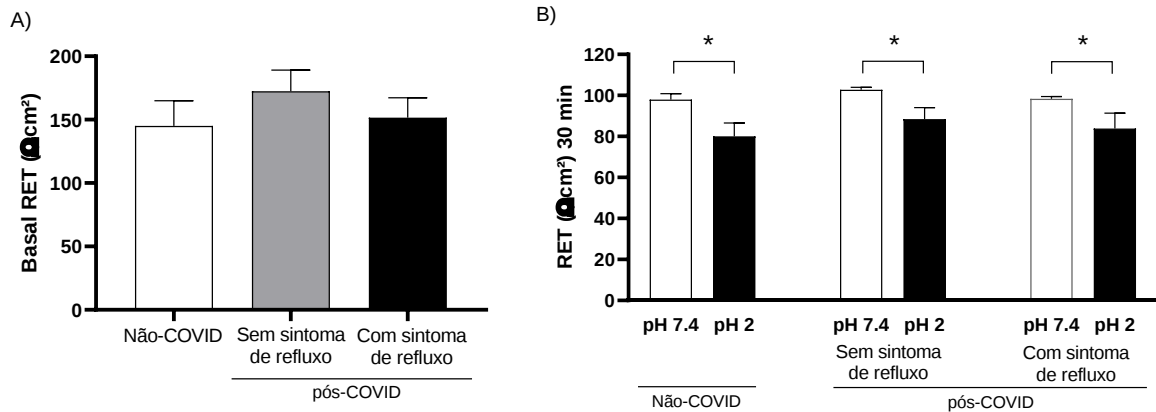


Figura 14. Resistência elétrica transepitelial em indivíduos com e sem COVID na presença ou ausência de sintoma de refluxo (RDQ). A RET do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID na sem sintoma e com sintoma de refluxo ao longo de 30 min (A) e em 30 min (B) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste one way ANOVA e teste T de Student quando apropriado, * $p < 0,05$ vs. pH 7,4 de cada grupo.

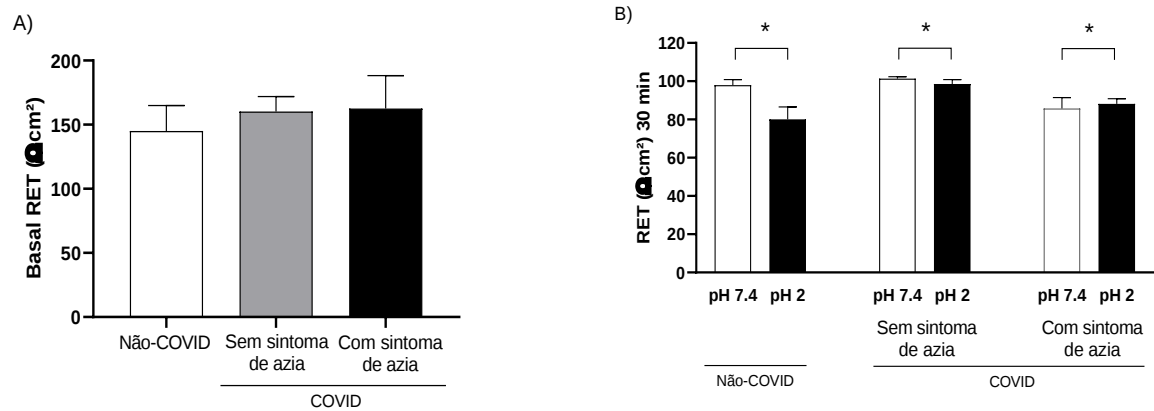


Figura 15. Resistência elétrica transepitelial em indivíduos com e sem COVID na presença ou ausência de sintoma de azia (RDQ). Resistência elétrica transepitelial do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID na presença ou ausência de sintoma de azia ao longo de 30 min (A) e em 30 min (B) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste one way ANOVA e teste T de Student quando apropriado, *p<0,05 vs. pH 7,4 de cada grupo (Figura 17 B).

4.3 Avaliação da Permeabilidade esofágica no pós-COVID a fluoresceína

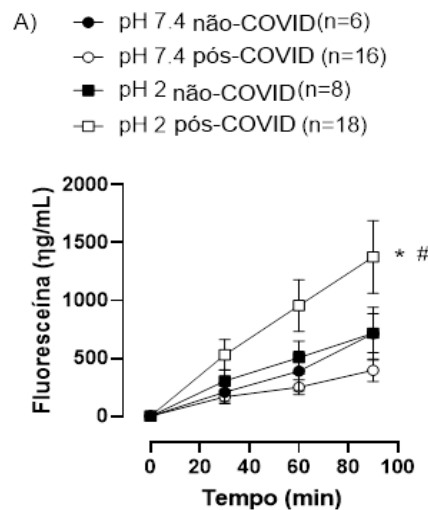


Figura 16. Permeabilidade do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID. Permeabilidade de indivíduos não-COVID e pós-COVID ao longo de 90 min (A) na presença de pH neutro 7,4 e pH ácido 2,0. O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste two way ANOVA, *p<0,05 vs. pH 7,4 pós-COVID, #p<0,05 vs. pH 2 Não-COVID.

A permeabilidade transepitelial mostra que as biópsias esofágicas de todos os grupos analisados apresentaram aumento na passagem de fluoresceína em função do tempo. Além disso, observou-se que o grupo pós- COVID exposto à solução de Krebs pH 2 apresentou aumento significativo da permeabilidade à fluoresceína quando comparado ao grupo de indivíduos pós- COVID expostos à solução de Krebs pH 7.4 (pH 7.4: $398,01 \pm 96,78$ vs. pH 2: $1377,57 \pm 316,37$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$, * $p < 0,05$ vs. pH 7.4 pós-COVID. O presente estudo observou ainda que biópsias de esôfago do grupo pós- COVID expostas à solução de Krebs pH 2 apresentou também um aumento significativo da permeabilidade à fluoresceína quando comparado a de indivíduos não-COVID expostos à solução de Krebs pH 2 [não-COVID (pH 2: $717,80 \pm 168,29$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$) vs. pós-COVID (pH 2: $1377,57 \pm 316,37$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$) # $p < 0,05$ vs. pH 2 não-COVID] (Figura 16).

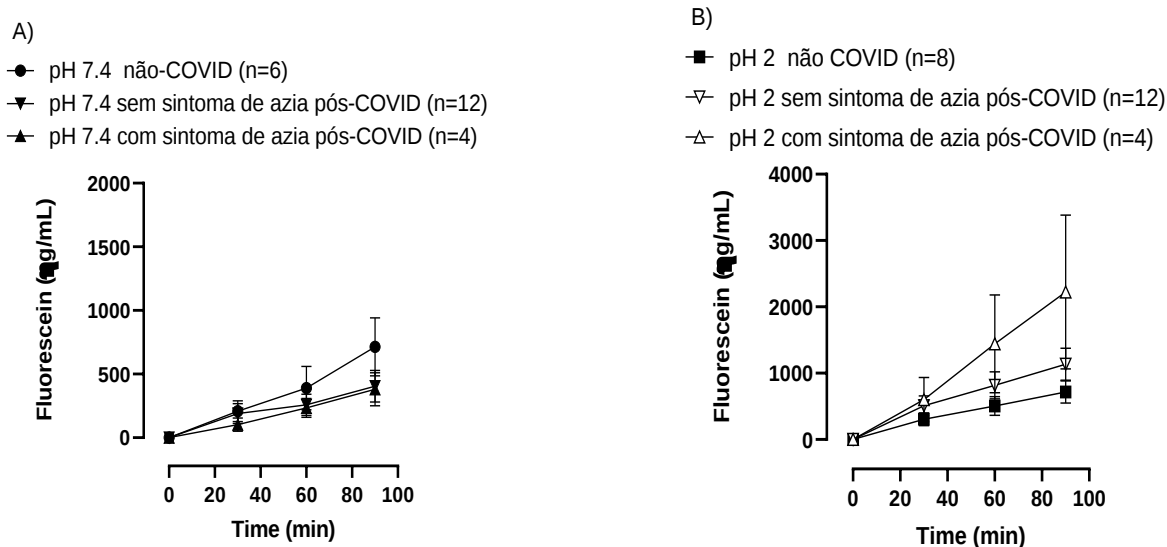


Figura 17. Permeabilidade do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID, com e sem sintoma de azia (RDQ). Permeabilidade de indivíduos não-COVID e pós-COVID na presença ou ausência de sintoma de Azia ao longo de 90 min na presença de pH neutro 7,4 (A) e pH ácido 2,0 (B). O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste two way ANOVA.

Nos gráficos A e B (Figura 17), observa-se que a permeabilidade, medida pela fluoresceína, aumenta ao longo do tempo para ambos os grupos, com uma elevação mais pronunciada em condições de pH ácido (2,0) no B, especialmente nos indivíduos pós-COVID com sintoma de azia, porém, sem significância estatística.

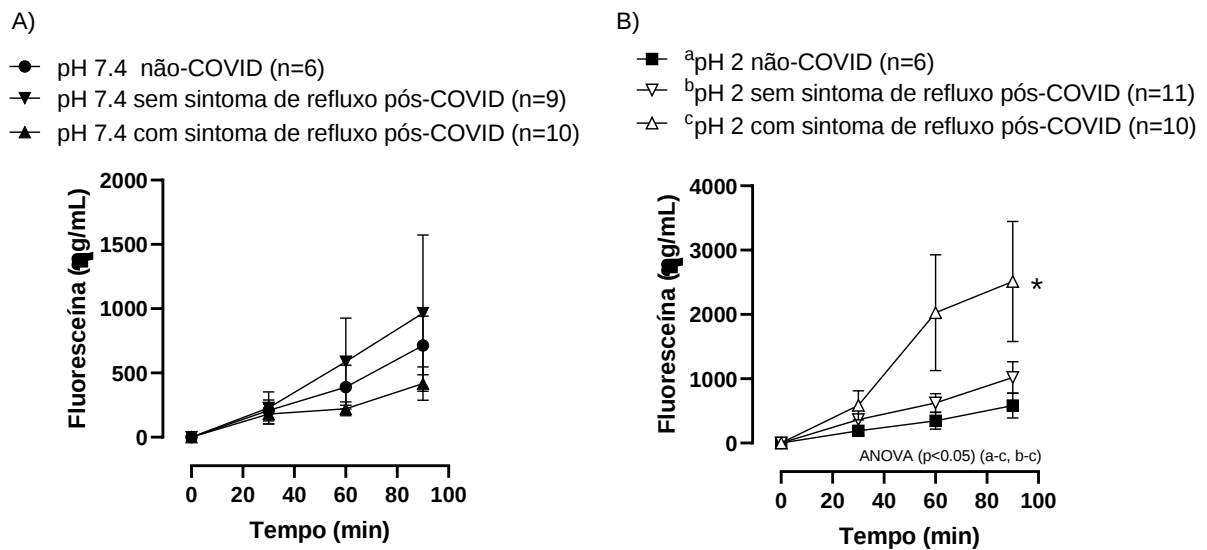


Figura 18. Permeabilidade do tecido esofágico de indivíduos saudáveis (não-COVID) e indivíduos pós-COVID, com e sem sintoma de refluxo. Permeabilidade de indivíduos não-COVID e pós-COVID na presença ou ausência de sintoma de refluxo ao longo de 90 min na presença de pH neutro 7,4 (A) e pH ácido 2,0 (B). O número de biópsias esofágicas analisadas está entre parênteses. Resultados expressos como média $\pm$ SEM e analisados pelo teste two way ANOVA, * $p<0,05$ vs. pH 2 não-COVID, # $p<0,05$ vs. pH 2 pós-COVID sem sintoma de refluxo.

Observa-se que, sob pH ácido (2,0), a fluorescência aumenta significativamente ao longo do tempo, especialmente em indivíduos pós-COVID com sintoma de refluxo ácido, indicando maior permeabilidade comparada aos indivíduos pós-COVID sem sintoma de refluxo ácido e quando comparado a indivíduos não-COVID em mesmo ambiente ácido pH (2,0). Os testes ANOVAM mostram diferenças estatisticamente significativas. (Figura 18 B).

4.4 Marcadores imunológicos após COVID

Evidenciou-se um aumento nos níveis de IL-8 (Figura 19 B) em biópsias do esôfago de indivíduos pós-COVID em comparação com controles não-COVID ($17,88 \pm 2,85$ vs. $8,33 \pm 0,78$ vs, $p<0,05$). Não houve diferença significativa nos níveis das demais citocinas analisadas.

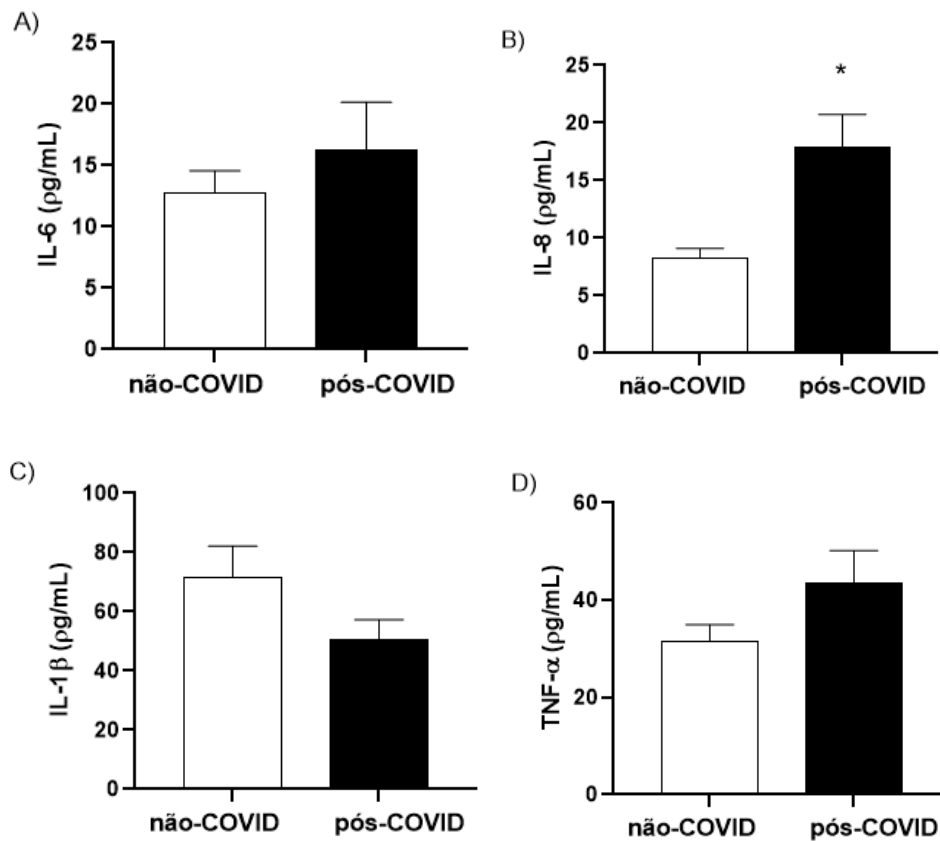


Figura 19. Biomarcadores inflamatórios em biópsias da porção distal do esôfago de indivíduos após COVID.

As citocinas inflamatórias IL-6 (A), IL-8 (B), IL-1β (C) e TNF-α (D) de indivíduos não-COVID e pós-COVID foram analisadas pelo ensaio Multiplex. Os resultados foram expressos como média ± SEM e analisados pelo teste T de Student, *p<0,05 vs. Não-COVID.

Tabela 4: Comparação dos níveis de citocinas em indivíduos pós- COVID e não-COVID

	IL-6	IL-8	IL-1B	TNF-a
Valor de P	0.3076	0.0369*	0.0615	0.1571
Média grupo não-COVID	12.80	8.327	71.66	31.69
Média grupo pós-COVID	16.35	17.88	50.71	43.65

Resultados expressos como média ± SEM e analisados pelo teste T de Student *p<0,05 vs não-COVID.

A Tabela 5 apresenta uma comparação dos níveis de citocinas IL-6, IL-8, IL-1β e TNF-α em indivíduos que tiveram COVID e controles. As demais citocinas não mostraram diferença estatística significativa.

4.5 Expressão da proteína claudina-2 por western blot em biópsias de pacientes pós-COVID

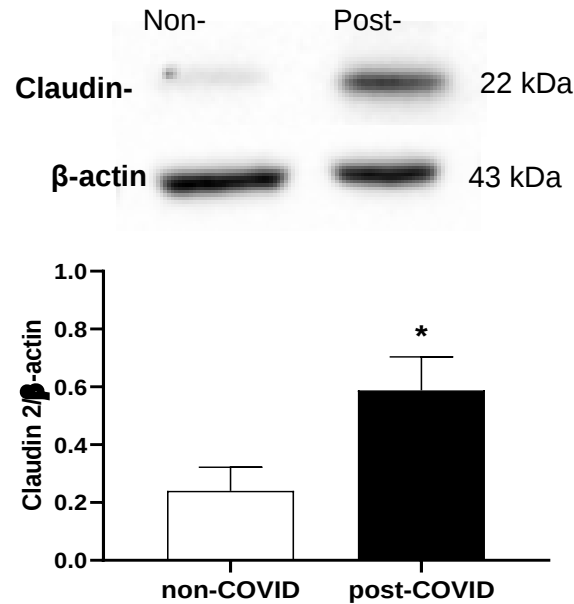


Figura 20. Expressão da proteína claudina-2 por Western Blot em biópsias de pacientes pós-COVID. Os resultados são expressos como média + S.E.M., n=7 e 16 por grupo e foram analisados usando o teste T de Student * $p < 0,05$ vs. Grupo controle.

