



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

FREDERICO LUIS BRAZ FURTADO

ENVOLVIMENTO DE BIOMARCADORES ENDOTELIAIS NA
CHIKUNGUNYA CRÔNICA

FORTALEZA-CE

2026

FREDERICO LUIS BRAZ FURTADO

ENVOLVIMENTO DE BIOMARCADORES ENDOTELIAIS NA CHIKUNGUNYA
CRÔNICA

Tese apresentada a banca examinadora do Curso de Doutorado em Ciências Médicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Linha de pesquisa: Nefrologia Tropical

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elizabeth De Francesco Daher.

FORTALEZA-CE

2026



ATA DA SESSÃO DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Como parte das exigências para concessão do grau de doutor, às 15:00 horas do dia 27 de Fevereiro de 2026, realizou-se a sessão pública da defesa de tese de doutorado do aluno FREDERICO LUIS BRAZ FURTADO. O trabalho tinha como título: "ENVOLVIMENTO DE BIOMARCADORES ENDOTELIAIS NA CHIKUNGUNYA CRÔNICA".

Compunham a banca examinadora os professores(as) doutores(as) ELIZABETH DE FRANCESCO DAHER, orientadora, EANES DELGADO BARROS PEREIRA, GDAYLLON CAVALCANTE MENESES, ROBERTO DA JUSTA PIRES NETO e GERALDO BEZERRA DA SILVA JUNIOR. O candidato expôs oralmente a tese, em seguida os membros da banca procederam à arguição, e a sessão foi finalizada com a APROVAÇÃO, por parte da banca examinadora, do trabalho sem ressalvas.

Foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da referida banca:

ELIZABETH DE FRANCESCO DAHER
UFC - Orientadora

EANES DELGADO BARROS PEREIRA
UFC - Examinadora Interna

GDAYLLON CAVALCANTE MENESES
UFC - Examinador Externo ao Programa

ROBERTO DA JUSTA PIRES NETO
UFC - Examinador Externo ao Programa

GERALDO BEZERRA DA SILVA JUNIOR
UNIFOR - Examinador Externo à Instituição

- A minha mãe, Norma pelo incondicional otimismo.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará pela oportunidade realizar este trabalho como bolsista de produtividade da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

A minha orientadora, Profa. Dra. Elizabeth De Francesco Daher, pela prontidão e expertise necessárias para extrair o melhor de mim na realização desse trabalho.

Ao professor Gdayllon Cavalcante Meneses pelo apoio incondicional e auxílio em momentos valiosos.

RESUMO

Introdução: A chikungunya é uma arbovirose responsável por desencadear uma resposta inflamatória intensa, associada a manifestações clínicas duradouras nos casos crônicos. Na última década, afetou milhões de pessoas na América, África, Ásia e Europa, tornando-se um importante problema de saúde pública devido ao impacto significativo na qualidade de vida. Nesse contexto, o estudo de biomarcadores endoteliais pode contribuir para o esclarecimento do prognóstico da doença e de suas repercussões clínicas. **Objetivo:** Investigar biomarcadores de lesão endotelial na chikungunya crônica. **Materiais e métodos:** Estudo transversal com 34 casos crônicos, triados a partir da coorte da Unidade Básica de Saúde Oliveira Pombo, vinculada ao “Estudo da história natural e resposta terapêutica da Chikungunya com foco nas manifestações musculoesqueléticas agudas e crônicas em Fortaleza-CE”. Foram coletadas amostras de sangue venoso para dosagem dos biomarcadores endoteliais (ANG-2, VCAM-1 e SYN-1), além de dados clínicos, como comorbidades e sintomas, extraídos dos questionários da coorte. **Resultados:** A média de idade dos casos crônicos foi de $45,11 \pm 15,86$ anos, sendo 28 (76,47%) do sexo feminino. Vinte (58,82%) participantes pertenciam ao grupo com 360 dias de tempo de doença. Os sintomas mais prevalentes foram rigidez matinal (28; 82,35%), artralgia (22; 64,71%) e edema (16; 47,06%). Na comparação entre os três grupos de pacientes crônicos com diferentes tempos de doença (180, 360 e 720 dias) e o grupo controle, os biomarcadores ANG-2, VCAM-1 e SYN-1 apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,007$; $p = 0,004$; $p < 0,001$, respectivamente). Observou-se aumento dos níveis de ANG-2 ($p = 0,037$) nos pacientes com e sem depressão, bem como redução de VCAM-1 ($p = 0,047$) e SYN-1 ($p = 0,036$) nos casos com e sem alteração de memória. Os níveis de SYN-1 encontraram-se aumentados nos pacientes com febre ($p = 0,041$) e reduzidos naqueles com turvação visual ($p = 0,019$) e alopecia ($p = 0,009$), em comparação aos que não apresentavam esses sintomas. Apenas os biomarcadores ANG-2 e VCAM-1 apresentaram correlação com o tempo de doença, sendo esta moderada e positiva para ANG-2 ($Rho = 0,456$; $p = 0,006$) e fraca e negativa para VCAM-1 ($Rho = -0,369$; $p = 0,034$). O ANG-2 foi o único biomarcador com bom desempenho preditivo na curva AUC-ROC = 0,864 e 95%IC (0,725 - 1000), enquanto VCAM-1 e SYN-1 apresentaram, respectivamente, AUC-ROC = 0,605 e 95% IC (0,338 - 0,872); AUC-ROC = 0,519 e 95% IC (0,148 - 0,890) **Conclusão:** Níveis aumentados de ANG-2 e reduzidos de VCAM-1 associaram-se ao tempo de doença nos casos avaliados. O SYN-1 pode estar relacionado à presença de sintomas como febre, alteração de memória, turvação visual e alopecia em pacientes com chikungunya crônica.

Palavras-chave: Chikungunya. Chikungunya vírus, Biomarcadores.

ABSTRACT

Introduction: Chikungunya is an arboviral disease responsible for triggering an intense inflammatory response, associated with long-lasting clinical manifestations in chronic cases. In the last decade, it has affected millions of people in the Americas, Africa, Asia, and Europe, becoming a major public health problem due to its significant impact on quality of life. In this context, the study of endothelial biomarkers can contribute to clarifying the prognosis of the disease and its clinical repercussions.

Objective: To investigate biomarkers of endothelial injury in chronic chikungunya.

Materials and methods: Cross-sectional study with 34 chronic cases, selected from the cohort of the Oliveira Pombo Basic Health Unit, linked to the “Study of the natural history and therapeutic response of Chikungunya focusing on acute and chronic musculoskeletal manifestations in Fortaleza-CE”. Venous blood samples were collected for the measurement of endothelial biomarkers (ANG-2, VCAM-1, and SYN-1), in addition to clinical data, such as comorbidities and symptoms, extracted from the cohort questionnaires.

Results: The mean age of chronic cases was 45.11 ± 15.86 years, with 28 (76.47%) being female. Twenty (58.82%) participants belonged to the group with 360 days of disease duration. The most prevalent symptoms were morning stiffness (28; 82.35%), arthralgia (22; 64.71%), and edema (16; 47.06%). In the comparison between the three groups of chronic patients with different disease durations (180, 360, and 720 days) and the control group, the biomarkers ANG-2, VCAM-1, and SYN-1 showed statistically significant differences ($p = 0.007$; $p = 0.004$; $p < 0.001$, respectively). Increased levels of ANG-2 ($p = 0.037$) were observed in patients with and without depression, as well as reductions in VCAM-1 ($p = 0.047$) and SYN-1 ($p = 0.036$) in cases with and without memory impairment. SYN-1 levels were increased in patients with fever ($p = 0.041$) and reduced in those with blurred vision ($p = 0.019$) and alopecia ($p = 0.009$), compared to those without these symptoms. Only the biomarkers ANG-2 and VCAM-1 showed a correlation with disease duration, with a moderate and positive correlation for ANG-2 (Rho = 0.456; $p = 0.006$) and a weak and negative correlation for VCAM-1 (Rho = -0.369; $p = 0.034$). ANG-2 was the only biomarker with good predictive performance in the AUC-ROC curve = 0.864 and 95% CI (0.725 - 1000), while VCAM-1 and SYN-1 presented, respectively, AUC-ROC = 0.605 and 95% CI (0.338 – 0.872); AUC-ROC = 0.519 and 95% CI (0.148 – 0.890).

Conclusion: Increased levels of ANG-2 and reduced levels of VCAM-1 were associated with disease duration in the evaluated cases. SYN-1 may be related to the presence of symptoms such as fever, memory impairment, blurred vision, and alopecia in patients with chronic chikungunya.

Keywords: Chikungunya, Chikungunya virus, biomarkers

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Dinâmica espaço-temporal da chikungunya entre 2013 e 2022 no Brasil.	16
Figura 2	Distribuição espaço-temporal da recidiva da chikungunya nos municípios Ceará entre 2015 a 2022.	17
Figura 3	Cronologia da patogênese do vírus chikungunya	20
Figura 4	Manifestações extra-articulares da chikungunya.	21
Figura 5	Descrição do processamento de amostras biológicas	28
Figura 6	Fluxograma de casos com chikungunya incluídos no estudo	31
Figura 7	Distribuição dos biomarcadores por tempo de doença	35
Figura 8	Distribuição da frequência da angiopetina-2 entre pacientes com ou sem depressão	37
Figura 9	Distribuição da frequência do VCAM-1 entre pacientes com ou sem alteração de memória	39
Figura 10	Distribuição da frequência do SYN-1 entre pacientes com ou sem febre	41
Figura 11	Distribuição da frequência do SYN-1 entre pacientes com ou sem alteração de memória	42
Figura 12	Distribuição da frequência do SYN-1 entre pacientes com ou sem turvação visual	42
Figura 13	Distribuição da frequência do SYN-1 entre pacientes com ou sem alopecia	43
Figura 14	Gráfico de dispersão da angipoetina-2 com o tempo de doença	44
Figura 15	Gráfico de dispersão da VCAM-1 com o tempo de doença	44
Figura 16	Gráfico de dispersão da SYN-1 com o tempo de doença	45
Figura 17	Curva ROC da angipoietina-2 com o tempo de doença de 720 dias	46
Figura 18	Curva ROC da VCAM-1 com o tempo de doença de 720 dias	46
Figura 19	Curva ROC da SYN-1 com o tempo de doença de 720 dias	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados clínicos dos casos crônicos com chikungunya.	31
Tabela 2	Dados dos pacientes com chikungunya em relação ao tempo de doença.	33
Tabela 3	Avaliação dos níveis de biomarcadores entre os casos de chikungunya com tempos de doença distintos em relação aos valores de referência.	34
Tabela 4	Avaliação do angiopoietina 2 nos pacientes com chikungunya em relação a presença de comorbidade e/ou sintomas.	35
Tabela 5	Avaliação da VCAM-1 nos pacientes com chikungunya em relação a presença de comorbidade e/ou sintomas.	37
Tabela 6	Avaliação do syndecan-1 nos pacientes com chikungunya em relação a presença de comorbidade e/ou sintomas.	40
Tabela 7	Correlação entre tempo de doença e os biomarcadores.	43
Tabela 8	Avaliação da performance preditiva dos biomarcadores em relação ao tempo de doença de 720 dias.	45

LISTA DE ABREVIações E DE SIGLAS

°C	Celsius
ANG-2	Angiopietina-2
AVD	Atividades de vida diária
CAI	Contagem de articulações inchadas
CID	Coagulação intravascular disseminada
CHIK	Chikungunya
CHIKV	Chikungunya vírus
DAS-28	Escore de atividade da doença
FGF-β	Fator de crescimento de fibroblastos básico
Fator VIII	Fator anti-hemofílico
GAL-9	Galectina-9
G-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
HGF	Fator de crescimento de hepatócitos
HMGB1	Proteína do grupo de alta mobilidade 1
IFN-α	Interferon alfa
IFN-γ	Interferon gama
IgM	Anticorpos imunoglobulina M
IL-5	Interleucina -5
IL-6	Interleucina -6
IL-7	Interleucina -7
IL-8	Interleucina -8
IL-10	Interleucina -10
IL-12	Interleucina -12
IL-15	Interleucina -15
IP-10	Proteína 10 induzida por interferon gama
Kb	Quilobases
LBFBC	Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica
MDA	3,4-Metilenodioxianfetamina
MIP-1α	Proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa
MIP-1β	Proteína inflamatória de macrófagos-1 beta

MIG	Monocina induzida por interferon-gama
NO	Óxido nítrico
Nm	Nanômetros
MIF	Fator inibitório da migração pró-inflamatória
OCSA	Linhagem da África Oriental/Central/Sul
OIL	Linhagem do Oceano Índico
OR	Odds Ratio
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PCR	Proteína C reativa
PROPESQ	Comitê de Ética em Pesquisa da UFC
RANTES	Regulado na ativação, expresso e secretado por células T normais
RNA	Ácido ribonucleico
SYN-1	Syndecan-1
TGF-β	Fator de transformação de crescimento beta
TIMP-2	Inibidor tecidual de metaloproteinase-2
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VCAM-1	Molécula de adesão celular-vascular-1
VHS	Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Histórico, estrutura e linhagens	14
1.2	Epidemiologia do CHIKV	15
1.3	Fisiopatologia, transmissão e diagnóstico laboratorial da chikungunya	17
1.4	Manifestações clínicas	19
1.4.1	Fase aguda	19
1.4.2	Fase pós-aguda	19
1.4.3	Fase crônica	20
1.4.4	Manifestações extra-articulares e grave da Chikungunya	20
1.5	Biomarcadores inflamatórios e a Chikungunya	22
1.6	Biomarcadores endoteliais e a Chikungunya	23
1.6.1	Angiopietina-2	23
1.6.2	Molécula de adesão celular-vascular-1	24
1.6.3	Syndecan-1	24
1.7	JUSTIFICATIVA	25
2	OBJETIVOS	26
2.1	Objetivo geral	26
2.2	Objetivos específicos	26
3	MATERIAS E MÉTODOS	27
3.1	Delineamento do estudo	27
3.2	Aspectos éticos	27
3.3	Critérios de elegibilidade	27
3.4	Coleta e processamento das amostras biológicas	28
3.5	Instrumentos e medidas	29
3.5.1	Avaliação dos novos biomarcadores endoteliais	29
3.6	Parâmetros estudados	29
3.7	Protocolo Clínico	29
3.8	Análise estatística	30
4	RESULTADOS	30
4.1	População de casos com CHIK participantes do estudo.	30

4.2	Características clínicas dos 34 casos com CHIK.	31
4.3	Características clínicas dos casos com CHIK divididos por tempo de doença.	33
4.4	Avaliação dos níveis de biomarcadores entre os casos crônicos com tempo de doença distintos em relação aos valores de referência.	34
4.5	Análise dos biomarcadores nos casos crônicos com ou sem comorbidades e/ou sintomas.	35
4.6	Relação dos biomarcadores com o tempo de doença dos casos.	43
4.7	Performance diagnóstica de biomarcadores endoteliais par maior tempo de doença crônica.	45
5	DISCUSSÃO	48
6	CONCLUSÃO	55
7	REFERENCIAS	56
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico, estrutura e linhagens

O vírus Chikungunya (CHIKV) foi identificado em 1952, após um surto de uma doença artrítica na África Oriental, que possibilitou o isolamento de um *Alphavirus* a partir do soro de um paciente infectado. O nome da doença deriva de um termo atribuído pelos habitantes do planalto de Makonde, na Tanzânia, que pode significar “aquilo que se curva”, “tornar-se contorcido” ou “andar curvado”(BARTHOLOMEEUSEN et al., 2023).

O Alphavirus pertence à família *Togaviridae*. Possui nucleocapsídeo icosaédrico envelopado, com 60–70 nm de diâmetro, e genoma de RNA de fita simples de sentido positivo, com aproximadamente 12 kb de tamanho. Apresenta três linhagens bem definidas e uma sublinhagem: África Ocidental, Ásia, África Oriental/Central/Sul (ECSA) e Oceano Índico (IOL) (KHONGWICHIT et al., 2021).