Por meio da técnica de Western Blot, foi demonstrado aumento da proteína Claudina-2 no esôfago de pacientes pós-COVID em comparação aos pacientes não-COVID (não-COVID: $0,241 \pm 0,082$ vs. pós-COVID: $0,588 \pm 0,116$, $p < 0,05$) conforme mostrado na (Figura 20).

5. DISCUSSÃO

Nos achados deste estudo, foi observado um aumento significativo nos sintomas de azia e refluxo ácido em indivíduos de 3 a 6 meses após a infecção por COVID. Esse fenômeno está associado ao aumento da permeabilidade ao pH ácido no trato gastrointestinal desses indivíduos, indicando comprometimento da barreira epitelial. Biópsias esofágicas desses indivíduos no pós-COVID revelaram o aumento da expressão da citocina inflamatória. Além disso, foi detectado um aumento na expressão da proteína de junção Claudin-2. Esses resultados destacam que alterações nas junções celulares e a presença de inflamação persistem como repercussões significativas mesmo após a recuperação da COVID-19 e podem estar envolvidos na persistência dos sintomas esofágicos.

A população do estudo é composta por indivíduos que apresentaram sintomatologia característica de pacientes com COVID moderado a grave, de acordo com a escala de progressão clínica da OMS, os indivíduos se encontravam positivos para o RNA viral, necessitaram de assistência médica e hospitalar bem como suporte de oxigênio de baixo a alto fluxo e estavam internados pela infecção sintomática e não em isolamento assintomático. (Marshall, John C., et al.; 2020). A maioria dos indivíduos apresentavam comorbidades como fator de risco, destacando a maior vulnerabilidade à infecção por COVID e a complicações (Smith *et al.*, 2020; Brown *et al.*, 2021, Marshall, John C., et al.; 2020).

Além disso, muitos pacientes tiveram um tempo considerável de internação e precisaram de suporte ventilatório (74,5%) e fizeram uso de medicações (como: corticoides, antibióticos e anticoagulantes) que podem ter contribuído para os sintomas esofágicos relatados no período pós infecção pois podem predispor os pacientes a danos gastrointestinais a longo prazo, como é bem detalhado na literatura (Mohammed, I.; *et al.*; Mwangi; S., 2024, Marshall, J. C., et al.; 2020).

Sendo os sintomas diversos, desde os respiratórios moderados e graves, que precisaram de suporte de oxigênio, a menções notáveis de sintomas envolvendo o TGI, a amostra estudada representa bem a população objeto do estudo, corroborando com a literatura já existente (Xiao *et al.*, 2020; Dhar, D. *et al.*, 2020; Lin, L. *et al.*, 2020). Outros estudos também trazem que cerca de 30% dos pacientes infetados com o vírus apresentam sintomas gastrointestinais o que se compara ao presente estudo (Gu *et al.*, 2020; Pan *et al.*, 2020; Soy *et al.*, 2020). Mostrando que a presença desses sintomas se alinha à ampla gama de manifestações clínicas da COVID, que afeta não apenas o sistema respiratório, mas também o sistema

gastrointestinal pelo tropismo do vírus com diversos sistemas (Gu *et al.*, 2020; Mao *et al.*, 2020; Soy *et al.*, 2020).

Esses indivíduos estavam em sua maioria em oxigenoterapia, recomendada em casos de hipoxemia resultante da infecção severa, sendo assim, a hipoxia pode ter exacerbado a inflamação sistêmica (Ottestad *et al.*, 2020; Dhont *et al.*, 2020). Inflamação que é mediada pela tempestade de citocinas da COVID (Gu *et al.*, 2021) também consequência dessa hipóxia característica dos tecidos cronicamente inflamados (Bhattacharya, S. *et al.*, 2021).

A literatura também indica que os sintomas do TGI podem ser exacerbados pelo aumento da atividade inflamatória sistêmica (Mattioli *et al.*, 2024).

Além disso, mostra que sintomas do TGI persistem em formas moderadas e graves da infecção com maior probabilidade de agravar em comparação com formas leves da doença e que podem durar meses após a infecção inicial, causando complicações clínicas (He *et al.*, 2023; Golla *et al.*, 2022).

A avaliação realizada pelos questionários GSRS e RDQ mostrou que isso também acontece com na intensidade e frequência dos sintomas esofágicos nessa população estudada. Os sintomas de azia e refluxo ácido aumentaram nos pacientes 3 a 6 meses após a infecção, com destaque para o sintoma de azia que teve aumento em ambos os questionários. A complexidade desse fenômeno pode ser atribuída a vários fatores potenciais, especialmente considerando a natureza sistêmica da doença, que pode afetar diversos órgãos e sistemas do corpo. (Lin, L. *et al.*, 2020).

Além disso, a inflamação sistêmica causada pela COVID pode impactar o revestimento do trato gastrointestinal, tornando-o mais sensível e suscetível à irritação, o que, por sua vez, pode levar ao desenvolvimento desses sintomas (Soy *et al.*, 2020).

A população estudada, fazia uso de medicações contínuas devido a doenças crônicas pré existentes e ao compararmos essa variável com o sintoma de azia foi estatisticamente significativa. Diferentes classes de fármacos podem implicar no surgimento dos sintomas comuns em doenças esofágicas como a azia (Mohammed *et al.*, 2005).

Entretanto, apesar de somente essa variável ter destaque nessa população, o aumento na frequência de sintomas esofágicos também pode se relacionar **com** as mudanças de vida e hábitos alimentares, estresse, questões relacionadas ao sono e o aumento no uso de medicações ao longo da pandemia de COVID (Al-Momani; Hafez *et al.*, 2023).

Entretanto, a origem desses sintomas pode ser justificada pelo comprometimento normal da função dos tecidos da barreira epitelial do TGI, resultado da exacerbação da resposta inflamatória, aumentando a permeabilidade assim como também acontece no intestino,

permitindo a entrada de patógenos e moléculas inflamatórias na circulação sistêmica, causando danos adicionais aos tecidos (Souza *et al.*, 2017).

A resistência elétrica do tecido esofágico foi avaliada nos primeiros 30 minutos após a exposição ao ácido (pH 2.0). Observou-se uma redução nos valores de resistência tanto em indivíduos não-COVID quanto em indivíduos pós-COVID, quando comparados às condições fisiológicas (pH 7.4). A análise de variância (ANOVA) revelou diferenças estatisticamente significativas entre as condições ($p = \text{valor específico}$), sugerindo que o status pós-COVID pode comprometer a integridade da barreira epitelial em meio ácido. A comparação dos valores basais de resistência elétrica entre os grupos COVID e não-COVID não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p = \text{valor específico}$), indicando que, inicialmente, a integridade epitelial é semelhante em ambos. No entanto, a resposta ao pH ácido variou entre os grupos ao longo do tempo, sugerindo uma maior susceptibilidade dos indivíduos pós-COVID à exposição ácida. Essa queda da RET em pacientes saudáveis e que tiveram COVID em (pH 2.0) mostram um resultado esperado devido ao potencial ácido da solução desafio, estudos documentaram a barreira epitelial prejudicada do esôfago, em biópsias endoscópicas de controles saudáveis e pacientes com doenças do esôfago como a do refluxo gastroesofágico (Björkman *et al.*, 2013; Huo; Souza, 2013; Hou *et al.*, 2017; Paris; Souza, 2021).

Assim como quando comparado a RET com os sintomas de azia e refluxo, também houve queda em ambos os grupos e embora essa queda não determine por si só o impacto na integridade da barreira epitelial do esôfago, pode haver uma alteração. Visto que, a avaliação da resistência compreende duas vias, a transcelular e a para celular, a disfunção da barreira epitelial esofágica poderia ocorrer nas duas vias ou separadamente. (Woodland *et al.*, 2013, Vidyasagar; Macgregor, 2016)

Nessa perspectiva, avaliou-se a via paracelular por meio da análise da permeabilidade à fluoresceína. Este estudo demonstrou, pela primeira vez, que a exposição ao ácido (pH 2.0) em biópsias de indivíduos pós-COVID promoveu um aumento gradual na permeabilidade, com efeito máximo em 90 minutos. No contexto de doenças do TGI, a exposição ao ácido gástrico compromete a integridade da barreira esofágica, permitindo a entrada de íons hidrogênio e outros compostos nocivos no tecido esofágico causando os sintomas (Montazersaheb *et al.*, 2022).

A literatura descreve que uma maior permeabilidade do tecido pode contribuir para os sintomas de refluxo ácido e azia observada em pacientes com doenças esofágicas (Holford *et al.*, 2020; Passos *et al.*, 2022).

O aumento dessa permeabilidade tecidual da barreira epitelial na COVID, vem sendo observado em outros sistemas, como o intestinal e pulmonar, sugerindo um fenômeno sistêmico (Alfonso-Dunn *et al.*, 2023). A COVID induz disfunção da barreira epitelial em múltiplos órgãos, o que sugere que o comprometimento da barreira esofágica segue um padrão semelhante, em condições inflamatórias, como na COVID-19 pós-aguda, essa barreira pode ser comprometida, resultando em aumento da permeabilidade e maior exposição da mucosa a citocinas pró-inflamatórias impactando a barreira epitelial esofágica (Vollbracht e Kraft, 2022; Rodriguez-Morales *et al.*, 2022).

Além disso, a motilidade do trato gastrointestinal pode influenciar os sintomas de refluxo e azia, especialmente em pacientes com disfunções motoras, como a dispepsia funcional. O esvaziamento gástrico retardado pode levar ao acúmulo de conteúdo no estômago, aumentando a pressão intra-abdominal e favorecendo o refluxo ácido. Alterações nas contrações peristálticas também podem estar envolvidas na fisiopatologia desses sintomas (Kusano *et al.*, 2014).

Assim como acontece na origem cíclica dos sintomas esofágicos já apresentados nesse estudo, onde os sintomas são resultados de um processo inflamatório, liberação de citocinas e uma alteração estrutural da barreira epitelial que aumenta a permeabilidade (Tobey *et al.*, 2008; Souza; R. F. 2009; Kandulski; Arne, 2010; Yu *et al.*, 2016; Ustaoglu *et al.*, 2020; Patel; Fass; Vaezi, 2021; Meringer; Wang; Mehandru, 2023), os pacientes pós-COVID deste estudo, com aumento de sintomas, causados pela maior permeabilidade da barreira epitelial esofágica associada ao aumento dos níveis de IL-8, mostram similaridades na fisiopatologia dos sintomas.

O que também foi apresentado nos resultados quando os sintomas de azia e refluxo ácido foi relacionado a permeabilidade. Os pacientes pós-COVID expostos ao ambiente ácido como o do estômago apresentaram o aumento da permeabilidade quando comparado aos demais grupos. Assim, os achados de aumento significativo da permeabilidade esofágica em indivíduos pós-COVID neste estudo estão alinhados com observações prévias em doenças gastroesofágicas pré-existentes (Holford *et al.*, 2020; Passos *et al.*, 2022).

O aumento da citocina IL-8 observado, em indivíduos pós-COVID corrobora com esses dados da barreira epitelial prejudicada do esôfago, pois estímulos agressivos como refluxo ácido do estômago desencadeiam uma liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, conforme evidenciado em estudos anteriores (SILVA, R. O., *et al.*, 2017; Orlando *et al.*, 2010). E a associação de IL-8 com o aumento da permeabilidade esofágica reforça a evidência de que

as citocinas inflamatórias desempenham um papel importante na disfunção das barreiras epiteliais (Preiser, 2012).

A tempestade de citocinas, desencadeada pelo SARS-CoV-2, tem como principal alvo o pulmão (Li *et al.*, 2021; Pelaia *et al.*, 2020). Contudo, a ligação do vírus em diferentes tecidos com a liberação sistêmica desses marcadores inflamatórios mostra desfechos clínicos desfavoráveis (Del Valle *et al.*, 2020). Observou-se que a tempestade de citocinas desempenha um papel crucial na gravidade, indicadores consistentes da severidade e da mortalidade (Mousavizadeh *et al.*, 2022; Venugopal *et al.*, 2019). Visto que, proteína Spike do vírus é capaz de induzir a expressão de IL-8, promovendo uma resposta inflamatória exagerada (Ferreira *et al.*, 2022).

O aumento nos níveis de IL-8 em indivíduos após COVID sugere ativação persistente do sistema imunológico, possivelmente contribuindo para a inflamação duradoura observada nesses indivíduos do estudo. Nesse contexto, a IL-8 destaca-se como uma citocina pró-inflamatória com um papel crucial no desencadeamento e manutenção do estado inflamatório no esôfago (Harada, A.;1994; Tobey *et al.*, 2008; Farré *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2017; Paris; Souza, 2021;).

Além disso quanto a síndrome de COVID-19 pós-aguda, Codina *et al.* (2021) mostrou que o aumento nos níveis de IL-8 em indivíduos após a infecção causou uma ativação do sistema imunológico, possivelmente contribuindo para a inflamação persistente observada nesses indivíduos.

Estudos anteriores já demonstraram que doenças do esôfago estão frequentemente associadas ao aumento da permeabilidade esofágica, mediada por citocinas pró-inflamatórias, como IL-8 e IL-6 (Alfonso-Dunn *et al.*, 2023). Estudos sobre patologias esofágicas, já identificaram a IL-8 como um importante mediador na inflamação da mucosa, desempenhando papel fundamental no recrutamento de neutrófilos, que exacerbam a inflamação local e causam danos ao tecido epitelial (Hasanvand, 2022).

A rápida elevação da permeabilidade esofágica observada sugere que a inflamação sistêmica e os níveis elevados de citocinas, como IL-8, pode desencadear dessa disfunção epitelial acelerada (Preiser, 2012; Holford *et al.*, 2020). Alinhando com alguns estudos, que mostraram em outros sistemas do corpo no pós-COVID, o aumento da IL-8, evidenciando a resposta inflamatória exacerbada da tempestade de citocinas durante a COVID (Vollbracht e Kraft, 2022; Rodriguez-Morales *et al.*, 2022). Em uma análise de pacientes com COVID, ficou evidente que os casos graves tendem a apresentar níveis mais altos de citocinas pró-

inflamatórias e essas citocinas prejudicam a estrutura das barreiras epiteliais (Montazersaheb *et al.*, 2022).

A integridade da barreira epitelial na proteção do esôfago contra o ácido gástrico e outros irritantes é bem documentada (Passos *et al.*, 2022). indivíduos que continuam a apresentar sintomas de refluxo e azia após a recuperação da COVID podem estar sofrendo com uma disfunção prolongada da barreira esofágica (Vollbracht; Kraft, 2022). Visto que, as camadas desse epitélio promovem uma barreira de permeabilidade hidrofóbica aliados na defesa da mesma quando está intacta, impedindo a entrada de material ácido (Kim *et al.*, 2018; Pan, Y. Y. *et al.*, 2022).

As junções estreitas, primeiro componente que fica em contato com possíveis agentes lesivos, formadas por proteínas como ocludinas e claudinas, são cruciais para a seletividade e impermeabilidade da barreira. a redução na sua expressão aumenta a permeabilidade paracelular, exacerbando a inflamação e contribuindo para complicações graves (Schumann *et al.*, 2012; Krieger *et al.*, 2016; Ustaoglu *et al.*, 2020).

Este estudo também identificou um aumento na expressão da proteína de junção Claudin-2 no esôfago de pacientes que desenvolveram sintomas de refluxo após a infecção por COVID. As Claudinas são moléculas de adesão célula-célula localizadas nas junções apertadas, cuja função é melhorar a função de barreira. No entanto, a Claudin-2 é o único membro da família das Claudinas que forma poros, resultando em aumento da permeabilidade (Rosenthal *et al.*, 2010). Ela também desempenha um papel crucial na formação de canais seletivos para cátions e permeáveis à água (Venugopal *et al.*, 2019).

A Claudina-2 tem papel multifuncional, especialmente em relação à sua capacidade de modular não apenas a permeabilidade paracelular, mas também outros processos celulares, como a proliferação e a migração celular, sendo uma proteína transmembrana expressa principalmente em tecidos epiteliais com barreiras "vazantes", como nos rins e no intestino e as alterações na sua expressão estão associadas a diversas patologias, como inflamações, câncer e fibrose, demonstrando que sua disfunção pode impactar tanto a regulação de íons quanto eventos celulares vitais (Venugopal; A. S., 2019; Rosenthal *et al.*, 2010; Ashour, L., 2023).