Entre as décadas de 1960 e 1990, foram relatados apenas surtos esporádicos na Ásia e na África, provavelmente porque o vírus se manteve, em sua maioria, em um ciclo de transmissão silvestre envolvendo hospedeiros animais não humanos e insetos, com participação humana limitada (FREPPPEL et al., 2024).

No ano de 2004, a cepa da linhagem OCSA propagou-se pelo Quênia até alcançar as ilhas do Oceano Índico, onde causou um grave surto de chikungunya na Ilha da Reunião. Nessa localidade, surgiu a sublinhagem OIL, que se espalhou pela Índia e chegou à Itália e à França por meio de disseminação local com transmissão autóctone (BARTHOLOMEEUSEN et al., 2023).

Em 2013, a cepa da linhagem asiática causou o primeiro surto na ilha caribenha de Saint Martin. A partir dessa localidade, o vírus se disseminou para mais de 50 países das Américas, provocando aproximadamente 1 milhão de infecções. No Nordeste brasileiro, a linhagem OCSA chegou em 2014 e permanece, atualmente, como a mais prevalente na região (BARTHOLOMEEUSEN et al., 2023).

1.2 Epidemiologia do CHIKV

Originário da África, o CHIKV foi posteriormente introduzido na Ásia. Nesse continente, o primeiro caso reportado ocorreu em 1961, no Camboja, associado à linhagem asiática. Outros registros da atividade do vírus foram detectados nas Filipinas (1965), no Vietnã (1966–1967) e na Indonésia (1972). Na Índia, o CHIKV foi registrado em surtos de baixa gravidade entre 1963 e 1973, nas localidades de Chennai, Pondicherry, Vellore, Visakhapatnam, Rajahmundry, Kakinada, Nagpur e Barsi (DE LIMA CAVALCANTI et al., 2022).

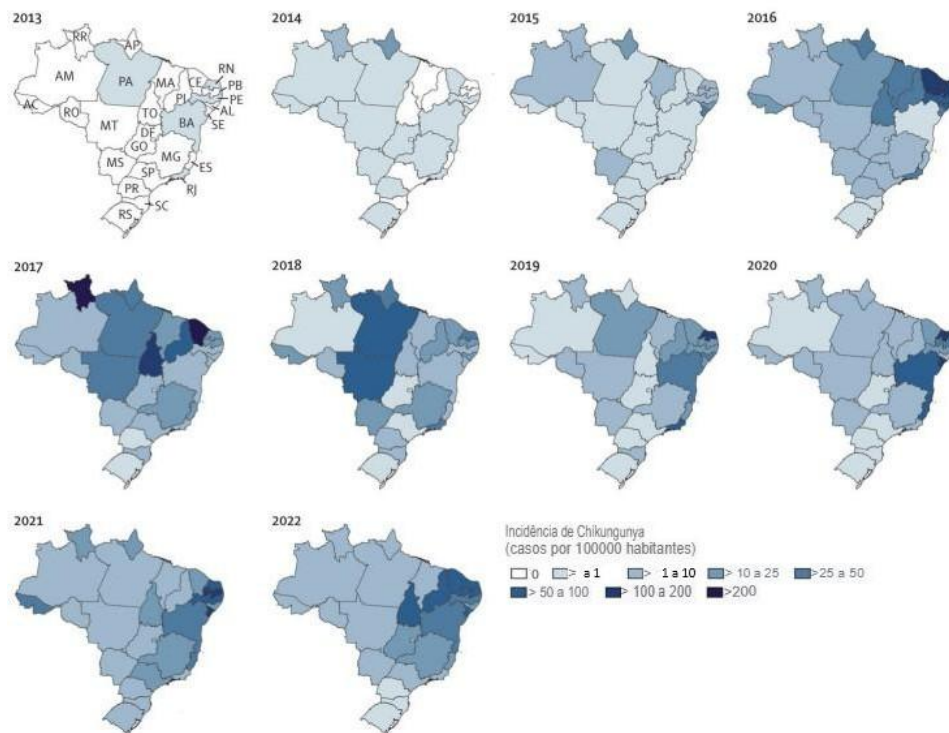
Durante 40 anos, o CHIKV esteve restrito a casos isolados no continente asiático, até que, em 2007, no Sri Lanka, reemergiu, causando uma epidemia responsável por mais de 37 mil casos suspeitos. Na África, em 2004, os primeiros surtos notificados ocorreram no Quênia e nas Ilhas Comores. O vírus presente nessas regiões é o mesmo identificado no grande surto ocorrido nas Ilhas da Reunião, no Oceano Índico, entre 2005 e 2006 (DE LIMA CAVALCANTI et al., 2022).

Nessa epidemia, muitos turistas foram infectados, contribuindo para a disseminação do CHIKV em vários países. Na Itália, em 2007, foram registrados 205 casos confirmados. Outros países também notificaram casos, como Bangladesh (2008) e Malásia (2008–2009). Neste último país, a linhagem do vírus era a do Oceano Índico (IOL), a mesma identificada em Camarões, nas ilhas do Oceano Índico, na Índia, na Itália e no Gabão. Casos autóctones também foram reportados na França em 2004 (DE LIMA CAVALCANTI et al., 2022).

Em 2013, nas Américas, os primeiros surtos de casos autóctones da linhagem asiática do vírus ocorreram na ilha de Saint Martin e na ilha da Martinica. Nos anos subsequentes (2014–2015), também foram registrados casos em Guadalupe, São Bartolomeu, Dominica, Ilhas Virgens Britânicas, Caribe, Trinidad, Colômbia e Brasil. Na ilha de Montserrat, ocorreu uma epidemia com incidência de 85.493 casos por 100.000 habitantes. (DE LIMA CAVALCANTI et al., 2022; DE SOUZA et al., 2024).

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) registrou 37.480 e 146.914 casos confirmados nos territórios das Américas em 2015 e 2016, respectivamente. A maioria dos casos notificados é proveniente de países da América do Sul, principalmente Brasil, Colômbia e Bolívia. Entre os anos de 2017 e 2023, no Brasil, foram confirmados 487.775 casos de CHIKV, com incidência de 232,1 por 100.000 habitantes (DE JESUS SANTOS et al., 2024; DE LIMA CAVALCANTI et al., 2022).

Figura 1 -Dinâmica espaço-temporal da chikungunya entre 2013 e 2022 no Brasil.