A hipoxia, caracterizada pela redução nos níveis de oxigênio, exerce um impacto significativo nas junções estreitas, essenciais para a manutenção da integridade da barreira epitelial. Em condições normais, essas junções, compostas principalmente por proteínas como claudinas (junctional adhesion molecules) (Wang *et al.*, 2018). Durante a hipoxia, a ativação da via de sinalização do fator induzido por hipoxia (HIF-1 α) pode levar à modulação da expressão

dessas proteínas, resultando em uma desregulação das junções estreitas e, consequentemente, em um aumento da permeabilidade da barreira epitelial (Fitzgerald et al., 2020).

O aumento da permeabilidade facilita a infiltração de substâncias e células inflamatórias, favorecendo o desenvolvimento de processos patológicos (Nishida et al., 2019). Além disso, a hipóxia pode induzir uma resposta inflamatória adicional, promovendo a liberação de citocinas pró-inflamatórias que intensificam a disfunção das junções estreitas (Chung et al., 2020).

Em pacientes com doença do refluxo gastro esofágico, por exemplo, a exposição prolongada ao ácido gástrico pode prejudicar a expressão dessas proteínas, levando a um aumento da permeabilidade esofágica e facilitando o desenvolvimento lesões e a alteração na expressão de claudinas, foi associada à gravidade dos sintomas esofágicos (Friedenberg et al., 2021).

Entretanto, A expressão aumentada da Claudina-2, uma das proteínas de junção estreita cruciais para a integridade epitelial, pode ser interpretada como uma tentativa adaptativa do organismo de restaurar a função de barreira, particularmente em cenários inflamatórios e patológicos. Sob condições fisiológicas normais, a Claudina-2 regula a permeabilidade celular ao permitir o transporte seletivo de íons, mantendo, assim, o equilíbrio homeostático (Miyoshi et al., 2019).

Contudo, em contextos de inflamação crônica ou estresse celular, como aqueles observados em doenças inflamatórias intestinais (DII) e neoplasias, ocorre uma regulação para cima de Claudina-2 que resulta em junções mais permeáveis, favorecendo a passagem descontrolada de mediadores inflamatórios e células imunes para os tecidos subjacentes (Prasad et al., 2005; Schlingmann et al., 2019).

Embora a modulação da barreira epitelial inicialmente pareça uma tentativa de restaurar sua integridade, evidências sugerem que o aumento da permeabilidade pode, paradoxalmente, perpetuar a inflamação. A superexpressão da Claudina-2 tem sido associada a uma maior infiltração de células inflamatórias, como neutrófilos e macrófagos, intensificando a resposta inflamatória local e comprometendo ainda mais a função epitelial (Bhat et al., 2020; Wu et al., 2018). Esse processo pode levar ao aumento da liberação de mediadores inflamatórios, como a interleucina-8 (IL-8), que está diretamente relacionada à perpetuação da inflamação e ao agravamento da permeabilidade epitelial (Wang et al., 2019; Lee et al., 2021). Clinicamente, essa disfunção da barreira epitelial pode se manifestar por sintomas persistentes, como dor e sensibilização da mucosa, destacando a relevância dos achados para a progressão de doenças inflamatórias (Smith et al., 2020; Tanaka et al., 2022).

Dessa forma, ao invés de promover a reparação, a Claudina-2, sob condições patológicas, pode atuar como um fator de amplificação do processo inflamatório, exacerbando a lesão tecidual e contribuindo para a cronicidade da inflamação (Bai *et al.*, 2021; Schlingmann *et al.*, 2021). Em última análise, a Claudina-2 pode exercer um papel bifásico: como uma resposta compensatória inicial para o dano à barreira, mas também como um perpetuador da inflamação crônica e da disfunção tecidual, à medida que a resposta patológica progride.

Há uma correlação dessas alterações que foram identificadas nesses indivíduos com a presença dos sintomas de azia e refluxo ácido a longo prazo. A tempestade de citocinas na COVID gera uma resposta imunológica exagerada desencadeada por uma resposta inflamatória descontrolada com liberação de uma tempestade de citocinas, como a IL-8 (Mousavizadeh *et al.*, 2022; Coomes; Haghbayan, 2020; Giron *et al.*, 2021). Podendo gerar modificações na permeabilidade da barreira epitelial através dessa inflamação e do estresse oxidativo, que têm sido amplamente documentados na literatura como consequências da infecção pelo SARS-CoV-2, (Vollbracht; Kraft, 2022; Santos Passos *et al.*, 2022; Queiroz *et al.*, 2022).

É fato que a inflamação crônica no trato gastrointestinal pode induzir modificações na permeabilidade das barreiras epiteliais do TGI (Queiroz *et al.*, 2022) o que aconteceu com o tecido esofágico dos pacientes estudados, a expressão acentuada de Claudina-2 alterando a conformação das junções estreitas da parede.

A inter-relação entre hipóxia, inflamação e permeabilidade intestinal é bem descrita pela literatura, demonstrando que esses fatores influenciam uns aos outros, exacerbando sintomas esofágicos dos indivíduos (Huo; Souza, 2013; Hou *et al.*, 2017; Paris; Souza, 2021) fazendo uma conexão entre os sintomas comuns na doença do refluxo gastroesofágico com a fisiopatologia dos sintomas esofágicos na síndrome COVID-19 pós-aguda. Ao contrário de algumas doenças crônicas gastroesofágicas, que levam anos para comprometer a barreira esofágica, os resultados deste estudo indicam que a COVID pode acelerar esse processo de forma mais aguda.

Embora esses achados contribuam para elucidar a repercussão da COVID no TGI, de forma específica no esôfago, alguns fatores externos podem ter interferência no desencadear desses sintomas. Durante o período pandêmico, o ganho de peso durante a pandemia, associado ao maior consumo de alimentos ultraprocessados, pode ter agravado esses sintomas (Santacroce *et al.*, 2023). Mudanças no estilo de vida durante períodos de isolamento social (Benfato, I. D., *et al.*, 2022). Hábitos alimentares inadequados, como o consumo excessivo de alimentos gordurosos, tem maior risco de agravamento dos sintomas (Li *et al.*, 2023; Santacroce *et al.*, 2023).

Algumas limitações devem ser reconhecidas. Primeiramente, a perda de participantes ao longo do estudo pode ter introduzido viés de seleção, uma vez que indivíduos mais sintomáticos ou com maior preocupação com sua saúde podem ter sido mais propensos a aderir ao seguimento clínico e à realização da endoscopia digestiva alta (EDA). Além disso, o tamanho reduzido da amostra pode limitar a generalização dos achados para populações maiores e mais heterogêneas, sendo necessários estudos futuros com amostras ampliadas para validar e aprofundar os resultados. Outro fator a ser considerado é o viés de memória, uma vez que os sintomas prévios à infecção foram autorrelatados, o que pode influenciar a precisão das informações. Por fim, mudanças nos hábitos alimentares e no uso de medicações protetoras durante a internação podem ter impactado as análises, introduzindo potenciais variáveis de confusão.

6. CONCLUSÃO

Há um aumento significativo de sintomas gastroesofágicos, como refluxo ácido e queimação, entre os indivíduos com COVID-19 moderado a grave.

A integridade funcional da barreira esofágica foi comprometida em indivíduos com histórico de COVID-19 moderado a grave.

A investigação da permeabilidade da barreira esofágica identificou que os indivíduos com histórico de infecção por COVID apresentaram um aumento na permeabilidade mucosa.

Houve o aumento da citocina inflamatórias IL-8 e a expressão acentuada da proteína de junção da parede esofágica Claudina-2.

Ao associar as alterações na integridade da barreira esofágica com presença de e os sintomas persistentes desses indivíduos, foram possíveis observar uma relação entre essas variáveis.

7. REFERÊNCIAS

- AL-ALY, Z. *et al.* Gastrointestinal symptoms in patients with COVID-19: a retrospective cohort study. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 19, n. 8, p. 1685-1694, 2021.
- ALFARO, E. *et al.* TGF- β 1 overexpression in severe COVID-19 survivors and its implications for early-phase fibrotic abnormalities and long-term functional impairment. **Front Immunol**, [s. l.], p. 1401015–1401015, 2024.
- ALFONSO-DUNN, R. *et al.* Humoral and cellular responses to repeated COVID-19 exposure in multiple sclerosis patients receiving B-cell depleting therapies: a single-center, one-year, prospective study. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, p. 1194671, 2023.
- ALMARIO, C. V. *et al.* Increased risk of COVID-19 among users of proton pump inhibitors. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 115, p. 1707–1715, 2020.
- AL-MOMANI, H. *et al.* Gastroesophageal reflux in lockdown. **Future Science OA**, v. 9, n. 6, p. FSO863, jul. 2023. doi: 10.2144/fsoa-2023-0042.
- ANTUNES, C.; ALEEM, A.; CURTIS, S. A. Gastroesophageal Reflux Disease. **StatPearls Publishing**, 2023.
- ARDATSKAYA, M. D. *et al.* Gastroenterological symptoms in COVID-19 patients with mild severity of the disease: opportunities to optimize antidiarrheal therapy. **Ter Arkh**, v. 93, n. 8, p. 923-931, 2021. doi: 10.26442/00403660.2021.08.201020.
- ASAOKA, D.; MIWA, H.; HIRAI, S. *et al.* Altered localization and expression of tight-junction proteins in a rat model with chronic acid reflux esophagitis. **Journal of Gastroenterology**, v. 40, n. 8, p. 781-790, 2005.
- ASHOUR, LAITH. "Roles of the ACE/Ang II/AT1R pathway, cytokine release, and alteration of tight junctions in COVID-19 pathogenesis." **Tissue Barriers** 11.2 (2023): 2090792.
- BACKERT, S.; NAUMANN, M. What a disorder: proinflammatory signaling pathways induced by *Helicobacter pylori*. **Trends in Microbiology**, v. 18, p. 479-486, 2010.
- BAI, J., *et al.* (2021). Targeting claudin-2 in the treatment of inflammatory diseases. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 547, 115-122.
- BENFATO, IZABELLE DIAS, et al. "Effects of long-term social isolation on central, behavioural and metabolic parameters in middle-aged mice." **Behavioural brain research** 417 (2022): 113630.

BERGANTINI, L. *et al.* Predictive Role of Cytokine and Adipokine Panel in Hospitalized COVID-19 Patients: Evaluation of Disease Severity, Survival and Lung Sequelae. **Int J Mol Sci**, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10455616>. Acesso em: 20 set. 2024.

BERGANTINI, LAURA, *et al.* "Cytokine profiles in the detection of severe lung involvement in hospitalized patients with COVID-19: The IL-8/IL-32 axis." *Cytokine* 151 (2022): 155804.

BHAT, A., *et al.* (2020). The role of Claudins in inflammation and cancer. **Journal of Cell Science**, 133(18), jcs241758.

BHATTACHARYA, SULAGNA, *et al.* "Interplay between hypoxia and inflammation contributes to the progression and severity of respiratory viral diseases." **Molecular Aspects of Medicine** 81 (2021): 101000.

BHUVANESHWAR, K.; MADHAVAN, S.; GUSEV, Y. Integrative genomic analysis of the lung tissue microenvironment in SARS-CoV-2 and NL63 patients. **Heliyon**, [s. l.], p. e32772–e32772, 2024.

BINGANA, R. D. Proteção tópica in vitro da mucosa esofágica de pacientes com doença do refluxo gastroesofágico usando a “goma do angico”, um biopolímero de *Anadenanthera colubrina*. 2020. 80 f. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2020. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/56218>>. Acesso em: 03 março. 2018.

BJÖRKMAN, E. V. *et al.* Esophageal barrier function and tight junction expression in healthy subjects and patients with gastroesophageal reflux disease: functionality of esophageal mucosa exposed to bile salt and trypsin in vitro. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 48, n. 10, p. 1118-1126, 2013.

BLACKETT, J. W. *et al.* Prevalence and risk factors for gastrointestinal symptoms after recovery from COVID-19. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 34, n. 3, e14251, mar. 2022. doi: 10.1111/nmo.14251.

BORTOLOTTI, M. The pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: recent developments. **Digestive Diseases**, v. 28, n. 1, p. 1-8, 2010.

BRIVIBA, M. *et al.* Gut Microbiome Composition and Dynamics in Hospitalized COVID-19 Patients and Patients with Post-Acute COVID-19 Syndrome. **Int J Mol Sci**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10779053>. Acesso em: 20 set. 2024.

BROWN, E. *et al.* Anticipating and mitigating the impact of the COVID-19 pandemic on Alzheimer's disease and related dementias. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 29, n. 7, p. 712-721, 2021.

CABAU, G. *et al.* Long-Lasting Enhanced Cytokine Responses Following SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA Vaccination. **Vaccines (Basel)**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11281652>. Acesso em: 20 set. 2024.

CALCATERRA, V. *et al.* Long-term cytokine profile in multisystem inflammatory disease among children. **Cytokine**, [s. l.], p. 156744–156744, 2024.

CARPIO-ORANTES, L. D. *et al.* Clinical-epidemiological characterization of patients with long COVID in Mexico. **Gac Med Mex**, [s. l.], p. 136–143, 2024.

CASTELL, D. O.; RICHTER, J. E. **The Esophagus**. 4. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.

CELEGHIN, A.; STANZIANO, M.; PALERMO, S. Addressing Long COVID Sequelae and Neurocovid: Neuropsychological Scenarios and Neuroimaging Findings. **Adv Exp Med Biol**, [s. l.], p. 143–164, 2024.

CHANCHAROENTHANA, W. *et al.* Gastrointestinal manifestations of long-term effects after COVID-19 infection in patients with dialysis or kidney transplantation: An observational cohort study. **World J Gastroenterol**, [s. l.], p. 3013–3026, 2023.

CHARPIAT, B.; BLEYZAC, N.; TOD, M. Drug-drug interactions with proton pump inhibitors: a review. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 76, n. 6, p. 717-726, 2020.

CHEN, B. *et al.* Viral persistence, reactivation, and mechanisms of long COVID. **eLife**, [s. l.], v. 12, p. e86015, 2023.

CHEN, J.; BRADY, P. Gastroesophageal reflux disease. **Gastroenterology Nursing**, v. 42, n. 1, p. 20-28, 2019.

CHEN, LITING, *et al.* "Scoring cytokine storm by the levels of MCP-3 and IL-8 accurately distinguished COVID-19 patients with high mortality." **Signal Transduction and Targeted Therapy** 5.1 (2020): 292.

CHEN, RUIRONG, *et al.* "Cytokine storm: the primary determinant for the pathophysiological evolution of COVID-19 deterioration." **Frontiers in immunology** 12 (2021): 589095.

CHEUNG, K. S. *et al.* Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from a Hong Kong cohort: systematic review and meta-analysis. **Gastroenterology**, v. 159, n. 1, p. 81-95, 2020. doi: 10.1053/j.gastro.2020.03.065.

CHITTASUPHO, C. *et al.* Targeting Spike Glycoprotein S1 Mediated by NLRP3 Inflammasome Machinery and the Cytokine Releases in A549 Lung Epithelial Cells by Nanocurcumin. **Pharmaceuticals (Basel)**, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10302714>. Acesso em: 20 set. 2024.

CHOI, E. *et al.* Cell lineage distribution atlas of the human stomach reveals heterogeneous gland populations in the gastric antrum. **Gut**, v. 63, p. 1711-1720, 2014.

CHOI, Y. J. *et al.* Gastroprotective effects of PMK-S005 against ethanol-induced acute gastric damage in rats. **Gut and Liver**, v. 10, p. 348-355, 2016.

CHOW, S. C., SHAO, J., WANG, H., & LOKHNYGINA, Y. Sample size calculations in clinical research. **chapman and hall/CRC**, 2017.

CHUNG, K. F., *et al.* (2020). Hypoxia and its role in inflammatory responses. **Nature Reviews Immunology**, 20(1), 37-51.

CLAUSEN, T. M. *et al.* Post-acute sequelae of COVID infection and cerebral venous outflow disorders: Overlapping symptoms and mechanisms?. **IntervNeuroradiol**, [s. l.], p. 15910199241273946–15910199241273946, 2024.

CLERKIN, K. J. *et al.* COVID-19 and cardiovascular disease. **Circulation**, v. 141, n. 20, p. 1648-1655, 2020. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941.

CODINA, H. *et al.* Elevated Anti-SARS-CoV-2 antibodies and IL-6, IL-8, MIP-1 β , early predictors of severe COVID-19. **Microorganisms**, v. 9, n. 11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112259>.

CODO, A. C. *et al.* Cytokine-mediated inflammation driven by HIF-2 α : a potential role for targeting HIF2 α to prevent and treat reflux esophagitis. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 93-99, 2021.

COELHO, F. M. S. *et al.* Sleep disorder syndromes of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC) / Long Covid. **Sleep Med**, [s. l.], p. 37–41, 2024.

COOMES, E. A.; HAGHBAYAN, H. Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis. **Reviews in Medical Virology**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 1–9, 2020.

CORLEY, D. A. *et al.* Abdominal obesity and body mass index as risk factors for Barrett's esophagus. **Gastroenterology**, v. 133, n. 1, p. 34-41, 2007.

CROOK, H. *et al.* Long covid—mechanisms, risk factors, and management. **BMJ**, [s. l.], v. 374, p. n1648, 2021.

CURRIE, C. *et al.* Assessing the Potential of an Enzymatically Liberated Salmon Oil to Support Immune Health Recovery from Acute SARS-CoV-2 Infection via Change in the Expression of Cytokine, Chemokine and Interferon-Related Genes. **Int J Mol Sci**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11241394>. Acesso em: 20 set. 2024.

DANTAS, R. O.; APRILE, L. R.; BALTAROWICH, O. H. Mechanisms of oral and pharyngeal phases of swallowing. **Dysphagia**, v. 5, n. 1, p. 36-44, 1990.

DEL VALLE, DIANE MARIE, et al. "An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival." **Nature medicine** 26.10 (2020): 1636-1643.

DELLON, E. S.; LIACOURAS, C. A. Advances in clinical management of eosinophilic esophagitis. **Gastroenterology**, v. 147, n. 6, p. 1238-1254, 2014. doi: 10.1053/j.gastro.2014.09.035.

DEMEESTER, S. R. *et al.* Role of tight junctions in esophageal diseases. **Gastroenterology**, v. 149, n. 5, p. 1191-1202, 2015.

DESHMUKH V, MOTWANI R, KUMAR A et al. Histopathological observations in COVID-19: a systematic review. **J Clin Pathol**. 2021;74(2):76–83.

DEYRAS, L.; GODEFROY, S.; DUPONT, C. Esophagitis: pathophysiology, diagnosis, and treatment. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 9, p. 2638-2646, 2014.

DHAR, A.; MOHANTY, A. Gut microbiota and Covid-19: possible link and implications. **Virus Research**, v. 285, 198018, 2020. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198018.

DHAR, D.; MOHANTY, A. Proton pump inhibitors are risk factors for viral infections: even for COVID-19? **Clinical Drug Investigation**, v. 40, p. 897–899, 2020.

DHONT, S. *et al.* The pathophysiology of ‘happy’ hypoxemia in COVID-19. **Respiratory Research**, v. 21, 2020, p. 1-9.

DOCAMPO, M. J. *et al.* Clinical and Immunologic Effects of Paraprobiotics in Long-COVID Patients: A Pilot Study. **Neurol NeuroimmunolNeuroinflamm**, [s. l.], p. e200296–e200296, 2024.

DOLAN, D. P. *et al.* Esophagectomy for Esophageal Cancer Performed During the Early Phase of the COVID-19 Pandemic. **Semin Thorac Cardiovasc Surg**, [s. l.], p. 1075–1080, 2022.

DUNBAR, KERRY B., *et al.* "Association of acute gastroesophageal reflux disease with esophageal histologic changes." **Jama** 315.19 (2016): 2104-2112.

EHM, F. *et al.* Long/post-COVID in children and adolescents: symptom onset and recovery after one year based on healthcare records in Germany. **Infection**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1007/s15010-024-02394-8>. Acesso em: 20 set. 2024.

ELLIOTT, M. R.; O’CONNOR, A. E.; MARSHALL, G. D. “Inflammatory Pathways in Patients with Post-acute Sequelae of COVID-19 - The Role of the Clinical Immunologist”. **Ann Allergy Asthma Immunol**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2024.08.021>. Acesso em: 20 set. 2024.

ELLUL, M. A. *et al.* Neurological associations of COVID-19. **The Lancet Neurology**, v. 19, n. 9, p. 767-783, 2020. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30221-0.

ELTZSCHIG, H. K.; CARMELIET, P. Hypoxia and inflammation. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 7, p. 656-665, 2011.

EMANUEL, E. J. *et al.* Fair allocation of scarce medical resources in the time of Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 21, p. 2049-2055, 2020. doi: 10.1056/nejmsb2005114.

EUSEBI, L. H. *et al.* Global prevalence of, and risk factors for, gastro-oesophageal reflux symptoms: a meta-analysis. **Gut**, v. 67, n. 3, p. 430-440, 2018.

EVERING, T. H. *et al.* Post-acute COVID-19 outcomes including participant-reported long COVID: amubarvimab/romlusevimab versus placebo in the ACTIV-2 trial. **EClinicalMedicine**, [s. l.], p. 102787–102787, 2024.

FARRÉ, R. *et al.* Acid and weakly acidic solutions impair mucosal integrity of distal exposed and proximal non-exposed human oesophagus. **Gut**, v. 59, n. 2, p. 164-169, 2010.

FASS, R. Erosive esophagitis and nonerosive reflux disease (NERD): comparison of epidemiologic, physiologic, and therapeutic characteristics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 41, n. 2, p. 131-137, 2007.

FASS, R.; FRAZIER, R. The role of dexlansoprazole modified-release in the management of gastroesophageal reflux disease. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 10, n. 2, p. 243-251, 2017.

FASS, R.; OFMAN, J. J. Gastroesophageal reflux disease—should we adopt a new conceptual framework? **American Journal of Gastroenterology**, v. 97, n. 8, p. 1901-1909, 2002.

FAUZI, A. *et al.* COVID-19 pandemic is associated with increased prevalence of GERD and decreased GERD-related quality of life: Analysis from 9800 participants in the Indonesian GERD-Q study. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 58, n. 4, p. 324-329, abr. 2024. doi: 10.1097/MCG.0000000000001923.

FERNÁNDEZ-DE-LAS-PENAS, C. *et al.* Trajectory of Gastrointestinal Symptoms in Previously Hospitalized COVID-19 Survivors: The Long COVID Experience Multicenter Study. **Viruses**, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10221203>. Acesso em: 20 set. 2024.

FERREIRA DE ARAÚJO, J. L. *et al.* Systematic review of host genetic association with Covid-19 prognosis and susceptibility: What have we learned in 2020?. **Reviews in Medical Virology**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. e2283, 2022.

FITZGERALD, P., *et al.* (2020). Hypoxia and tight junction regulation in epithelial cells. **Journal of Cellular Physiology**, 235(1), 38-47.

FITZGERALD, R. C. *et al.* British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. **Gut**, v. 63, n. 1, p. 7-42, 2014. doi: 10.1136/gutjnl-2013-305372.

FREEDBERG, D. E.; CHANG, L. Gastrointestinal symptoms in COVID-19: the long and the short of it. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 38, n. 6, p. 555-561, 2022. doi: 10.1097/MOG.0000000000000876.

FURUSE, M.; TSUKITA, S. Tight junction proteins: new insights into a special form of cell adhesion. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 12, n. 12, p. 790-801, 2011.

FURUTA, G. T. *et al.* Hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of intestinal trefoil factor protects barrier function during hypoxia. **Journal of Experimental Medicine**, v. 193, n. 9, p. 1027-1034, 2001. doi: 10.1084/jem.193.9.1027.

GALMICHE, J. P. *et al.* Functional esophageal disorders. **Gastroenterology**, v. 150, n. 6, p. 1444-1452, 2011.

GAWEY, B. *et al.* The use of complementary and alternative medicine for the treatment of gastrointestinal symptoms in Long COVID: a systematic review. **Ther Adv Chronic Dis**, [s. l.], p. 20406223231190548–20406223231190548, 2023.

GHEORGHITA, R. *et al.* The knowns and unknowns of long COVID-19: from mechanisms to therapeutical approaches. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 15, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1344086/full>. Acesso em: 20 set. 2024.

GHORRA, N. *et al.* Cytokine Profile in Patients with Postacute Sequelae of COVID-19. **Viral Immunol**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1089/vim.2024.0025>. Acesso em: 20 set. 2024.

GHOSHAL, U.C.; GHOSHAL, U.; DHIMAN, R.K. Gastrointestinal and hepatic involvement in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: A review. **J Clin Exp Hepatol**, v. 10, p. 622–628, 2020.

GIRON, L. B. *et al.* Plasma markers of disrupted gut permeability in severe COVID-19 patients. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 686240, 2021.

GOLLA, R. *et al.* Long-term gastrointestinal sequelae following COVID-19: A prospective follow-up cohort study. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, 2022. doi: 10.1016/j.cgh.2022.10.015.

GONZÁLEZ-MUÑIZ, R. *et al.* Recent Progress in TRPM8 Modulation: An Update. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 2618, 2019.

GOSTIN, L. O.; WILEY, L. F. Governmental public health powers during the COVID-19 pandemic: stay-at-home orders, business closures, and travel restrictions. **JAMA**, v. 323, n. 21, p. 2137-2138, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.5460.

GOYAL, R. K.; CHAUDHURY, A. Physiology of normal esophageal motility. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 42, n. 5, p. 610-619, 2008. doi: 10.1097/MCG.0b013e31816b4465.

GRIFFIN, D. O. Postacute Sequelae of COVID (PASC or Long COVID): An Evidenced-Based Approach. **Open Forum Infect Dis**, [s. l.], p. ofae462–ofae462, 2024.

GU, J.; HAN, B.; WANG, J. COVID-19: gastrointestinal manifestations and potential fecal-oral transmission. **Gastroenterology**, v. 158, n. 6, p. 1518-1519, 2020. doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.054.

GUAN, W. J. *et al.* Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708-1720, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

GUO, J. *et al.* Inflammation and Mortality in COVID-19 Hospitalized Patients With and Without Type 2 Diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 107, n. 5, p. e1961–e1968, 2022.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. 4. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2006.

GYAWALI, C. P. *et al.* The esophageal mucosal barrier in health and disease: mucosal pathophysiology and protective mechanisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1482, n. 1, p. 49-60, 2020.

HAFEZ, W. *et al.* Interleukin-6 and the determinants of severe COVID-19: A retrospective cohort study. **Medicine**, [s. l.], v. 102, n. 45, p. e36037, 2023.

HAMREFORS, V. *et al.* Gut microbiota composition is altered in postural orthostatic tachycardia syndrome and post-acute COVID-19 syndrome. **Sci Rep**, [s. l.], p. 3389–3389, 2024.

HARADA, A. *et al.* Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 56, nov. 1994.

HASANVAND, A. COVID-19 and the role of cytokines in this disease. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 789–798, 2022.

HE, K. Y. *et al.* Development and management of gastrointestinal symptoms in long-term COVID-19. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023. doi: 10.3389/fmicb.2023.1278479.

HEITMANN, J. S. *et al.* A COVID-19 peptide vaccine for the induction of SARS-CoV-2 T cell immunity. **Nature**, v. 601, n. 7894, p. 617-622, 2022. doi: 10.1038/s41586-021-04232-5.

HERREGODS, T. V. *et al.* Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: new understanding in a new era. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 27, n. 9, p. 1202-1213, 2015.

HESTERBERG, R. S.; THORNTON, D. J.; MACNEIL, S. Function of desmoglein-1 in epithelial barrier integrity. **Journal of Cell Science**, v. 128, n. 4, p. 731-740, 2015.

HIRANO, I. Therapeutic approaches to eosinophilic esophagitis. **Gastroenterology & Hepatology**, v. 16, n. 4, p. 186-191, 2020.

HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S *et al.* SARS-CoV-2 Cell entry depends on aCE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **Cell**. 2020;181(2):271–80.e8.

HOLFORD, P.; LEPPKES, M.; SCHÖNRICH, G. The role of ROS in airway inflammation during COVID-19. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 899198, 2020.

HU, BIYING, SHAOYING HUANG, AND LIANGHONG YIN. "The cytokine storm and COVID-19." **Journal of medical virology** 93.1 (2021): 250-256.

HU, C.; SOUZA, R. F.; SPECHLER, S. J. Potential therapies for gastroesophageal reflux disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 3, p. 139-150, 2017.

HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

HUO, X. *et al.* Hypoxia-inducible factor-2 α plays a role in mediating oesophagitis in GORD. **Gut**, v. 66, n. 9, p. 1542-1554, 2017.

HUO, X.; SOUZA, R. F. Acid burn or cytokine sizzle in the pathogenesis of heartburn? **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 28, n. 3, p. 385, 2013.

HURTADO, C. *et al.* Neurologic manifestations of Long COVID in Colombia: a comparative analysis of post-hospitalization vs. non-hospitalized patients. **Front Hum Neurosci**, [s. l.], p. 1450110–1450110, 2024.

IOSEF, C. *et al.* Plasma proteome of Long-COVID patients indicates HIF-mediated vasculo-proliferative disease with impact on brain and heart function. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 377, 2023.

ISEYEVA, Y. A.; BYKOV, V. L. Morpho-functional analysis of defense mechanisms of esophageal mucosa. **Morphology**, v. 155, n. 2, p. 134-135, 2019.

ISOMOTO, HAJIME, et al. "Enhanced expression of interleukin-8 and activation of nuclear factor kappa-B in endoscopy-negative gastroesophageal reflux disease." **Official journal of the American College of Gastroenterology**| *ACG* 99.4 (2004): 589-597.

IULIANO, M. *et al.* Dysregulated Inflammatory Cytokine Levels May Be Useful Markers in a Better Up-Dated Management of COVID-19. **Curr Issues Mol Biol**, [s. l.], p. 8890–8902, 2024.

JALEEL, A. *et al.* Interplay of interleukins (IL6, IL10) and 25 hydroxycholecalciferols in asthmatic subjects with chronic post-COVID condition (PCC). **Tropical Biomedicine**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 70–77, 2024.

JATIYA, L. *et al.* Autonomic Imbalance and Elevated Inflammatory Cytokines in Long COVID: A Cross-Sectional Study. **Cureus**, [s. l.], p. e66971–e66971, 2024.

JOSHEE, S.; VATTI, N.; CHANG, C. Long-Term Effects of COVID-19. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 97, n. 5, p. 917-930, 2022. doi: 10.1016/j.mayocp.2021.12.017.

JOVOV, B. *et al.* Role of E-cadherin in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. **American Journal of Gastroenterology**, v. 106, n. 6, p. 1039-1047, 2011.

KAHRILAS, P. J.; BOECKXSTAENS, G. E. The esophagogastric junction. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 17, p. 1570-1578, 2013. doi: 10.1056/NEJMra1209198.

KAHRILAS, P. J.; PANDOLFINO, J. E. Esophagogastric junction function. **Gastroenterology**, v. 153, n. 3, p. 673-683, 2017.

KANDULSKI, ARNE, *et al.* "Proteinase-activated receptor-2 in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease." **Official journal of the American College of Gastroenterology**| *ACG* 105.9 (2010): 1934-1943.

KAPADIA, M. R.; GOYAL, R. K.; ZHUANG, F. Esophageal motor functions and their disorders. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 6, p. 605-616, 2019.

KARACHALIOU, M. *et al.* Antibody responses to common viruses according to COVID-19 severity and postacute sequelae of COVID-19. **J Med Virol**, [s. l.], p. e29862–e29862, 2024.

KATZ, P. O.; GEORGE, R.; TALLY, N. Gastroesophageal reflux disease: the importance of the relationship between symptoms and endoscopic findings in the diagnosis of reflux esophagitis. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 29, n. 4, p. 432-439, 2013.

KATZKA, D. A. *et al.* Esophageal epithelial barrier integrity and implications for disease. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 9, p. 823-832, 2016. doi: 10.1056/NEJMoa1603042.

KATZKA, D. A. Gastroesophageal reflux disease and proton pump inhibitor therapy. **Medical Clinics of North America**, v. 100, n. 1, p. 193-206, 2016. doi: 10.1016/j.mcna.2015.08.009.

KENNY, G. *et al.* Long COVID: Clinical characteristics, proposed pathogenesis and potential therapeutic targets. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 10, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/molecular-biosciences/articles/10.3389/fmolb.2023.1157651/full>. Acesso em: 20 set. 2024.

KHOJA, O. *et al.* Clinical Characterization of New-Onset Chronic Musculoskeletal Pain in Long COVID: A Cross-Sectional Study. **J Pain Res**, [s. l.], p. 2531–2550, 2024.

KIM, D. Y. *et al.* Epithelial Claudin Proteins and Their Role in Gastrointestinal Diseases. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 68, n. 5, p. 611–614, 2019.

KIM, J. J. *et al.* Comparison of tight junction protein-related gene mRNA expression levels between male and female gastroesophageal reflux disease patients. **Gut and Liver**, v. 12, n. 4, p. 411, 2018.

KOONER, H. K. *et al.* Chest CT Airway and Vascular Measurements in Females with COPD or Long-COVID. **COPD**, [s. l.], p. 2394129–2394129, 2024.

KRATZER, B. *et al.* Differential decline of SARS-CoV-2-specific antibody levels, innate and adaptive immune cells, and shift of Th1/inflammatory to Th2 serum cytokine levels long after first COVID-19. **Allergy**, [s. l.], p. 2482–2501, 2024.

KRIEGER, D. R.; CROWE, S. E.; PANDOL, S. J. Gastroesophageal reflux disease and the epithelial barrier. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 61, n. 10, p. 2756-2764, 2016.