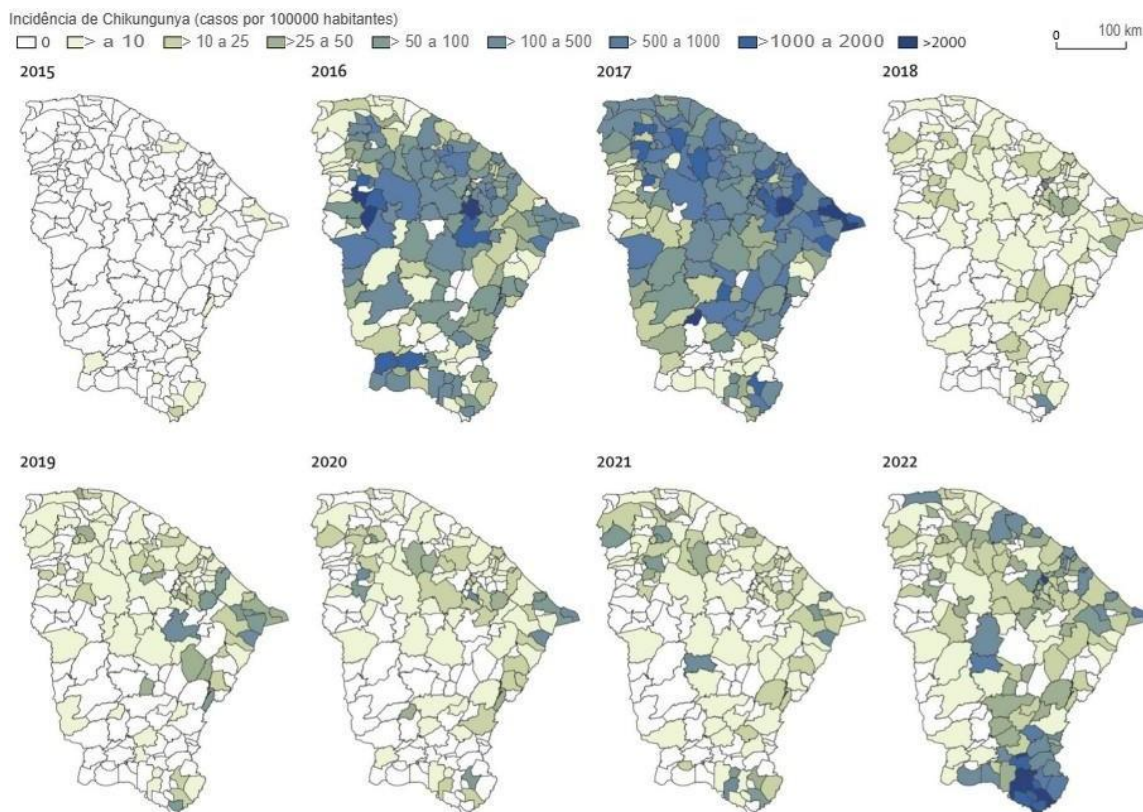


Fonte: adaptado De souza et al., 2023

As regiões mais afetadas são a Norte e a Nordeste, principalmente nas cidades de Salvador, São Luís, Recife e Fortaleza, nos estados da Bahia, Maranhão, Pernambuco e Ceará. Entretanto, na região Sudeste, existem outras localidades com alta endemicidade, principalmente nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Fatores socioeconômicos, como baixa renda, moradia precária, nível educacional reduzido e serviços de saúde deficitários, contribuem para o aumento da transmissão do vírus nessas áreas. (DE JESUS SANTOS et al., 2024).

O Ceará registrou o maior número de casos, 45.417, e uma incidência acumulada de 501,4 casos por 100.000 habitantes no período entre 2013 e 2022. Além disso, ocorreram três ondas de infecção pelo vírus Chikungunya no território cearense. Na primeira, em 2016, foram notificados 17.012 casos, com pico epidêmico de 32,5% (5.523) do total. Na segunda, em 2017, registraram-se 40.596 casos, com pico de 30,2% (15.257) desses. A última onda ocorreu em 2022, causando 19.810 casos confirmados, aproximadamente 2,2 vezes mais casos que a primeira onda e 1,6 vezes menos casos que a segunda. (DE SOUZA et al., 2023).

Figura 2 – Distribuição espaço-temporal da recidiva da chikungunya nos municípios Ceará entre 2015 a 2022.



Fonte: adaptado De souza et al., 2023.

1.3 Fisiopatologia, transmissão e diagnóstico laboratorial da chikungunya

O CHIKV apresenta dois ciclos de transmissão: o silvestre (na África) e o urbano (na África, Ásia, Europa e Américas). Os hospedeiros reservatórios do vírus são os humanos e outros animais, como os primatas, respectivamente nos períodos epidêmicos e no intervalo entre epidemias. A principal forma de transmissão ocorre pela picada dos vetores, as fêmeas dos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (HUA; COMBE, 2017; VIJAYAN; SUKUMARAN, 2016).

Em humanos, a transmissão pode ocorrer em áreas rurais ou urbanas, em regiões tropicais e subtropicais. Entre os fatores que determinam como a transmissão pode ocorrer estão os ambientais (altitude, precipitação), os ecológicos (mosquitos competidores, ciclo silvestre) e os sociais (estilo de vida, viagens a locais endêmicos). Outras formas de transmissão registradas foram a perinatal, a nosocomial e por transfusão de sangue ou doação de órgãos. (SIMON et al., 2023).

Após a picada do mosquito fêmea infectado, o CHIKV pode se instalar na derme ou na corrente sanguínea. A saliva do vetor apresenta substâncias que reduzem a sinalização da via do interferon e, conseqüentemente, promovem o aumento da carga viral. O vírus apresenta um ciclo de replicação de aproximadamente 8 horas. No tecido dérmico, o vírus se aloja nas células dendríticas, endoteliais e epiteliais, nos macrófagos, queratinócitos, células de Langerhans, melanócitos e fibroblastos (FREPPPEL et al., 2024).

O vírus se propaga pelos vasos linfáticos e chega à corrente sanguínea devido à infecção das células apresentadoras de antígenos. Na corrente sanguínea, outros locais de replicação são atingidos, apresentando alta carga viral, como, por exemplo, os tecidos conjuntivo, muscular e articular. Isso possibilita uma nova infecção e a transmissão da doença pelo vetor. (FREPPPEL et al., 2024).

A resposta imune inata, ao evitar a disseminação e controlar os efeitos nocivos do vírus durante o processo inflamatório nos locais de infecção, provavelmente é responsável pelos sintomas da doença, à medida que as células dos tecidos hospedeiros invadidos morrem. Os níveis plasmáticos das interleucinas IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 e IL-15, bem como do IFN- α , ficam elevados e são acompanhados da ativação do fator inibitório da migração de macrófagos (MIF), pró-inflamatório, que recruta leucócitos para as áreas afetadas (Freppel, 2024 #11).

Outro efeito da resposta pró-inflamatória é a liberação de citocinas e quimiocinas devido à resposta da imunidade adaptativa e à ativação de linfócitos T CD8+. Essas células atingem o pico no primeiro dia de infecção, permanecendo nesse nível por 7 a 10 semanas, principalmente em pacientes com artrite. Por fim, a resposta inflamatória agressiva gerada pelo CHIKV acomete vários órgãos, como cérebro, coração, pulmões, rins, pele e articulações (TRAVERSE et al., 2022).

A identificação do material viral do CHIKV por meio de exames laboratoriais pode ser realizada por métodos diretos: isolamento viral pela inoculação em células ou em camundongos recém-nascidos, reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa e exame de imuno-histoquímica; e por métodos indiretos: detecção de IgM e IgG por testes sorológicos, como ELISA, confirmação pela soroconversão dos títulos de anticorpos por inibição da hemaglutinação, de não reagente para reagente, e teste de neutralização por redução de placas (BRASIL, 2024).

1.4 Manifestações clínicas

1.4.1 Fase aguda

Apresenta duração de aproximadamente 14 dias. Os sintomas iniciais registrados são febre alta súbita (39 °C), contínua, intermitente ou bifásica, porém de curta duração; poliartralgia bilateral e simétrica, afetando mãos, pés, punhos, joelhos, ombros e tornozelos; cefaleia, fadiga, mialgia e exantema macular ou maculopapular. A gravidade e a permanência dos sintomas apresentam variações entre os indivíduos afetados. (BRASIL, 2024; VAIRO et al., 2019).

O exantema inicia-se no terceiro ou quarto dia e acomete entre 30% e 50% dos pacientes, nas regiões da face, do tronco, das palmas das mãos e das plantas dos pés. Outras manifestações cutâneas relatadas são: exantema com padrão urticariforme, dermatite esfoliativa, lesões vesicobolhosas, hiperpigmentação, fotossensibilidade, lesões que simulam eritema nodoso, úlceras, lesões aftoides orais, prurido e descamação nas extremidades e no pavilhão auricular (BRASIL, 2024; VAIRO et al., 2019).

A artralgia afeta 90% dos pacientes nessa fase e incapacita, além de limitar, a execução das atividades de vida diária (AVD), como escovar os dentes, tomar banho, vestir-se e alimentar-se. Em associação a esse sintoma, é frequente a presença de edema periarticular ou articular, assim como tenossinovites, rigidez articular e mialgia (BRASIL, 2024; VAIRO et al., 2019).

1.4.2 Fase pós-aguda

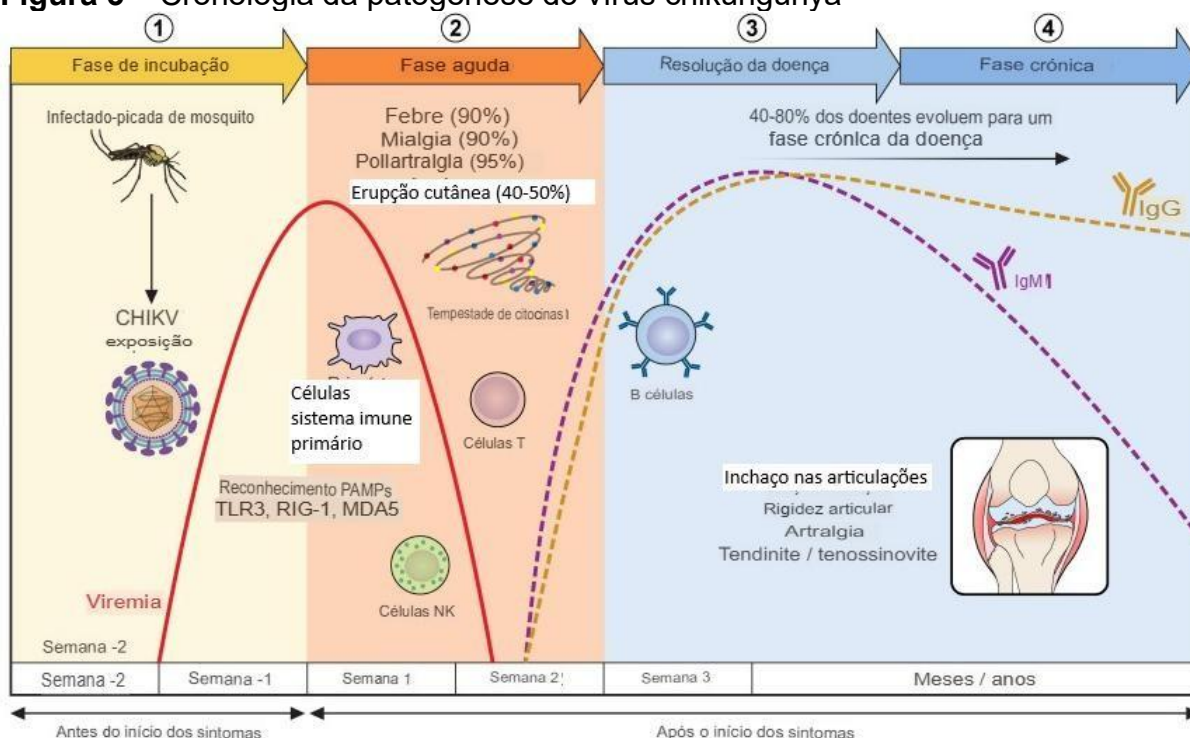
Inicia-se após 14 dias de doença e pode continuar por até três meses. Entre 45% e 75% dos pacientes entram nessa fase e apresentam persistência de manifestações musculoesqueléticas, como poliartralgia, poliartrite de alta intensidade associada à rigidez matinal, dor neuropática, síndrome do túnel do carpo, astenia, depressão, febre recorrente e lesões purpúricas, vesiculares e bolhosas (BRASIL, 2024; PATHAK; MOHAN; RAVINDRAN, 2019).

1.4.3 Fase Crônica

Caracteriza-se pela permanência de sintomas musculoesqueléticos semelhantes aos relatados na fase anterior, por um período superior a três meses, com dores de forte intensidade que podem incapacitar a realização das AVDs. A gravidade da persistência dessas manifestações clínicas provoca, ainda, distúrbios do sono e da memória, depressão e redução da capacidade de concentração (BRASIL, 2024; BRITO et al., 2020).

Os fatores associados ao maior risco de os pacientes com CHIKV ingressarem nessa fase são: sexo feminino; idade superior a 45 anos; dor intensa; presença de edema, rigidez ou poliartrite na fase aguda; doença articular prévia; diabetes; alta carga viral e níveis elevados de proteína C reativa na fase aguda; e IgM persistentemente elevada. (BRASIL, 2024; BRITO et al., 2020).

Figura 3 – Cronologia da patogênese do vírus chikungunya



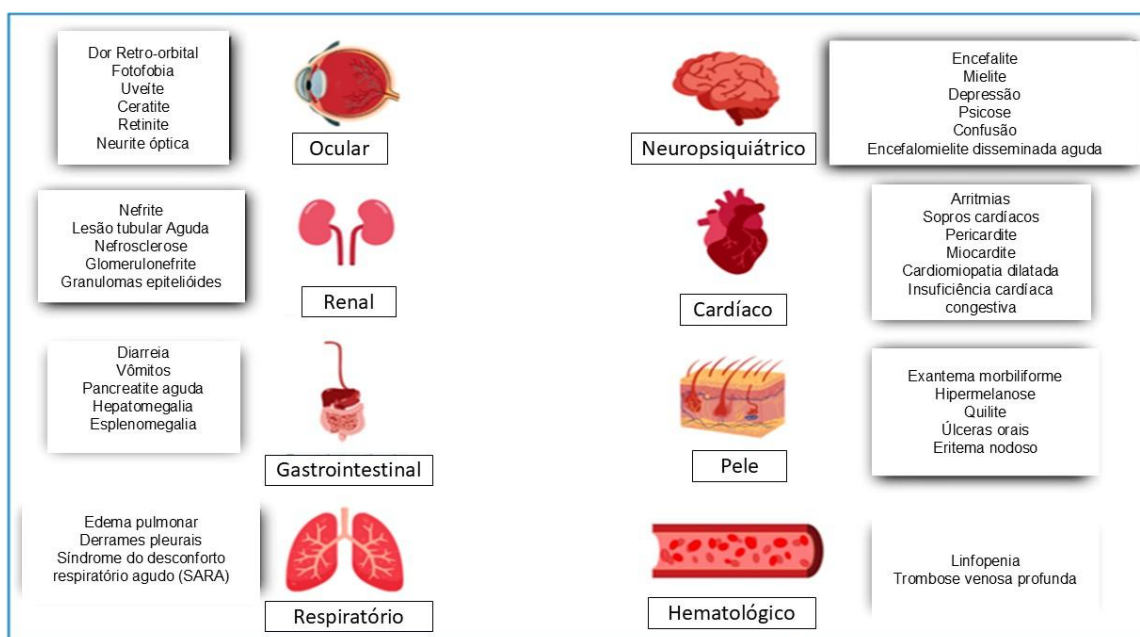
Fonte: adaptado de Freppel et al., 2024.

1.4.4 Manifestações extra-articulares e grave da Chikungunya

São resultantes do acometimento de órgãos e sistemas, com ou sem associação às queixas musculoesqueléticas, devido à ação direta do CHIKV, à

resposta inflamatória sistêmica ou à descompensação indireta de comorbidades, podendo ou não estar relacionadas à sepse ou ao choque séptico, o que aumenta a morbimortalidade dos pacientes afetados. Citam-se como manifestações extra-articulares: miocardite, insuficiência respiratória, encefalite e insuficiência renal aguda. Outros exemplos estão na Figura 4 (BRASIL, 2024; OLIVEIRA et al., 2023; RAJAPAKSE; RODRIGO; RAJAPAKSE, 2010)

Figura 4 - Manifestações extra-articulares da chikungunya



Fonte: adaptado de Oliveira et al., 2023.

A chikungunya grave é caracterizada por sinais clínicos e exames laboratoriais que confirmam a falha de um órgão ou sistema, exigindo internação hospitalar para tratamento. Nos casos graves, geralmente o paciente pode não apresentar queixas articulares, mas sim complicações clínicas cardiovasculares, respiratórias, renais, neurológicas e distúrbios de coagulação (BRASIL, 2024; TORRES DOS SANTOS LOPES et al., 2023).

O perfil da população mais frequentemente acometida inclui recém-nascidos, indivíduos com mais de 65 anos, pacientes com comorbidades (como diabetes, hipertensão, doença renal crônica, asma, insuficiência cardíaca, doenças reumatológicas, anemia falciforme e talassemia) e aqueles que utilizam, em doses elevadas, aspirina, anti-inflamatórios ou paracetamol. Esses fatores aumentam o risco

de morte, embora casos de chikungunya grave também tenham sido registrados em outras faixas etárias, sem comorbidades (BRASIL, 2024; PINTO et al., 2019).