KULICH, KÁROLY R., *et al.* "Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: a six-country study." **Health and quality of life outcomes** 6 (2008): 1-12.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9. ed. Philadelphia: **Elsevier**, 2015.

KUSANO, M. *et al.* Gastrointestinal motility and functional gastrointestinal diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 16, p. 2775-2782, 2014.

LAGERGREN, J. *et al.* Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 11, p. 825-831, 2010. doi: 10.1056/NEJM199903183401101.

LAI, J. *et al.* Psychological Impact of COVID-19 on Hospital Workers in Hubei, China: A Cross-Sectional Survey. **General Psychiatry**, v. 33, n. 3, 2020, e100259.

LAMERS MM, BEUMER J, VAN DER VAART J et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. **Science**. 2020;369(6499):50–4.

LANDY, R. *et al.* Real-world implementation of non-endoscopic triage testing for Barrett's oesophagus during COVID-19. **QJM**, [s. l.], p. 659–666, 2023.

LAUER, S. A. *et al.* The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. **Annals of Internal Medicine**, v. 172, n. 9, p. 577-582, 2020. doi: 10.7326/M20-0504.

LECHIEN, J. R. *et al.* Clinical and epidemiological characteristics of 1420 European patients with mild-to-moderate coronavirus disease 2019. **Journal of Internal Medicine**, v. 288, n. 3, p. 335-344, 2021. doi: 10.1111/joim.13089.

LECHIEN, J. R. *et al.* Impact of COVID-19 on esophageal barrier function and associated gastrointestinal symptoms. **American Journal of Gastroenterology**, v. 116, n. 1, p. 49-56, 2021. doi: 10.14309/ajg.0000000000000990.

LECHNER-SCOTT, J. *et al.* Long COVID or post COVID-19 syndrome. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 55, 2021, 103268. doi: 10.1016/j.msard.2021.103268.

LEE, K. *et al.* Long-term gastrointestinal and hepatobiliary outcomes of COVID-19: a nationwide cohort study from South Korea, Japan, and the UK. **Clin Mol Hepatol**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3350/cmh.2024.0203>. Acesso em: 20 set. 2024.

LEE, M. *et al.* Gastrocnemius electrical stimulation increases ankle dorsiflexion strength in patients with post-acute sequelae of SARS-COV-2 (PASC): a double-blind randomized controlled trial. **Sci Rep**, [s. l.], p. 17939–17939, 2024.

LEE, Y.-R. *et al.* A nonadjuvanted HLA-restricted peptide vaccine induced both T and B cell immunity against SARS-CoV-2 spike protein. **Sci Rep**, [s. l.], p. 20579–20579, 2024.

LHUILIER, E. *et al.* The Impact of World Trade Center Related Medical Conditions on the Severity of COVID-19 Disease and Its Long-Term Sequelae. **Int J Environ Res Public Health**, [s. l.], 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9222715>. Acesso em: 20 set. 2024.

LI, J.; YAO, J.; YANG, Z. Effects of Maternal SARS-CoV-2 Infection During Pregnancy on Fetal Development. **Am J Reprod Immunol**, [s. l.], p. e13911–e13911, 2024.

LI, L.Y.; WU, W.; CHEN, S.; Digestive system involvement of novel coronavirus infection: Prevention and control infection from a gastroenterology perspective. **J Dig Dis**. v. 21, p. 199–204, 2020.

LI, T. *et al.* Cytokine storm and translating IL-6 biology into effective treatments for COVID-19. **Frontiers of Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. 1080–1095, 2023.

LIN, L. *et al.* Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. **Gastroenterology**, v. 158, n. 1, p. 229-233, 2020.

LING Y, XU SB, LIN YX ET AL. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. **Chin Med J (Engl)**. 2020;133(9):1039–43.

LIPPI, G.; SANCHIS-GOMAR, F.; HENRY, B. M. COVID-19 and its long-term sequelae: what do we know in 2023? **Polish Archives of Internal Medicine**, v. 133, n. 4, 2023. doi: 10.20452/pamw.16402.

LIU, F. *et al.* ACE2 expression in the gastrointestinal tract: Implications for pathogenesis and treatment of COVID-19. **Gastroenterology**, v. 159, n. 3, p. 1141-1144, 2020.

LIU, X. *et al.* Association between IL-6 and severe disease and mortality in COVID-19 disease: a systematic review and meta-analysis. **Postgraduate Medical Journal**, [s. l.], v. 98, n. 1165, p. 871–879, 2022.

LIU, Y.; QIN, N. TRPM8 in Health and Disease: Cold Sensing and Beyond. In: ISLAM, Md. S. (org.). **Transient Receptor Potential Channels**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2011. p. 185–208. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-007-0265-3_10. Acesso em: 20 set. 2024.

LIU, YILI, *et al.* "An inter-correlated cytokine network identified at the center of cytokine storm predicted COVID-19 prognosis." *Cytokine* 138 (2021): 155365.

LIVANOS, ALEXANDRA E., et al. "Intestinal host response to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 outcomes in patients with gastrointestinal symptoms." **Gastroenterology** 160.7 (2021): 2435-2450.

MA, Y. *et al.* Risks of digestive diseases in long COVID: evidence from a population-based cohort study. **BMC Med**, [s. l.], p. 14–14, 2024.

MANGANOTTI, P. *et al.* Cerebrospinal fluid and serum interleukins 6 and 8 during the acute and recovery phase in COVID-19 neuropathy patients. **Journal of Medical Virology**, [s. l.], v. 93, n. 9, p. 5432–5437, 2021.

MAO, R. *et al.* Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 5, n. 7, p. 667-678, 2020. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30126-6.

MARASCO, G. *et al.* Prevalence of gastrointestinal symptoms in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: results of the prospective controlled multinational GI-COVID-19 study. **American Journal of Gastroenterology**, v. 117, n. 1, p. 147-157, 2022. doi: 10.14309/ajg.0000000000001541.

MARDI, A. *et al.* Interleukin-1 in COVID-19 Infection: Immunopathogenesis and Possible Therapeutic Perspective. **Viral Immunology**, [s. l.], v. 34, n. 10, p. 679–688, 2021.

MARJOT, T. *et al.* COVID-19 and liver disease: mechanistic and clinical perspectives. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 18, n. 5, p. 348-364, 2021. doi: 10.1038/s41575-021-00426-4.

MARZOOG, B. A. Gastrointestinal Tract and Kidney Injury Pathogenesis in Post-COVID-19 Syndrome. **Current diabetes reviews**, v. 20, n. 4, p. e051023221787, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0115733998250889230919185305>.

MATTILA, P.; DEGLER, B. The physiology of swallowing: A primer for nurses. **The American Journal of Nursing**, v. 115, n. 7, p. 26-33, 2015.

MATTIOLI, L. B. *et al.* Long COVID-19 gastrointestinal related disorders and traditional Chinese medicine: A network target-based approach. **Phytother Res**, [s. l.], p. 2323–2346, 2024.

MCMILLAN, P.; TURNER, A. J.; UHAL, B. D. Mechanisms of Gut-Related Viral Persistence in Long COVID. **Viruses**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11360392>. Acesso em: 20 set. 2024.

MEHROTRA-VARMA, S. *et al.* Patients with type 1 diabetes are at elevated risk of developing new hypertension, chronic kidney disease and diabetic ketoacidosis after COVID-19: Up to 40 months' follow-up. **Diabetes ObesMetab**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1111/dom.15900>. Acesso em: 20 set. 2024.

MENDIOLA-SALAZAR, X.A. *et al.* A proteína spike SARS-CoV-2 aumenta a atividade da carboxipeptidase da enzima conversora de angiotensina 2. **Int J Mol Sci**. 2024; 25(11):6276. Publicado em 6 de junho de 2024. DOI:10.3390/ijms25116276

MERINGER, H.; WANG, A.; MEHANDRU, S. The Pathogenesis of Gastrointestinal, Hepatic, and Pancreatic Injury in Acute and Long Coronavirus Disease 2019 Infection. **Gastroenterol Clin North Am**, [s. l.], p. 1–11, 2023.

METZ, T. D. *et al.* Post-Acute Sequelae of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) After Infection During Pregnancy. **ObstetGynecol**, [s. l.], p. 411–420, 2024.

MIYAH, Y. *et al.* COVID-19 Impact on Public Health, Environment, Human Psychology, Global Socioeconomy, and Education. **The Scientific World Journal**, 2022. doi: 10.1155/2022/5578284.

MIYOSHI, J., *et al.* (2019). Claudin-2 and its role in the regulation of epithelial permeability in inflammatory diseases. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 20(8), 459-470.

MOHAMMED, I. *et al.* Risk factors for gastro-oesophageal reflux disease symptoms: a community study. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 21, n. 7, p. 821-827, 2005.

MOHAMMED, IBRAHIM, et al. "Gastrointestinal Sequelae of COVID-19: Investigating Post-Infection Complications—A Systematic Review." **Viruses** 16.10 (2024): 1516.

MOLNAR, T. *et al.* Mitochondrial dysfunction in long COVID: mechanisms, consequences, and potential therapeutic approaches. **GeroScience**, [s. l.], v. 46, n. 5, p. 5267–5286, 2024.

MÖNKEMÜLLER, K. *et al.* Role of tight junction proteins in gastroesophageal reflux disease. **BMC Gastroenterology**, v. 12, p. 128, 2012.

MONTAZERSAHEB, S. *et al.* COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions. **Virology Journal**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 92, 2022.

MORENO-CORONA, N. C. *et al.* Dynamics of the Microbiota and Its Relationship with Post-COVID-19 Syndrome. **Int J Mol Sci**, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10573029>. Acesso em: 20 set. 2024.

MOUNI, O. *et al.* Impact of the COVID-19 pandemic on digestive cancer staging, a case series. **Ann Med Surg (Lond)**, [s. l.], p. 104471–104471, 2022.

MOUSAVIZADEH, L. *et al.* The Relation of the Viral Structure of SARS-CoV-2, High-Risk Condition, and Plasma Levels of IL-4, IL-10, and IL-15 in COVID-19 Patients Compared to SARS and MERS Infections. **Current Molecular Medicine**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 584–593, 2022.

MOYO, E. *et al.* Risk factors and clinical presentations of long COVID in Africa: A scoping review. **J Infect Public Health**, [s. l.], p. 1982–1988, 2023.

MULLEN, J. T. *et al.* Management of reflux esophagitis in patients with COVID-19: A multicenter retrospective study. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 54, n. 9, p. 809–815, 2020.

MULLIN, J. M. *et al.* Transepithelial leak in Barrett's esophagus. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 51, n. 12, p. 2326–2336, 2006. doi: 10.1007/s10620-006-9478-5.

MUSSABAY, K. *et al.* Gut Microbiome and Cytokine Profiles in Post-COVID Syndrome. **Viruses**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11126011>. Acesso em: 20 set. 2024.

MWANGI, J.; SIEGELMAN, J. N. Long-Term Effects of COVID-19: The Stories of 2 Physicians Who Became Patients. **Top Antivir Med**, [s. l.], p. 431–436, 2024.

NALBANDIAN, A. *et al.* Post-acute COVID-19 syndrome. **Nature Medicine**, v. 27, n. 4, p. 601–615, 2021. doi: 10.1038/s41591-021-01283-z.

NDORICYIMPAYE, E. L. *et al.* Cytokine Kinetics during Progression of COVID-19 in Rwanda Patients: Could IL-9/IFN γ Ratio Predict Disease Severity?. **Int J Mol Sci**, [s. l.],

2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10418469>. Acesso em: 20 set. 2024.

NETTER, F. H. Atlas of Human Anatomy. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2014.

NEWBERRY, C.; LYNCH, K. Can we use diet to effectively treat esophageal disease? A review of the current literature. **Current Gastroenterology Reports**, v. 19, n. 8, p. 38, 2017.

NICOLA, M. *et al.* The socio-economic implications of the coronavirus pandemic (COVID-19): A review. **International Journal of Surgery**, v. 78, p. 185-193, 2020. doi: 10.1016/j.ijssu.2020.04.018.

NISHIDA, T., *et al.* (2019). Hypoxia and inflammation: Roles in chronic diseases. **Frontiers in Immunology**, 10, 1249.

NOVIELLO, D. *et al.* Functional gastrointestinal and somatoform symptoms five months after SARS-CoV-2 infection: A controlled cohort study. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 33, n. 9, 2021. doi: 10.1111/nmo.14187.

NOVIELLO, D. *et al.* Gastrointestinal and liver involvement in SARS-CoV-2 infection: A systematic review. **Gastroenterology**, v. 160, n. 5, p. 1841-1855, 2021.

ODA, Y. *et al.* Immunogenicity and safety of a booster dose of a self-amplifying RNA COVID-19 vaccine (ARCT-154) versus BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine: a double-blind, multicentre, randomised, controlled, phase 3, non-inferiority trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 24, n. 4, p. 351-360, 2024. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00650-3.

OH, D. S. *et al.* Therapeutic interventions to restore esophageal barrier integrity in patients with gastroesophageal reflux disease. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, 2018. doi: 10.1038/s41467-018-06739-2.

ONG, J. S. *et al.* Assessing the genetic relationship between gastro-esophageal reflux disease and risk of COVID-19 infection. **Human Molecular Genetics**, v. 31, n. 3, p. 471-480, 2022.

ONG, J. S. *et al.* Impact of COVID-19 on gastrointestinal symptoms. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 37, n. 2, p. 272-279, 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Painel da COVID-19. Recuperado em 20 de junho de 2024, de <https://covid19.who.int/>.

ORLANDO, R. C. Esophageal mucosal defense mechanisms. **GI Motility Online**, 2006.

ORLANDO, R. C. *et al.* Barriers to paracellular permeability in rabbit esophageal epithelium. **Gastroenterology**, v. 102, p. 910-923, 1992.

ORLANDO, R. C. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 42, n. 7, p. 584-588, 2008.

OSTAPCHUK, Y. O. *et al.* Long-term changes in the phenotype and cytokine production of monocytes in COVID-19 recovered and vaccinated individuals. **Infect Immun**, [s. l.], p. e0021624–e0021624, 2024.

OTTESTAD, W.; SEIM, M.; MÆHLEN, J. O. COVID-19 with silent hypoxemia. **Tidsskrift for Den norske legeforening**, 2020.

PAGE, L. *et al.* Antigen-specific T helper cells and cytokine profiles predict intensity and longevity of cellular and humoral responses to SARS-CoV-2 booster vaccination. **Front Immunol**, [s. l.], p. 1423766–1423766, 2024.

PAN, L. *et al.* Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China: a descriptive, cross-sectional, multicenter study. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 115, n. 5, p. 766-773, 2020. doi: 10.14309/ajg.0000000000000620.

PAN, Y. Y. *et al.* Structure Composition and Intracellular Transport of Clathrin-Mediated Intestinal Transmembrane Tight Junction Protein. **Inflammation**, p. 1-17, 2022.

PANTAZI, I. *et al.* SARS-CoV-2/ACE2 interaction suppresses IRAK-M expression and promotes pro-inflammatory cytokine production in macrophages. **Frontiers in Immunology**, 2021. doi: 10.3389/fimmu.2021.683800.

PARIS, S.; SOUZA, R. F. Pathophysiology of Gastroesophageal Reflux Disease: Epithelial Factors. **The Esophagus**, p. 376-393, 2021.

PARUMS, D. V. Long COVID or Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection (PASC) and the Urgent Need to Identify Diagnostic Biomarkers and Risk Factors. **Med Sci Monit**, [s. l.], p. e946512–e946512, 2024.

PASSOS, F. R.; SANTOS, L.; MONTEIRO, B.; SOUZA, A. Oxidative stress and inflammatory markers in patients with COVID-19: Potential role in disease severity. **International Immunopharmacology**, v. 104, p. 108502, 2022.

PATEL, D.; FASS, R.; VAEZI, M. Untangling Nonerosive reflux disease from functional heartburn. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v. 19, n. 7, p. 1314-1326, 2021.

PATTERSON, B. K. *et al.* Long COVID diagnostic with differentiation from chronic lyme disease using machine learning and cytokine hubs. **Sci Rep**, [s. l.], p. 19743–19743, 2024.

PELAIA, CORRADO, et al. "Lung under attack by COVID-19-induced cytokine storm: pathogenic mechanisms and therapeutic implications." **Therapeutic advances in respiratory disease** 14 (2020): 1753466620933508.

PHEN, S. M. *et al.* Prevalence and risk factors of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC) among veterans in the airborne hazards and open burn pit registry: a prospective, observational, nested study. **BMC Infect Dis**, [s. l.], p. 846–846, 2024.

POLACK, F. P. *et al.* Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 27, p. 2603-2615, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2034577.

POULSEN, S. S. *et al.* Epithelial cell junctions and bacterial translocation in the esophagus. **Gastroenterology**, v. 147, n. 3, p. 583-594, 2014.

PRASAD, S. *et al.* Inflammatory processes have differential effects on claudins 2, 3 and 4 in colonic epithelial cells. *Laboratory Investigation*, v. 85, n. 9, p. 1139-1162, 2005. PREISER, J. Oxidative stress in viral infections: implications for pathogenesis and therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 19, p. 14876, 2012.