1.5 Biomarcadores inflamatórios e a Chikungunya

Os biomarcadores são definidos como qualquer medida ou característica mensurável (substância, estrutura ou processo) que, ao ser avaliada no organismo ou em seus produtos, sirva como indicador ou preditor de respostas biológicas normais ou patológicas, relacionadas ou não a um tratamento. Eles são classificados conforme sua aplicação clínica, por exemplo, na identificação da suscetibilidade ou predisposição a uma doença, no diagnóstico, no prognóstico e na avaliação da segurança de tratamentos. (GARCÍA DE YÉBENES PROUS; CARMONA ORTELLS, 2024; SCHIFFMANN, 2025).

Em relação à CHIK, os biomarcadores inflamatórios foram utilizados para avaliar o prognóstico da doença. Na fase aguda, foram identificadas citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, como IFN- α , IFN- γ , IL-2R, IL-6, IL-7, IL-8, IL-1Ra, IL-4 e IL-27; quimiocinas, como MCP-1, MIG e IP-10; fatores de crescimento, como VEGF e G-CSF; e as proteínas GAL-9 e HMGB1. Essas substâncias estão relacionadas aos processos inflamatórios, à resposta antiviral e à degradação óssea (LOZANO-PARRA et al., 2024).

Outro estudo, com pacientes provenientes da Ásia e da Europa, relatou também, na fase aguda, níveis elevados de IL-2, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, MIP-1 α , MIP-1 β e FGF- β , com exceção de VEGF e IL-8, o que provavelmente pode ser explicado pelas diferenças genéticas entre os participantes dos estudos analisados (TENG et al., 2015).

Quanto à cronicidade, os potenciais biomarcadores inflamatórios associados incluem IL-6, TNF- α , MCP-1, IL-12, IFN- α , IL-13, IFN- γ , GM-CSF, PCR, IL-1 α , IL-15, fator VII, IP-10, IL-10, IL-4, IL-1Ra, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , ferritina, MIG, VHS, NO e MDA, devido ao aumento de seus níveis; enquanto RANTES, ferritina, eotaxina, HGF, IL-27, IL-17A, IL-29, TGF- β e IL-10 estão associados à redução de suas concentrações (FERREIRA et al., 2021).

Entre esses biomarcadores inflamatórios, destacam-se, por serem os mais recorrentes nos estudos, principalmente IL-6 e MCP-1. Tanto a IL-6 quanto a MCP-1 apresentaram níveis elevados após 10 meses de acompanhamento, provavelmente

influenciados pela persistência do CHIKV em pacientes crônicos. Além disso, IL-6 e MCP-1 participam da degradação óssea, sendo que a IL-6 autorregula sua produção e estimula positivamente a expressão de MCP-1, contribuindo para a patogênese da artralgia crônica na CHIK (FERREIRA et al., 2021; LOZANO-PARRA et al., 2024).

A maioria das pesquisas sobre biomarcadores inflamatórios na chikungunya se restringe à análise de uma fase da doença (aguda ou crônica) por vez, considerando apenas as manifestações clínicas encontradas nos pacientes nessa etapa da patologia. Há escassez de dados na literatura sobre estudos que avaliem a curva de desenvolvimento dos biomarcadores ao longo das diferentes fases da chikungunya, bem como que comparem pacientes com diferentes tempos de doença.

Portanto, a investigação de outros tipos de biomarcadores nesses dois cenários seria importante para a obtenção de novas evidências sobre o processo fisiopatológico da doença e a persistência dos sintomas a longo prazo.

1.6 Biomarcadores endoteliais e a Chikungunya

1.6.1 Angiopoetina-2

A angiopoietina-2 é um fator de crescimento secretado por células endoteliais vasculares e epiteliais, sendo expressa em homeostase por órgãos como ovários, útero e placenta (WU; XU; HUANG, 2020).

São proteínas responsáveis pela formação de vasos sanguíneos, por se ligarem ao receptor de tirosina quinase Tie2 e estabelecerem interações estáveis entre as células endoteliais e o mesênquima circundante. Além de atuarem como mediadores da angiogênese, a ANG-2 também pode regular a integridade do endotélio e o processo inflamatório, ao facilitar a migração e a proliferação das células endoteliais (LÓPEZ-MEJÍAS et al., 2013).

Isso ocorre em situações patológicas, pois a angiopoietina-2 provoca instabilidade vascular, aumentando a responsividade do endotélio aos estímulos de citocinas inflamatórias e angiogênicas. Recentemente, os níveis de Angpt-2 têm sido associados a patologias autoimunes, como a artrite reumatoide (LÓPEZ-MEJÍAS et al., 2013; WU et al., 2020).

1.6.2 Molécula de adesão celular vascular 1

A molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) é uma glicoproteína expressa predominantemente por células endoteliais. Em processos inflamatórios e crônicos comuns a algumas doenças, o VCAM-1 também pode ser expresso por macrófagos, baço, timo e células de Kupffer, células dendríticas, fibroblastos da medula óssea, mioblastos, oócitos, células de Sertoli e células cancerígenas (KONG et al., 2018; SALEM; ZAHRAN, 2021).

Citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), espécies reativas de oxigênio, hiperglicemia, estresse de cisalhamento e agonistas do receptor toll-like, controlam a expressão do VCAM-1. Na inflamação, a função do VCAM-1 é regular a adesão dos leucócitos às células endoteliais. Além disso, o VCAM-1 está relacionado à fisiopatologia de doenças autoimunes, cardiovasculares, metástase tumoral, asma e rejeição de transplante (KONG et al., 2018; SALEM; ZAHRAN, 2021).

1.6.3 Sydecan-1

O syndecan-1 (SYN-1) é um proteoglicano com múltiplas ligações entre cadeias de glicosaminoglicanos e resíduos de serina no núcleo proteico. Está localizado na superfície de várias células, sendo mais predominante em células epiteliais e endoteliais. Devido às suas cadeias de sulfato de heparina, o SYN-1 apresenta ampla capacidade de se ligar a diversas substâncias, como componentes da matriz extracelular, quimiocinas, citocinas, fatores de crescimento e seus respectivos receptores (JURJUS et al., 2024; RODRIGUEZ-JIMENEZ et al., 2024).

Por causa dessa característica, o SYN-1, por meio de mecanismos de sinalização independentes, pode regular a adesão, migração, proliferação, diferenciação celular e a organização da matriz extracelular. Além disso, no processo inflamatório de doenças não infecciosas, atua como inibidor, reduzindo a expressão e a atividade de fatores pró-inflamatórios (JURJUS et al., 2024; RODRIGUEZ-JIMENEZ et al., 2024).

1.7 JUSTIFICATIVA

A chikungunya (CHIK) representa importante problema de saúde pública, especialmente em regiões tropicais, devido à elevada proporção de pacientes que evoluem para manifestações articulares persistentes, com impacto significativo na qualidade de vida, produtividade laboral e custos assistenciais. Apesar do reconhecimento da fase crônica da doença, os mecanismos biológicos que determinam sua manutenção ainda não estão completamente esclarecidos.

Evidências recentes sugerem que, além da resposta imune adaptativa, a disfunção endotelial pode desempenhar papel relevante na perpetuação do estado inflamatório. O endotélio exerce função central na regulação da permeabilidade vascular, recrutamento leucocitário e modulação da resposta inflamatória. A ativação endotelial sustentada pode favorecer a migração de células inflamatórias para o tecido sinovial, contribuindo para a manutenção da inflamação articular crônica.

Nesse contexto, a seleção dos biomarcadores angiopoietina-2 (ANG-2), molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) e syndecan-1 (SYN-1) fundamenta-se em seus papéis biológicos complementares na fisiopatologia vascular.

A ANG-2 é um modulador-chave do eixo Ang/Tie2, atuando como desestabilizador do endotélio e amplificador da resposta inflamatória, sendo descrita como marcador de ativação endotelial e inflamação sistêmica persistente. A VCAM-1, por sua vez, é molécula de adesão envolvida na migração leucocitária e recrutamento celular para sítios inflamatórios, estando associada à atividade de doenças inflamatórias crônicas. O SYN-1 é um componente do glicocálix endotelial, cuja degradação reflete dano estrutural da superfície vascular e aumento da permeabilidade.

Embora esses biomarcadores tenham sido amplamente estudados em condições inflamatórias crônicas e autoimunes, como artrite reumatoide e sepse, sua investigação no contexto da chikungunya crônica ainda é limitada. A avaliação integrada dessas três moléculas permite explorar diferentes dimensões da disfunção endotelial: ativação, adesão celular e dano estrutural. O que oferece uma abordagem fundamentada no mecanismo para compreender o possível papel do endotélio na persistência da inflamação associada à CHIK.

Dessa forma, a investigação desses biomarcadores pode contribuir para elucidar mecanismos fisiopatológicos da cronicidade, além de identificar potenciais ferramentas prognósticas e alvos terapêuticos futuros.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar a associação dos biomarcadores endoteliais e suas repercussões clínicas em pacientes com a forma crônica da Chikungunya.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil clínico dos pacientes crônicos com CHIK.
- Analisar os níveis dos biomarcadores endoteliais nos pacientes crônicos com CHIK segmentados em grupos com diferentes tempos de doença em comparação valores de referência dos kits de mensuração.
- Avaliar os biomarcadores VCAM-1, SYN-1, ANG-2 comparando sua concentração entre pacientes crônicos com CHIK com ou sem sintomas ou comorbidades.
- Investigar possível associação dos biomarcadores VCAM-1, SYN-1, ANG-2 com tempo de doença dos pacientes crônicos com CHIK.
- Avaliar a capacidade preditiva dos biomarcadores VCAM-1, SYN-1, ANG-2 através da curva ROC-AUC no tempo de doença de 720 dias.

3 MATERIAS E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de estudo transversal com amostra de conveniência, para o qual, foram convidados a participar 51 casos crônicos com diagnóstico laboratorial confirmado de chikungunya, selecionados durante a coorte do “Estudo da história natural e resposta terapêutica da chikungunya, com foco nas manifestações musculoesqueléticas agudas e crônicas em Fortaleza-CE”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFC, com parecer nº 4.565.342, atualmente em andamento, realizado na Unidade Básica de Saúde Oliveira Pombo, Fortaleza, Ceará, Brasil. Foram utilizados como controles os valores de referência dos kits de cada biomarcador endotelial utilizados na pesquisa.

3.2 Aspectos éticos

O protocolo do estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque e com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta a ética em pesquisa com seres humanos no Brasil, e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFC, com parecer nº 5.761.906. A coleta de dados foi realizada após parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da UFC (PROPESQ). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A).

3.3 Critérios de elegibilidade

Foram incluídos pacientes com idade ≥ 18 anos, apresentando quadro de artralgia após episódio febril, referenciados para investigação de doença causada pelos vírus da chikungunya, Zika ou dengue. Foram excluídos pacientes com outras enfermidades febris agudas, foco febril evidente (por exemplo, celulite ou abscesso), transtornos mentais graves ou que impossibilitassem a coleta de informações, seja por distúrbios de comunicação, falta de fluência na língua portuguesa ou outro idioma não compreendido pelo médico assistente.

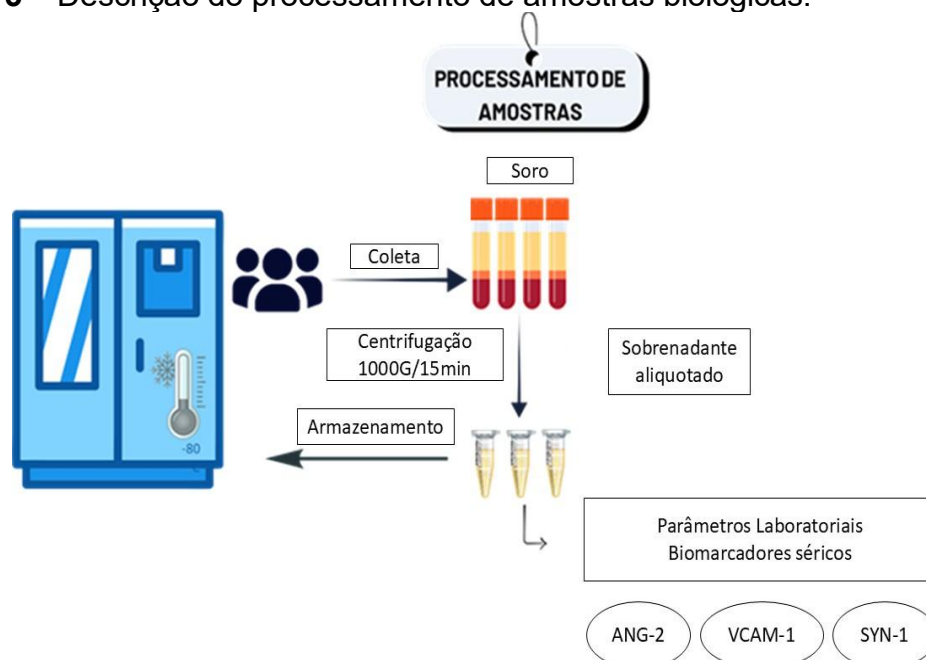
3.4 Coleta e processamento das amostras biológicas

Foram coletadas amostras de sangue venoso com gel separador (8mL) dos pacientes e, posteriormente, centrifugadas por 15 minutos para a obtenção do soro. Em seguida, o soro foi aliquotado especificamente para cada análise e também congelado a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Os biomarcadores endoteliais VCAM-1, SYN-1 e ANG-2 foram quantificados em alíquotas específicas das amostras separadas no dia da coleta. Para essas quantificações, foi utilizada a técnica de ELISA, um ensaio imunoenzimático de alta sensibilidade e especificidade, empregando kits específicos com anticorpos e outros reagentes para viabilizar as análises.

Todos os testes laboratoriais necessários para este projeto foram realizados em parceria com o Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica, vinculado ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, sob a coordenação da Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins, integrante do Grupo de Estudos em Nefrologia Tropical.

Figura 5 – Descrição do processamento de amostras biológicas.



3.5 Instrumentos e medidas

3.5.1 Avaliação dos novos biomarcadores endoteliais

Os novos biomarcadores endoteliais, a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), Syndecan-1 (SYN-1) e Angiopoietina-2 (Ang-2) foram quantificados em alíquotas específicas das amostras separadas no dia da coleta. O material analisado foi o soro. Para essas quantificações, foi utilizada a técnica de ELISA, um ensaio imunoenzimático de alta sensibilidade e especificidade. Foram adquiridos kits comerciais de ELISA, com reagentes suficientes para 5 a 15 placas de 96 testes para cada marcador quantificado, proporcionando, assim, melhor custo-benefício para o presente estudo.

3.6 Parâmetros estudados

Características clínicas: idade, sexo, comorbidades e sintomas, tempo de doença, biomarcadores endoteliais.

3.7 Protocolo Clínico

Os casos de Chikungunya com diagnóstico laboratorial de detecção de RNA viral por RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa), confirmados pelo “Estudo da história natural e resposta terapêutica de Chikungunya com foco nas manifestações musculoesqueléticas agudas e crônicas em Fortaleza-CE”, e que aceitaram participar da pesquisa, foram encaminhados para assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e realizar a coleta de amostras de sangue.

A execução das coletas de sangue foi realizada pela equipe do projeto mencionado, mediante fornecimento do material. Após a coleta, os casos foram integrados à casuística final do estudo.