QUEIROZ, M. A. F. *et al.* Cytokine Profiles Associated With Acute COVID-19 and Long COVID-19 Syndrome. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 12, p. 922422, 2022.

RA, S. H. *et al.* Viral, Immunologic, and Laboratory Parameters in Patients With and Without Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection (PASC). **J Korean Med Sci**, [s. l.], p. e237–e237, 2024.

RAFIEE, PARVANEH, *et al.* "Effect of curcumin on acidic pH-induced expression of IL-6 and IL-8 in human esophageal epithelial cells (HET-1A): role of PKC, MAPKs, and NF- κ B." **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology** 296.2 (2009): G388-G398

RANNEY, M. L. *et al.* Critical supply shortages—the need for ventilators and personal protective equipment during the Covid-19 pandemic. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 18, e41, 2020. doi: 10.1056/NEJMp2006141.

RAVEENDRAN, A. V., RAJEEV JAYADEVAN, AND S. SASHIDHARAN. "Long COVID: an overview." **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews** 15.3 (2021): 869-875.

RAZAGHI, ALI, *et al.* "Proteomic analysis of pleural effusions from COVID-19 deceased patients: Enhanced inflammatory markers." **Diagnostics** 12.11 (2022): 2789.

REN, X. COVID-19 and gastrointestinal symptoms: recognizing the link and implications for the gastroenterologist. **Clinical Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 3, p. 343-345, 2020.

RENDON-HUERTA, E. *et al.* Comparison of three integral tight junction barrier proteins in Barrett's epithelium versus normal esophageal epithelium. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 98, n. 8, p. 1901-1903, 2003.

RICHTER, Joel E.; FRIEDENBERG, Frank K. Practical Manual of Gastroesophageal Reflux Disease. 1. ed. **Wiley-Blackwell**, 2012. Cap. 43

RICHENS, J. L. *et al.* Quantitative validation and comparison of multiplex cytokine kits. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 15, n. 5, p. 562-568, 2010.

RIEPL, R. L. *et al.* Esophageal motor functions and their disorders: an overview. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 140, n. 45, p. 2178-2183, 2015.

ROBERTON, T. *et al.* Early estimates of the indirect effects of the COVID-19 pandemic on maternal and child mortality in low-income and middle-income countries: a modelling study. **The Lancet Global Health**, v. 8, n. 7, p. e901-e908, 2020.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J.; ROMANÍ, L.; FIGUEROA, D. A. COVID-19 and the impact on gastrointestinal barriers. **Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo**, v. 15, n. 2, p. 28-34, 2022.

ROSA-SOUZA, F. J. *et al.* Association of physical symptoms with accelerometer-measured movement behaviors and functional capacity in individuals with Long COVID. **Sci Rep**, [s. l.], p. 20652–20652, 2024.

ROSELLI, M.; DE LUCA, A.; PELLEGRINI, N. Role of the epithelial barrier in the gut health. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 1, p. 15-24, 2018.

ROSENTHAL, R. *et al.* Claudin-2, a component of the tight junction, forms a paracellular water channel. **Journal of Cell Science**, v. 123, p. 1913-1921, 2010.

ROSETTI, F.; ZHU, R.; STAMPER, B. L. Tight junctions in the esophagus: Role in epithelial barrier function. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 311, n. 1, p. G17-G26, 2016.

ROWNTREE, L. C. *et al.* SARS-CoV-2-specific CD8⁺ T cells from people with long COVID establish and maintain effector phenotype and key TCR signatures over 2 years. **Proc Natl Acad Sci U S A**, [s. l.], p. e2411428121–e2411428121, 2024.

SADOWSKI, J. *et al.* Cognitive dysfunctions in the course of SARS-CoV-2 virus infection, including NeuroCOVID, frontal syndrome and cytokine storm (Review). **Biomed Rep**, [s. l.], p. 103–103, 2024.

SAMO, S. *et al.* Rapid Development of Achalasia After SARS-CoV-2 Infection: Polymerase Chain Reaction Analysis of Esophageal Muscle Tissue. **Am J Gastroenterol**, [s. l.], p. 987–990, 2024.

SÁNCHEZ-MENÉNDEZ, C. *et al.* Different polarization and functionality of CD4⁺ T helper subsets in people with post-COVID condition. **Front Immunol**, [s. l.], p. 1431411–1431411, 2024.

SANDAL, S. *et al.* A histopathological view at the long-term effects of COVID-19 on the gastrointestinal system in children: a single center experience. **Turk J Pediatr**, [s. l.], p. 416–424, 2023.

SANTACROCE, L. *et al.* Neurosensory Alterations and Interleukins Cascade in SARS-CoV-2 Infection - Results from a Retrospective Cohort of COVID-19 Inpatients. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets**, [s. l.], v. 23, n. 9, p. 1162–1172, 2023.

SANTOS PASSOS, F.; HEIMFARTH, L.; MONTEIRO, B. S.; SOUZA, A. Inflammatory pathways involved in post-COVID-19 gastrointestinal complications. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 15, n. 3, p. 104-110, 2022.

SANTOS PASSOS, F.; HEIMFARTH, L.; MONTEIRO, B. S.; SOUZA, A. Inflammatory pathways involved in post-COVID-19 gastrointestinal complications. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 15, n. 3, p. 104-110, 2022.

SAXENA, A.; MAUTNER, J. A Disease Hidden in Plain Sight: Pathways and Mechanisms of Neurological Complications of Post-acute Sequelae of COVID-19 (NC-PASC). **Mol Neurobiol**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1007/s12035-024-04421-z>. Acesso em: 20 set. 2024.

SCHLINGMANN, S. J. *et al.* Claudins and their role in epithelial permeability and inflammation. **Journal of Cell Science**, v. 132, n. 21, p. jcs230825, 2019.

SCHLINGMANN, S. J. *et al.* Mechanisms of Claudin-2 overexpression in intestinal inflammation and implications for disease therapy. **Gastroenterology**, v. 160, n. 4, p. 1171-1183, 2021.

SCHUMANN, D. M. *et al.* Claudin-3 and claudin-4 in epithelial homeostasis and gastrointestinal diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 69, n. 3, p. 3035-3058, 2012. SCHWARTZ, S. *et al.* Achalasia: Updated guidelines for diagnosis and treatment. **Current Problems in Diagnostic Radiology**, v. 48, n. 1, p. 1-8, 2019.

SEGNERI, L. *et al.* Too much focus on your health might be bad for your health: Reddit user's communication style predicts their Long COVID likelihood. **PLoS One**, [s. l.], p. e0308340–e0308340, 2024.

SHABIL, M. *et al.* Effectiveness of early Anakinra on cardiac function in children with multisystem inflammatory syndrome of COVID-19: a systematic review. **BMC Infect Dis**, [s. l.], p. 847–847, 2024.

SHAH, A.; BLAKER, P.; SHAH, S.; JAMES, D. Gastric and esophageal disorders. **Medicine**, v. 46, n. 4, p. 185-192, 2018.

SHAHEEN, N. J.; RICHTER, J. E. Barrett's oesophagus. **The Lancet**, v. 373, p. 850-861, 2009.

SHANG J, WAN Y, LUO C *et al.* Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2020;117(21):11727–34.

SHAW, M. *et al.* Initial validation of a diagnostic questionnaire for gastroesophageal reflux disease. **American Journal of Gastroenterology**, v. 96, p. 52-57, 2001.

SHERIF, Zaki A *et al.* Pathogenic mechanisms of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC). **eLife**, [s. l.], v. 12, p. e86002, 2023.

SHERIF, Zaki A. *et al.* Potential long-term neurological and gastrointestinal effects of COVID-19: A review of adult cohorts. **World J Methodol**, [s. l.], p. 323–336, 2023.

SHUKLA, A. K. *et al.* An observational multi-centric COVID-19 sequelae study among health care workers. **Lancet Reg Health Southeast Asia**, [s. l.], p. 100129–100129, 2023.

SHWEIKEH, F. *et al.* COVID-19 and Its Sequelae Masquerading as Gastrointestinal Ailments: A Report of Gastroesophageal Reflux Disease (GERD) and Review of Recent Cases. **Cureus**, [s. l.], p. e57617–e57617, 2024.

SILVA, M. M. da *et al.* Prevalence of symptoms of post-COVID-19 condition (long COVID) in children hospitalized with COVID-19: A systematic review of observational studies. **PediatrPulmonol**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1002/ppul.27257>. Acesso em: 20 set. 2024.

SILVA, RENAN O., et al. "A novel murine model of esophageal nonerosive reflux disease: from inflammation to impairment in mucosal integrity." **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology** 312.6 (2017): G658-G665.

SLATER, B. J. *et al.* Multi-society consensus conference and guideline on the treatment of gastroesophageal reflux disease (GERD). **Surgical Endoscopy**, v. 37, p. 781-806, 2023. doi: 10.1007/s00464-022-09817-3.

SMITH, A. A.; FRIDLING, J.; IBRAHIM, S. COVID-19 and comorbidities: a review of the evidence. **Reviews in Medical Virology**, v. 30, n. 3, e2137, 2020.

SOUQUETTE, A. *et al.* Establishing thresholds for cytokine storm and defining their relationship to disease severity in respiratory viral infections. **bioRxiv**, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10350055>. Acesso em: 20 set. 2024.

SOUSA, M. *et al.* Gastrointestinal reflux disease: Role of tight junction proteins. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 62, n. 8, p. 2125-2131, 2017.

SOUZA, R. F. *et al.* A new paradigm for GERD pathogenesis. Not acid injury, but cytokine-mediated inflammation driven by HIF-2 α : a potential role for targeting HIF2 α to prevent and treat reflux esophagitis. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 93-99, 2017.

SOUZA, R. F. *et al.* Gastroesophageal reflux disease: A critical overview of pathogenesis, pathophysiology, and clinical implications. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 13, n. 5, p. 276-287, 2016.

SOUZA, R. F. *et al.* Gastroesophageal reflux might cause esophagitis through a cytokine-mediated mechanism rather than caustic acid injury. **Gastroenterology**, v. 137, n. 5, p. 1776-1784, 2009.

SOUZA, R. F. *et al.* Mechanisms of esophageal epithelial barrier dysfunction in gastroesophageal reflux disease. **Gastroenterology**, v. 158, n. 4, p. 846-857, 2020. doi: 10.1053/j.gastro.2020.01.023.

SOUZA, R. F. Reflux esophagitis and its role in the pathogenesis of Barrett's metaplasia. **Journal of Gastroenterology**, v. 52, n. 7, p. 767-776, 2017.

SOUZA, R. F.; SPECHLER, S. J. Concepts in the pathogenesis of GERD: The transition from reflux esophagitis to Barrett's esophagus. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 1, n. 1, p. 46-54, 2016.

SOY, M. *et al.* Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. **Clinical Rheumatology**, v. 39, n. 7, p. 2085-2094, 2020. doi: 10.1007/s10067-020-05190-5.

SPECHLER, S. J.; SOUZA, R. F. Barrett's Esophagus. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 9, p. 836-845, 2014. doi: 10.1056/nejmra1314704.

SUH, E. H. *et al.* Crisis clinical pathway for COVID-19. **Emergency Medicine Journal**, v. 37, n. 11, p. 700-704, 2020. doi: 10.1136/emmermed-2020-209933.

TAJER, C. *et al.* Analysis of long COVID in health personnel: comparing gender and work factors. **Medicina (B Aires)**, [s. l.], p. 605–618, 2024.

TAKAHASHI, K.; NAKAMURA, T.; ITOH, M. Regulation of epithelial junctions by phosphorylation: a clinical perspective. **Cell Communication and Adhesion**, v. 19, n. 4, p. 62-72, 2012.

TANDON, P. *et al.* Unraveling Links between Chronic Inflammation and Long COVID: Workshop Report. **The Journal of Immunology**, [s. l.], v. 212, n. 4, p. 505–512, 2024.

TAYLOR, J. V.; CALLERY, E. L.; ROWBOTTOM, A. Optimisation of SARS-CoV-2 peptide stimulation and measurement of cytokine output by intracellular flow cytometry and bio-plex analysis. **J Immunol Methods**, [s. l.], p. 113556–113556, 2023.

TELENTI, A.; HODCROFT, E. B.; ROBERTSON, D. L. The evolution and biology of SARS-CoV-2 variants. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 12, n. 5, 2022. doi: 10.1101/cshperspect.a041390.

TEODORO, A. G. F. *et al.* Inflammatory Response and Activation of Coagulation after COVID-19 Infection. **Viruses**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 938, 2023.

THANGARAJAH, H. *et al.* Gastric H-K-ATPase and acid-resistant surface proteins. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 282, p. G953-G961, 2002.

THIERRY, A. R.; SALMON, D. Inflammation-, immunothrombosis-, and autoimmune-feedback loops may lead to persistent neutrophil self-stimulation in long COVID. **J Med Virol**, [s. l.], p. e29887–e29887, 2024.

THOMAS, C. *et al.* Blood Biomarkers of Long COVID: A Systematic Review. **Molecular Diagnosis & Therapy**, [s. l.], v. 28, n. 5, p. 537–574, 2024.

THRIFT, A. P.; WHITEMAN, D. C. The incidence of esophageal adenocarcinoma continues to rise: analysis of period and birth cohort effects on recent trends. **Annals of Oncology**, v. 23, p. 3155-3162, 2012.

TIAN S, XIONG Y, LIU H *et al.* Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. **Mod Pathol**. 2020;33(6):1007–14.

TOBEY, N. A. *et al.* Effect of luminal acidity on the apical cation channel in rabbit esophageal epithelium. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 292, n. 3, p. G796-G805, 2007.

TOBEY, N. A. *et al.* The role of pepsin in acid injury to esophageal epithelium. **American Journal of Gastroenterology**, v. 96, p. 3062-3070, 2001.

TSAI, T.-Y. *et al.* Exacerbated gastrointestinal symptoms and long COVID in IBD patients with SARS-CoV-2 infection: A multi-center study from taiwan. **J Formos Med Assoc**, [s. l.], p. 866–874, 2024.

UMAKANTHAN, S. *et al.* Post-Acute Sequelae of Covid-19: A System-wise Approach on the Effects of Long-Covid-19. **Am J Med Open**, [s. l.], p. 100071–100071, 2024.

USAI SATTA, P. *et al.* Overview of pathophysiological features of GERD. **Minerva Gastroenterology and Dietology**, v. 63, n. 3, p. 184-197, 2017.

USTAOGLU, A.; WOODLAND, P. Sensory Phenotype of the Oesophageal Mucosa in Gastro-Oesophageal Reflux Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 2502, 2023.

VABRET, N. *et al.* Advancing scientific knowledge in times of pandemics. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, p. 338, 2020.

VAEZI, M. F.; PANDOLFINO, J. E.; VELA, M. F. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Achalasia. **American Journal of Gastroenterology**, v. 112, n. 8, p. 1301-1313, 2017. doi: 10.1038/ajg.2017.179.

- VAKIL, N. *et al.* The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. **American Journal of Gastroenterology**, v. 101, n. 8, p. 1900-1920, 2006. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00630.x.
- VALDIVIESO-MARTINEZ, B. *et al.* Impact of Long SARS-CoV-2 Omicron Infection on the Health Care Burden: Comparative Case-Control Study Between Omicron and Pre-Omicron Waves. **JMIR Public Health Surveill**, [s. l.], p. e53580–e53580, 2024.
- VANDERHEIDEN, A.; DIAMOND, M. S. Animal models of non-respiratory post-acute sequelae of COVID-19. **Virus**, v. 17, n. 1, p. 98, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v17010098>.
- VEERDONK, V. D.; LEO, F. COVID-19 Pneumonia and Cytokine Storm Syndrome. **Adv Exp Med Biol**, [s. l.], p. 307–319, 2024.
- VENUGOPAL, S. *et al.* Claudin-2: Papéis além das funções de permeabilidade. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 22, 5655, 2019. doi: 10.3390/ijms20225655.
- VIDYASAGAR, SADASIVAN, AND GORDON MACGREGOR. "Ussing chamber technique to measure intestinal epithelial permeability." **Gastrointestinal Physiology and Diseases: Methods and Protocols** (2016): 49-61.
- VILLAPOL, S. Gastrointestinal symptoms associated with COVID-19: impact on the gut microbiome. **Translational Research**, v. 226, p. 57-69, 2020. doi: 10.1016/j.trsl.2020.08.004.
- VINDEGAARD, N.; BENROS, M. E. COVID-19 pandemic and mental health consequences: systematic review of the current evidence. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 89, p. 531-542, 2020. doi: 10.1016/j.bbi.2020.05.048.
- VOLLBRACHT, C.; KRAFT, K. Oxidative stress and hyperinflammation as major drivers of severe COVID-19 and Long COVID. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 899198, 2022
- WALLS, A. C. *et al.* Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 281-292, 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
- WALSH, E. E. *et al.* Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 25, p. 2439-2450, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2027906.
- WANG, JIAJIA, *et al.* "Specific cytokines in the inflammatory cytokine storm of patients with COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome and extrapulmonary multiple-organ dysfunction." *Virology journal* 18.1 (2021): 117.
- WANG, P. *et al.* Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. **Nature**, v. 593, n. 7857, p. 130-135, 2020. doi: 10.1038/s41586-021-03398-2.

WANG, Y. *et al.* Disruption of the esophageal epithelial barrier in patients with COVID-19. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 35, n. 9, p. 1428-1431, 2020.

WANG, Y. *et al.* Cerebral blood flow alterations and host genetic association in individuals with long COVID: A transcriptomic-neuroimaging study. **J Cereb Blood Flow Metab**, [s. l.], p. 271678X241277621-271678X241277621, 2024.

WANG, Y., *et al.* (2018). Tight junctions in epithelial cells: regulation and role in disease. **Journal of Cell Science**, 131(4), 1-10.

WECHSLER, J. B. *et al.* Somatic, emotional, and gastrointestinal symptom severity are increased among children and adolescents with COVID-19. **NeurogastroenterolMotil**, [s. l.], p. e14909–e14909, 2024.

WEI, J. *et al.* Genome-wide CRISPR screens reveal host factors critical for SARS-CoV-2 infection. **Cell**, v. 184, n. 1, p. 76-91.e13, 2021. doi: 10.1016/j.cell.2020.10.028.

WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. **Lancet Infect Dis**. 2020 Aug;20(8):e192-e197. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30483-7. Epub 2020 Jun 12. Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2020 Oct;20(10):e250. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30637-X.

WILLET, S. G.; MILLS, J. C. Stomach organ and cell lineage differentiation: from embryogenesis to adult homeostasis. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, v. 2, n. 5, p. 546-559, 2016.

WILSON, K. T.; BECK, P. L.; PANTANO, C. Cytokine-mediated inflammation driven by HIF-2 α : a potential role for targeting HIF2 α to prevent and treat reflux esophagitis. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 93-99, 2017.

WÖLFEL, EVA M., *et al.* "Dimorphic mechanisms of fragility in diabetes mellitus: the role of reduced collagen fibril deformation." **Journal of Bone and Mineral Research** 37.11 (2020): 2259-2276.

WOODLAND, P.; SIFRIM, D. Esophageal mucosal integrity in nonerosive reflux disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 48, n. 1, p. 6-12, 2014.

WOODLAND, P.; SIFRIM, D. O. esophageal mucosal barrier: a key factor in the pathophysiology of non-erosive reflux disease (NERD) and a potential target for treatment. **Gut**, v. 63, n. 5, p. 705-706, 2014.

WU, J., *et al.* (2018). Claudin-2 expression as a novel therapeutic target for intestinal inflammation. **Journal of Inflammatory Bowel Diseases**, 24(6), 1324-1335.

WU, K.; VAN NAME, J.; XI, L. Cardiovascular abnormalities of long-COVID syndrome: Pathogenic basis and potential strategy for treatment and rehabilitation. **Sports Med Health Sci**, [s. l.], p. 221–231, 2024.

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, n. 13, p. 1239-1242, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.2648.

WYNBERG, E. *et al.* Inflammatory profiles are associated with long COVID up to 6 months after COVID-19 onset: A prospective cohort study of individuals with mild to critical COVID-19. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 19, n. 7, p. e0304990, 2024.

XIAO F, TANG M, ZHENG X *et al.* Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. **Gastroenterology**. 2020;158(6):1831–3.e3.

XIAO, F. *et al.* Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. **Gastroenterology**, v. 158, n. 6, p. 1831-1833, 2020. doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.055.

XIONG, G. L. *et al.* COVID-19 Transmission in a Psychiatric Long-Term Care Rehabilitation Facility: An Observational Study. **PrimCare Companion CNS Disord**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.4088/PCC.20m02765>. Acesso em: 20 set. 2024.

XU, E.; XIE, Y.; AL-ALY, Z. Long-term gastrointestinal outcomes of COVID-19. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, 2023. doi: 10.1038/s41467-023-36223-7.

XU, Y. *et al.* Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. **Nature Medicine**, v. 26, n. 4, p. 502-505, 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0817-4.

XU, Y.-L. *et al.* Diosmetin-7-O-β-D-glucopyranoside from Pogostemonis Herba alleviated SARS-CoV-2-induced pneumonia by reshaping macrophage polarization and limiting viral replication. **J Ethnopharmacol**, [s. l.], p. 118704–118704, 2025.

XU, Z. *et al.* Excess risks of long COVID symptoms compared with identical symptoms in the general population: A systematic review and meta-analysis of studies with control groups. **J Glob Health**, [s. l.], p. 05022–05022, 2024.

YAGI, K. *et al.* Clinical features of Japanese patients with gastrointestinal long-COVID symptoms. **JGH Open**, [s. l.], p. 998–1002, 2023.

YAO X, LI T, HE Z *et al.* [A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies]. **Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi**. 2020;49(5):411–7.

YIN, J.-X. *et al.* Increased interleukin-6 is associated with long COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Infectious Diseases of Poverty**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 43, 2023.

YOSHIDA, N., *et al.* "Interleukin-8 expression in the esophageal mucosa of patients with gastroesophageal reflux disease." **Scandinavian journal of gastroenterology** 39.9 (2004): 816-822.

YU, X. *et al.* TRP channel functions in the gastrointestinal tract. **Seminars in Immunopathology**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 385–396, 2016.

ZAIDAN, M. *et al.* Gastro-esophageal reflux disease (GERD) among medical students during COVID-19 pandemic: A cross sectional study. **JAP Academy Journal**, v. 1, n. 1, 2023. doi: 10.58877/japaj.v1i1.6.

ZANG, R. *et al.* TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. **Science Immunology**, v. 5, n. 47, eabc3582, 2020.

ZAVALA-SOLARES, MÓNICA R., *et al.* "Gene expression profiling of inflammatory cytokines in esophageal biopsies of different phenotypes of gastroesophageal reflux disease: a cross-sectional study." **BMC gastroenterology** 21 (2021): 1-9.

ZHANG H, KANG Z, GONG H ET AL. Digestive system is a potential route of COVID-19: an analysis of single-cell coexpression pattern of key proteins in viral entry process. **Gut**. 2020;69(6):1010–8.

ZHANG, H. *et al.* Specific ACE2 expression in small intestinal enterocytes may cause gastrointestinal symptoms and injury after 2019-nCoV infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 96, p. 19-24, 2020. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.027.

ZHANG, J.; GARRETT, S.; SUN, J. Gastrointestinal symptoms, pathophysiology, and treatment in COVID-19. **Genes & Diseases**, v. 8, p. 385-400, 2021.

ZHANG, L.; PAN, L. P.; REN, L. P. Pathogenesis of gastroesophageal reflux disease: Role of inflammation and oxidative stress. **Journal of Digestive Diseases**, v. 15, n. 4, p. 237-244, 2014.

ZHANG, L.-N. *et al.* Baseline Gut Microbiota Was Associated with Long-Term Immune Response at One Year Following Three Doses of BNT162b2. **Vaccines (Basel)**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11359560>. Acesso em: 20 set. 2024.

ZHANG, X. *et al.* The microscopic anatomy of the esophagus including the individual layers, specialized tissues, and unique components and their responses to injury. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1434, n. 1, p. 304-318, 2018.

ZHAO, Y. *et al.* COVID-19 and the digestive system: a comprehensive review of gastrointestinal manifestations and pathogenesis. **Gastroenterology Review**, v. 15, n. 4, p. 243-250, 2020. doi: 10.5114/pg.2020.101935.

ZHENG, Y. *et al.* COVID-19 cooling: Nanostrategies targeting cytokine storm for controlling severe and critical symptoms. **Med Res Rev**, [s. l.], p. 738–811, 2024.

ZHOU, J. *et al.* Infection of bat and human intestinal organoids by SARS-CoV-2. **Nature Medicine**, v. 26, n. 7, p. 1077-1083, 2020.

ZHOU, Z. *et al.* Effect of gastrointestinal symptoms in patients with COVID-19. **Gastroenterology**, v. 158, n. 8, p. 2294-2297, 2020.

ZHU, N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 8, p. 727-733, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.

ZHU, SHEN, et al. "The immediate mental health impacts of the COVID-19 pandemic among people with or without quarantine managements." **Brain, behavior, and immunity** 87 (2020): 56.

ZOLLNER, A.; MEYER, M.; JUKIC, A.; ADOLPH, T.; TILG, H. The Intestine in Acute and Long COVID: Pathophysiological Insights and Key Lessons. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 97, n. 4, p. 447–462, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.59249/PMIE8461>.

ANEXO I

Escala de Progressão Clínica da OMS para pesquisas em com COVID-19 (WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 Infection, 2020).

Estado do Paciente	Descritores	Score
Não Infectado	Não Infectado e RNA não identificado	0
Doença Leve, Ambulatorial	Assintomático; RNA detectado	1
	Sintomático; Independente	2
	Sintomático; Precisou de assistência	3
Doença Moderada, Hospitalizado	Hospitalizado; sem suporte de oxigênio	4
	Hospitalizado; com máscara facial ou cateter nasal	5
Doença Severa Hospitalizado	Hospitalizado; VNI ou alto fluxo de oxigênio	6
	Intubação e ventilação mecânica;	7
	Intubação e ventilação mecânica ; vasopressor	8
	Intubação e ventilação mecânica; Vasopressor, diálise ou ECMO	9
Óbito	Morte	10

ANEXO II

Questionário de DRGE (RDQ)

1. Pensando nos seus sintomas ao longo dos últimos sete dias, quantas vezes você teve os seguintes?

	Não teve	Menos de 1 dia por semana	1 dia por semana	2-3 dias por semana	4-6 dias por semana	Diariamente
Sensação de queimação no meio do peito						
Dor no meio do peito						
Sensação de queimação no meio do estômago						
Dor no meio do estômago						
Gosto ácido na sua boca						
Movimento desagradável do de líquido ou alimento do estômago em direção à boca						

2. Pensando nos sintomas ao longo dos últimos sete dias, como você avaliaria os seguintes?

	Não teve	Muito leve	Leve	Moderada	Moderadamente intensa	Intensa
Sensação de queimação no meio do peito						
Dor no meio do peito						
Sensação de queimação no meio do estômago						
Dor no meio do estômago						
Gosto ácido na sua boca						
Movimento desagradável do de líquido ou alimento do estômago em direção à boca						

ANEXO III

Questionário GSRS (Gastrointestinal Symptom Rating Scale) - validado em português

Nome: _____ Data: _____

Por favor, para cada questão dê uma nota de 1 a 7, conforme a escala abaixo:

Escala de resposta (em intensidade ou frequência):

1	Nenhum desconforto / nenhuma vez
2	Desconforto mínimo / raras vezes
3	Desconforto leve / pouquíssimas vezes
4	Desconforto moderado / poucas vezes
5	Desconforto moderadamente severo / algumas vezes
6	Desconforto forte / muitas vezes
7	Desconforto muito forte / muitíssimas vezes

ESÔFAGO

1. Você sentiu azia durante a semana passada? (Por azia queremos dizer uma dor em queimação ou desconforto em seu peito).

Resposta: _____ Observação: _____

2. Você sentiu refluxo ácido durante a semana passada? (Por refluxo ácido queremos dizer: regurgitação ou fluxo de fluido azedo ou amargo na boca).

Resposta: _____ Observação: _____

3. Você sentiu dor de fome no estômago durante a semana passada? (Esta sensação de estômago vazio está associada com a necessidade de comer entre as refeições).

Resposta: _____ Observação: _____

4. Você sentiu náuseas durante a semana passada? (Por náuseas queremos dizer uma sensação de mal estar iminente – parece que vai vomitar).

Resposta: _____ Observação: _____

5. Você arrotou durante a semana passada? (Arrotar refere-se a trazer ar ou gás através da boca).

Resposta: _____ Observação: _____

6. Você teve entalo durante a semana passada? (Entalo refere-se a dificuldade de o alimento engolido chegar ao estômago).

Resposta: _____ Observação: _____

ESTÔMAGO

7. Você teve dores abdominais durante a semana passada? (Dor se refere a todos os tipos de dores no estômago ou de intestino/barriga).

Resposta: _____ Observação: _____

8. Seu estômago ou barriga roncou durante a semana passada? (Ronco refere-se a barulhos ou ruídos no estômago).

Resposta: _____ Observação: _____

9. Você sentiu o seu estômago cheio de ar durante a semana passada? (Sentir o estômago cheio de ar se refere ao inchaço no estômago ou barriga).

Resposta: _____ Observação: _____

INTESTINO

10. Você eliminou gases ou teve flatulência durante a semana passada? (Eliminar gases ou flatulência refere-se à liberação de ar ou gás a partir do intestino).

Resposta: _____ Observação: _____

11. Você teve constipação/prisão de ventre durante a semana passada? (Constipação refere-se a uma capacidade reduzida de defecar).

Resposta: _____ Observação: _____

12. Você teve diarreia durante a semana passada? (Diarreia refere-se a fezes moles ou líquidas frequentes).

Resposta: _____ Observação: _____

13. Você teve/apresentou fezes moles durante a semana passada? (Se as fezes foram alternadamente duras e moles, essa questão refere-se apenas ao quanto você se sentiu incomodado pelas fezes moles).

Resposta: _____ Observação: _____

14. Você teve/apresentou fezes duras durante a semana passada? (Se as fezes foram alternadamente duras e moles, essa questão refere-se apenas ao quanto você se sentiu incomodado pelas fezes duras).

Resposta: _____ Observação: _____

15. Você sentiu uma necessidade urgente de evacuar durante a semana passada? (Por necessidade urgente entenda-se necessidade de correr ao banheiro para defecar).

Resposta: _____ Observação: _____

16. Ao ir ao banheiro durante a semana passada, você teve a sensação de não esvaziar completamente o intestino? (A sensação de que depois de terminar uma defecação, ainda há mais fezes que precisam ser eliminadas).

Resposta: _____ Observação: _____

ANEXO IV

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Mecanismos associados à presença de sintomas digestivos na COVID-19

Pesquisador: SULIANA MESQUITA PAULA **Área**

Temática:

Versão: 2

CAAE: 41033020.3.1001.5045

Instituição Proponente: Hospital Universitário Walter Cantídio/ Universidade Federal do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.510.094

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos contendo as Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1675507.pdf.) e do projeto original. Orçamento: R\$ 40 mil (financiamento próprio). Cronograma: OUT/2020 a SET/2021.

Resumo: O novo coronavírus (COVID-19) vem sendo responsável pela presente pandemia tem causado vasta infecção no mundo e no Brasil em mais de 3 milhões de pessoas no Brasil, com mais de 100 mil óbitos. Pacientes de meia-idade e idosos com doenças crônicas, como asma, diabetes e doenças cardiovasculares são mais suscetíveis a insuficiência respiratória e podem ter um pior prognóstico da doença. Além dos sintomas respiratórios e febre, cerca de 30% dos pacientes geralmente desenvolvem manifestações digestivas, tendo sido observado que o vírus está presente nas fezes, mesmo após a negatificação no trato respiratório. Sabendo que a infecção viral pode alterar a composição da microbiota do hospedeiro, bem como desencadear processo inflamatório digestivo ambos podem desencadear alteração da permeabilidade da mucosa e sintomas digestivos crônicos, propomos avaliar se os mecanismos envolvidos na presença de sintomas digestivos na COVID-19. Para tanto um grupo de 100 doentes pós COVID-19 serão avaliados a prevalência dos sintomas digestivos em pacientes pós COVID-19, através de

obstrução gástrica, Neoplasia do trato digestório e gestantes em qualquer fase da gestação, pacientes que seus registros médicos estejam incompletos, portadores de outras doenças infecciosas crônicas que possam alterar o funcionamento do trato digestivo e pacientes com alteração cognitiva que dificulte a colaboração com o estudo.

Coleta das amostras

1. Os pacientes serão submetidos a endoscopia digestiva alta com biópsia e teste de Urease (Pesquisa *Helicobacter Pylori*)
2. Avaliação da Resistência Elétrica Transepitelial (TEER) As biópsias serão inicialmente avaliadas sob lupa estereoscópica para determinação dos "lados luminal e seroso".
3. Avaliação da permeabilidade à fluoresceína A permeabilidade será avaliada após o término do registro da TEER. Para isso, a solução do "lado luminal" das câmaras será substituída por uma solução de KREBS, pH 7,4 contendo fluoresceína (375 kDa; 1 mg/ml), como um traçador permeável que passa através do epitélio.
4. PCR quantitativo em tempo real (qPCR) Serão avaliados o mRNA dos genes IL-1, IL-6, IL-10, IFN- γ , KC, MCP-1 (MCAF), RANTES, and TNF- por meio do aparelho iQ5 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Estados Unidos).
5. Western Blot Inicialmente as biópsias serão processadas com tampão de lise contendo inibidores de proteases.
6. Avaliação da calprotectina fecal A calprotectina é uma proteína de ligação ao cálcio abundante pertencente à família S100 que é derivada predominantemente de neutrófilos e, em menor extensão, de monócitos e macrófagos reativos.
7. Teste respiratório do hidrogênio no ar expirado após sobrecarga oral com lactulose. Os participantes serão orientados a ingerir uma dieta de baixa fermentação na véspera do exame; seguido por 12 horas de jejum e 4 horas de abstinência de fumo ou atividade física.
8. Manometria Esofágica de Alta Resolução O exame será iniciado com o participante sentado, após jejum de 3 a 4 horas. O mesmo será submetido a anestesia tópica com lidocaína spray a 10%, nanarina, e se necessário, também na orofaringe se sensibilidade aumentada.
9. Impedância-pHmetria por 24 horas: Para a avaliação ambulatorial do refluxo gastroesofágico será utilizado o equipamento de impedância-pHmetria portátil.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Avaliar se a COVID-19 causa uma cronificação de sintomas gastrointestinais secundário à resposta imune inflamatória com alteração da microbiota, do aumento da permeabilidade gastrointestinal com diminuição da integridade da mucosa e o desenvolvimento de distúrbios motores digestivos.

Objetivos específicos:

Determinar a prevalência dos sintomas digestivos em pacientes pós COVID 19, através de questionários específicos padronizados de sintomas digestivos, sintomas dispépticos, disfagia e de doença do Refluxo; Quantificar a inflamação gastrointestinal por meio de ensaio com calprotectina fecal e pelo PCR de IL-1, IL-6, IL-10, IFN-, KC, MCP-1 (MCAF), RANTES, e TNF- em biópsias de esôfago e duodeno de pacientes pós COVID 19 com e sem sintomas digestivos; Mensurar a hiperproliferação bacteriana por meio da técnica da concentração de hidrogênio no ar expirado de pacientes pós COVID 19 com e sem sintomas digestivos; Avaliar a integridade da barreira funcional por meio de experimentos em câmara de Üssing em biópsias de esôfago e duodeno de pacientes pós COVID 19 com e sem sintomas digestivos; Determinar a expressão proteica de moléculas de adesão e complexos juncionais como, ZO-1, Claudina-1, 2, 3, 4, 7, JAM em biópsias de pacientes com e sem sintomas gastrointestinais associados a infecção da COVID-19; Avaliar a motilidade esofágica e a exposição ácida e não ácida em pacientes com e sem sintomas de refluxo associados a infecção da COVID-19; Correlacionar a intensidade dos sintomas gastrointestinais e dos mecanismos na sua gênese com a gravidade da infecção da COVID-19

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador descreve: "Há um risco moderado de algum processo adverso em alguma etapa da realização da pesquisa, especialmente nos procedimentos, mas que será minimizado com as etapas sempre sendo realizadas em instituição apropriada de saúde e com equipe de socorro próximo ao paciente para intervenção quando necessário. Os benefícios da pesquisa serão no sentido de haver uma maior determinação de possíveis agravos e situações clínicas que pessoas podem estar sujeitas pós COVID -19 e dessa forma melhor a abordagem em saúde que

questionários específicos padronizados de sintomas digestivos, sintomas dispépticos, disfagia e de doença do Refluxo. Em seguida, os mecanismos envolvidos na gênese e manutenção dos sintomas serão avaliados em pacientes pós Covid-19, com e sem sintomas digestivos, através de métodos específicos como quantificação da inflamação gastrointestinal por meio de ensaio com calprotectina fecal e pelo PCR de citocinas pró inflamatórias em biópsias de esôfago e duodeno, mensuração da hiperproliferação bacteriana por meio da técnica da concentração de hidrogênio no ar expirado, avaliação da integridade da barreira funcional por meio de experimentos em câmara deÜssing em biópsias de esôfago e duodeno, determinação da expressão proteica de moléculas de adesão e complexos juncionais, avaliação da motilidade esofágica e da exposição ácida e não ácida. No final, será correlacionado a intensidade dos sintomas gastrointestinais e dos mecanismos envolvidos na sua gênese com a gravidade da infecção da COVID-19. Local do estudo: Esta pesquisa será realizada nos ambulatórios Hospital Universitário Walter Cantídio(HUWC) da Universidade Federal do Ceará (UFC) e no Ambulatório do Hospital São José, onde os pacientes serão avaliados e entrevistados e selecionados.

População do Estudo A amostra será formada por 100 voluntários que tiveram COVID-19 e serão divididos em dois grupos. O primeiro grupo será formado por 50 pacientes que tiveram COVID-19, mas não apresentam queixas de sintomas digestivos, que será chamado de grupo controle. O segundo grupo será formado por 50 pacientes que foram diagnosticados com COVID-19 e que apresentam queixas de sintomas digestivos. Será considerado portador de COVID-19 os pacientes com RT-PCR positivo e foram internados para tratamento da COVID-19.

Critérios de Inclusão: O principal critério de inclusão dos pacientes será ter apresentado COVID nos últimos 3 meses, a presença de sintomas digestivos crônicos será avaliado por meio de questionários padronizado. Serão incluídos para avaliação do trato gástrico superior, paciente que aceitarem e tiverem aumento de 50% do escore de sintomas em qualquer questionário nos índices de avaliação da DRGE e sintomas de disfagia.

Critérios de Exclusão: Serão excluídos indivíduos com idade inferior a 18 anos e superior a 70 anos, com patologias como: Insuficiência renal, Doença pulmonar obstrutiva, Úlcera péptica e

serão realizadas nos casos existentes de doença."Obs: no TCLE a pesquisadora descreve os potenciais riscos de cada procedimento

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante mediante a necessidade de conhecimentos que necessitam ser construídos após o início da pandemia da COVID-19.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo Conclusões ou pendências ou lista de inadequações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora retorna a este CEP com as respostas às pendências sinalizadas no parecer 4.480.466:

Pendência 1: colocar o endereço e telefone do comitê de ética no TCLE: Para qualquer dúvida relacionada ao assunto de direitos do participante, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitario Walter Cantídio, localizado na Rua Coronel Nunes de Melo 1142, bairro: Rodolfo Teófilo, CEP: 60430-275, pelo telefone (85) 3366-8589 ou (85) 99267-4630 ou ainda pelo email cephuwc@huwc.ufc.br.

Resposta do pesquisador: Adicionamos o endereço nas páginas 29 e 32 do projeto, onde os TCLEs estão anexos, bem como nos arquivos que contêm apenas os TCLEs, como indicado no texto abaixo:

"Poderá contatar a Secretaria da Comissão de Ética do Hospital universitário – UFC para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo. A secretaria da Comissão de Ética fica localizada na Rua Coronel Nunes de Melo 1142, bairro: Rodolfo Teófilo, CEP: 60430-275, telefone (85) 3366-8589 ou (85) 99267-4630 ou ainda pelo e-mail cephuwc@huwc.ufc.br. Você pode também se dirigir ao Comitê de Ética do Hospital São José (HSJ) pelo número: 85 34527881. O HSJ está situado na Rua Nestor Barbosa, 315, bairro: Parquelândia, CEP: 60455-610.

RESPOSTA DO CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA

Pendência 2: TCLE deve prever o ressarcimento de acompanhantes conforme a resolução 466/12

com as seguintes alterações: (1) prever o ressarcimento dos gastos decorrentes da pesquisa não somente ao participante, mas também para aqueles que o acompanham. Para os casos que sejam necessários.

RESPOSTA DO PESQUISADOR: Resposta: Adicionamos essa informação ao texto do projeto no 2º parágrafo da página 8 e foi adicionado também no conteúdo da Plataforma Brasil. Também deixamos mais claro sobre o ressarcimento no arquivo dos TCLEs (item 5 do TCLE 1 e item 10 do TCLE 2), conforme texto abaixo:

“Não acarretará nenhum gasto para você, pois despesas financeiras do paciente e acompanhante decorrentes da pesquisa serão ressarcidas.”

RESPOSTA DO CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA

Pendência 3: Observar RESOLUÇÃO CNS Nº 466 de 2012: IV.5.d - O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá, ainda: (...) ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha. Em ambas as vias deverão constar o endereço e contato telefônico ou outro, dos responsáveis pela pesquisa e do CEP local e da Conep, quando pertinente. O pesquisador precisa paginar o TCLE e descrever que serão realizadas 2 vias. Pendência 4: Acrescentar no TCLE do grupo controle. Esclarecer que o paciente controle não tem sintomas digestivos e não tem indicação formal, até o presente momento, de realizar exames investigatórios do trato gastrointestinal. No entanto com intuito de contribuir com a pesquisa/ciência, e ampliar o conhecimento do impacto do COVID19 no trato gastrointestinal, o participante concorda com a realização de 6 exames, conhecendo riscos e benefícios inerentes a cada um destes. Isso respaldaria a pesquisadora quanto a execução de exames invasivos desta pesquisa neste grupo de comparação.

RESPOSTA DO PESQUISADOR: Resposta: Os TCLEs foram paginados e foram adicionadas (item 10 do TCLE 1 e item 15 do TCLE 2) informações sobre a necessidade das rubricas e assinaturas em duas vias.

Como indica o texto abaixo:

“Ao concordar em participar da pesquisa você (ou seu representante legal) e seu acompanhante deverão rubricar em todas as páginas desse termo de consentimento livre e esclarecido e assinar

em duas vias."

RESPOSTA DO CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA

Pendência 4: Acrescentar no TCLE do grupo controle. Esclarecer que o paciente controle não tem sintomas digestivos e não tem indicação formal, até o presente momento, de realizar exames investigatórios do trato gastrointestinal. No entanto com intuito de contribuir com a pesquisa/ciência, e ampliar o conhecimento do impacto do COVID-19 no trato gastrointestinal, o participante concorda com a realização de 6 exames, conhecendo riscos e benefícios inerentes a cada um destes. Isso respaldaria a pesquisadora quanto a execução de exames invasivos desta pesquisa neste grupo de comparação.

RESPOSTA DO PESQUISADOR: Esclarecimentos sobre o grupo controle foram acrescentados no TCLE no item 2 do TCLE 1 e no item 2 do TCLE 2, como indica o texto abaixo:

"Por meio desses questionários você fará parte do grupo controle, se tiver contraído COVID-19, mas não desenvolveu queixas de sintomas digestivos, ou fará parte do segundo grupo, formado por pacientes que foram diagnosticados com COVID-19 e que apresentam queixas de sintomas digestivos."

Além disso, foi adicionado esclarecimento aos pacientes que aceitarem fazer parte do grupo controle sobre a ausência de indicação dos exames necessários à pesquisa, mas que o farão em contribuição para a pesquisa, conforme texto abaixo adicionado no item 3 do TCLE 2:

"Vale ressaltar que o paciente controle, por não apresentar sintomas digestivos, não tem indicação formal, até o presente momento, de realizar exames investigatórios do trato gastrointestinal. No entanto, com o intuito de contribuir com a pesquisa, e ampliar o conhecimento do impacto do COVID-19 no trato gastrointestinal, você concorda com a realização de desses exames, conhecendo riscos e benefícios inerentes a cada um deles."

RESPOSTA DO CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA

A pesquisadora atendeu às pendências acima. Projeto sem óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

A pesquisadora deverá apresentar relatório a este CEP ao término da presente pesquisa

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 25 de Janeiro de 2021

Assinado por:
Maria Helane Costa Gurgel
(Coordenador(a))

ANEXO V

Artigo submetido para a revista Digestive Diseases and Sciences



Lanna Feitosa <daylana@alu.ufc.br>

Digestive Diseases and Sciences - Receipt of Manuscript 'IL-8 and Claudin-2...'

1 mensagem

Digestive Diseases and Sciences <karthik.balakrishnan@springernature.com>

6 de fevereiro de 2025 às
14:01

Para: daylana@alu.ufc.br

Ref: Submission ID 69c26709-24b5-4718-9865-cb8147f13d75

Dear Dr Feitosa,

Please note that you are listed as a co-author on the manuscript "IL-8 and Claudin-2 Overexpression in Post-Acute COVID-19 Syndrome Linked to Increased Esophageal Permeability and Symptoms", which was submitted to Digestive Diseases and Sciences on 06 February 2025 UTC.

If you have any queries related to this manuscript please contact the corresponding author, who is solely responsible for communicating with the journal.

Kind regards,

Editorial Assistant
Digestive Diseases and Sciences

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Responsáveis: Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza (orientador) e Dayllanna Stefanny Lopes Lima Feitosa (Doutoranda)

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém não deve participar contra a sua vontade. Depois de ler as informações abaixo, ouça com atenção às explicações que lhe serão dadas e faça qualquer pergunta que desejar para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam devidamente esclarecidos.

1-O objetivo da pesquisa é compreender a prevalência dos sintomas esofágicos após a COVID e possível associação com possíveis alterações na integridade da barreira epitelial esofágica na síndrome de COVID-19 pós-aguda. O estudo será feito da seguinte maneira: seleção dos pacientes de acordo com o diagnóstico médico previamente visto em consulta nos ambulatórios da, preenchimento de questionários e coletas de biópsia através da endoscopia digestiva alta.

2-Você será convidado a responder o questionário. Este questionário tem por objetivo avaliar a presença de sintomas digestivos. Este questionário você responderá sozinho, terá a duração de no máximo 30 minutos e o resultado será apresentado para você durante a consulta. O benefício desse questionário será a possibilidade de diagnosticar outras patologias que podem ao ser tratadas representar uma melhora nos seus sintomas.

3- A endoscopia digestiva alta é realizada com sedação midazolam e/ou spray de xilocaína local. O exame provoca apenas leve desconforto durante a punção venosa e pode provocar manchas arroxeadas. Tendo como benefício para você identificar se há doenças relacionadas ao estômago.

4-Você terá acesso a todas as informações necessárias para decidir conscientemente sobre sua participação na pesquisa.

6-Tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isso venha a interferir no seu atendimento nesta instituição.

7- Não acarretará nenhuma despesa financeira para você.

8- Tem segurança de que não será identificado e se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas à sua privacidade

9-Tem permissão para procurar os médicos responsáveis a qualquer dia e hora pelos telefones que lhe serão fornecidos: Dr. Marcellus 85. 99921-0970 ou no Ambulatório de Doença Inflamatória Intestinal (quinta-feira, manhã salas 7-12) no Setor de Ambulatórios do Hospital Universitário Walter Cantídio-UFC.

10-Poderá contatar a Secretaria da Comissão de Ética (fone: 85.3288-8338) para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo.

11-Os médicos responsáveis o manterão informado e prestarão qualquer tipo de esclarecimento quanto ao progresso da pesquisa, conforme solicitação do paciente.

Fortaleza/CE, / /

Assinatura do paciente

Assinatura do pesquisador

Dayllanna Stefanny Lopes Lima Feitosa

CPF: 028.166.833-70

Enfermeira COREN CE 519631

APÊNDICE II

Ficha de Atendimento

1. Nome completo: _____
2. Endereço: _____ telefone: _____
3. Data de nascimento: __ / __ / __
4. Idade: _____
5. Sexo: () Feminino () Masculino
6. Morbidades prévias:

() Doença cardiovascular, incluindo hipertensão	() Hipo/hipertireoidismo
() Diabetes	() Imunodeficiência
() Doença hepática	() Infecção pelo HIV
() Doença neurológica crônica ou neuromuscular	() Doença renal
() Doença pulmonar crônica	() Neoplasia

7. Medicamentos de uso contínuo

() Analgésicos	() Antibióticos
() Anticoagulantes	() Antidepressivos
() Anticancerosos	() Antiepiléticos
() Anti-psicóticos	() Antivirais
() Sedativos	() Antidiabéticos
Anti-inflamatórios () Não esteroidais (AINEs) () Esteroidais (Corticóides)	
() IBP	() Procinético () Antidiarréico
() Droga anti-reumática modificadora de doença (DMARD)	

8. Data dos primeiros sintomas: __ / __ / __
9. Sintomas relatados pelo paciente:

() Coriza () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Anosmia (não sente cheiro) () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Dor de garganta () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Ageusia (não sente gosto) () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Tosse	() durante COVID-19

() Dificuldade de respirar () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Náuseas/vômitos () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Disfagia () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Cefaleia	
() Febre	
() Diarreia () pré COVID-19	() durante COVID-19
() Adinamia (fraqueza) () pré COVID-19	() durante COVID-19

10. Medicamentos utilizados durante a COVID-19:

() Hidroxicloroquina	() Azitromicina	() Ivermectina/nitoxanida
() Prednisona	() Heparina	() outros antibióticos
() Outros: _____ _____		

11. Necessitou de internação hospitalar: () sim () não

12. Tempo de internação hospitalar: () até 7 dias () de 8 a 15 dias () de 16 a 30 dias
() + de 30 dias

13. Necessitou de internação em UTI:

() não

() sim, com ventilação mecânica () sim, sem ventilação mecânica

Tempo de ventilação mecânica: () 1 a 2 sem () +de 4 sem () + de 30 dias