3.8 Análise estatística

Os dados obtidos a partir dos questionários e da análise dos biomarcadores foram digitados em planilha no programa Microsoft Excel 2003. Todas as análises foram realizadas utilizando os programas STATA para Windows, versão 17.0 (StataCorp., College Station, TX, USA) e R (versão 4.3.1; R Core Team, 2021), considerando nível de significância de $p < 0,05$. Inicialmente, todas as variáveis foram analisadas descritivamente. As variáveis qualitativas foram expressas em contagem absoluta e frequência percentual. Para comparação dos dados qualitativos entre grupos, foram aplicados o teste do Qui-quadrado ou o teste exato de Fisher, quando apropriado.

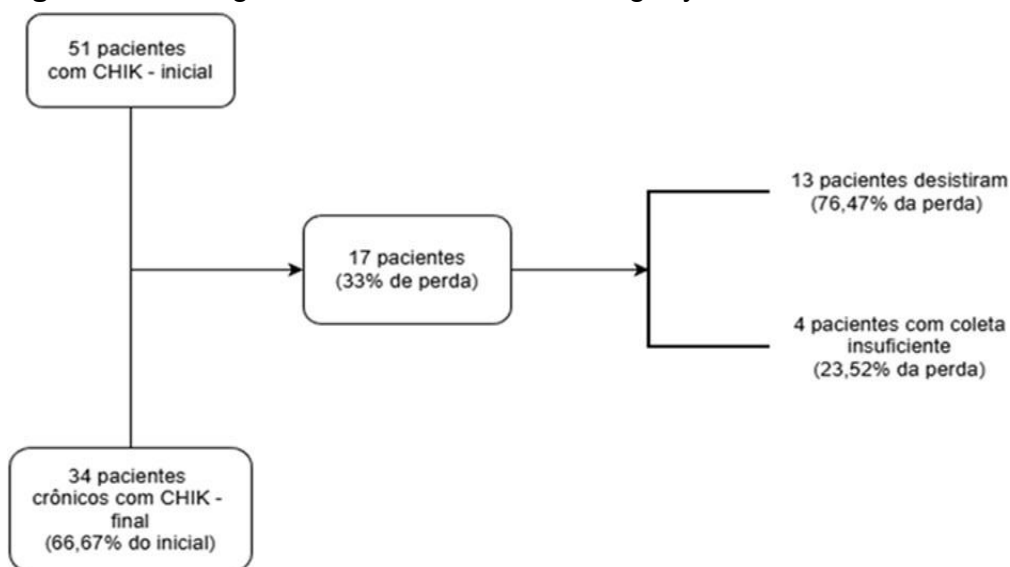
Para as variáveis contínuas, a normalidade foi avaliada utilizando o teste de Shapiro-Wilk, histogramas e gráficos Q-Q. As variáveis quantitativas com distribuição normal foram apresentadas como média \pm desvio-padrão, enquanto as não-normais foram descritas por mediana e amplitude interquartil. Na condição de normalidade, a comparação entre duas médias foi realizada pelo teste t de Student; na ausência de normalidade, aplicou-se o teste de Mann-Whitney.

Na comparação entre três ou mais grupos independentes, foram utilizados o teste ANOVA ou o teste de Kruska-wallis, conforme apropriado, seguidos pelos pós-testes correspondentes. Além disso, para as variáveis quantitativas, foram realizadas análises de correlação utilizando o coeficiente de correlação de Pearson ou o coeficiente Rho de Spearman, de acordo com a distribuição dos dados. A avaliação da performance preditiva dos biomarcadores em relação ao tempo de doença de 720 dias foi realizada através da mensuração da área sob a curva ROC (AUC-ROC).

4 RESULTADOS

4.1 População de casos crônicos com CHIK participantes do estudo.

Foram incluídos inicialmente 51 pacientes crônicos com CHIK. Após a coleta de amostras, permaneceram apenas 34 casos crônicos. Os critérios de exclusão dos 17 participantes restantes estão descritos na Figura 6.

Figura 6 - Fluxograma de casos com chikungunya incluídos no estudo.

4.2 Características clínicas dos 34 casos crônicos com CHIK.

A idade média dos casos crônicos foi de $45,11 \pm 15,86$ anos, com predominância do sexo feminino, 26 (76,47%). A maioria dos casos, 20 (58,82%), apresentou 360 dias de duração da doença. As comorbidades mais frequentes foram anemia, rinite e doenças reumatológicas, presentes em 4 (11,74%) dos casos. Quanto aos sintomas, os de maior prevalência foram rigidez matinal 28 (82,35%), artralgia 22 (64,71%) e edema 16 (47,06%). Outras informações clínicas sobre a amostra estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados clínicos dos casos crônicos com chikungunya.

Chikungunya (n = 34)*	
Idade (anos)	45,11±15,86
Sexo Feminino	26(76,47)
Tempo de doença	
180 dias	8(23,53)
360 dias	20(58,82)
720 dias	6(17,65)
Comorbidades	
Anemia	4(11,76)
Rinite	4(11,76)
Doença reumatológica	4(11,76)
Asma	2(5,88)

Doença hepática	2(5,88)
Hipertensão	1(2,94)
Doença oftalmológica	1(2,94)
Doença vascular	1(2,94)
Neoplasia	1(2,94)
Sintomas	
Rigidez matinal	28(82,35)
Artralgia	22(64,71)
Edema	16(47,06)
Fadiga	15(44,12)
Parestesia	14(41,18)
Cefaleia	13(38,24)
Alteração de memória	12(35,29)
Lombalgia	12(35,29)
Alopecia	9(26,47)
Insônia	9(26,47)
Prurido	8(23,53)
Depressão	6(17,65)
Lesão cutânea	6(17,65)
Alteração de libido	5(14,71)
Mialgia	5(14,71)
Turvação visual	5(14,71)
Rash cutâneo	3(8,82)
Diarreia	2(5,88)
Disestesia	2(5,88)
Febre	2(5,88)
Hiperemia conjuntival	2(5,88)
Palidez cutânea mucosa	2(5,88)
Náusea	1(2,94)
Vômitos	1(2,94)

*N (%), media \pm desvio padrão.

4.3 Características clínicas dos casos crônicos com CHIK associados ao tempo de doença.

Entre os grupos com diferentes tempos de doença, a idade média mais elevada foi observada nos casos com 180 dias, $49,75 \pm 17,24$ anos. O grupo com 360 dias apresentou predominância do sexo feminino, 16 (80%). A maior quantidade de comorbidades ocorreu nos casos com 180 dias, 8 (40%), enquanto a maior frequência de sintomas foi observada nos casos com 360 dias, 115 (57,5%).

Nos casos com 180 dias, as comorbidades mais registradas foram anemia e rinite, ambas em 2 (25%) pacientes. Nos casos com 360 dias, as comorbidades mais frequentes foram cefaleia 9 (45%), fadiga 8 (40%), parestesia 9 (45%), artralgia 14 (70%), edema 9 (45%), lombalgia 7 (35%), alteração de memória 9 (45%) e rigidez matinal 16 (80%).

Apenas o sintoma rinite e a comorbidade alteração de memória apresentaram diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os três grupos com tempos de doença distintos, com $p = 0,030$ e $p = 0,047$, respectivamente.

Tabela 2 - Dados dos pacientes com chikungunya em relação ao tempo de doença

Grupos	Chikungunya (n = 34)*			P-valor
	180 dias (n = 8)	360 dias (n = 20)	720 dias (n = 6)	
Sexo feminino	6(75)	16(80)	4(66,67)	0,390 ^α
Idade	49,75±17,24	45,8±15,67	36,66±13,75	0,857 ^α
Comorbidades	8(40)	5(25)	7(35)	
Hipertensão	0	0	1(16,67)	0,176 ^β
Anemia	2(25)	1(5)	1(16,67)	0,240 ^β
Asma	1(12,50)	1(5)	0	0,661 ^β
Rinite	2(25)	0	2(33,33)	0,030^β
Doença reumatológica	1(12,50)	2(10)	1(16,67)	1,000 ^β
Doença vascular	0	0	1(16,67)	0,176 ^β
Neoplasia	0	0	1(16,67)	0,176 ^β
Doença hepática	1(12,50)	1(5)	0	0,661 ^β
Doença oftalmológica	1(12,50)	0	0	0,412 ^β
Sintomas	38(49)	115(57,5)	47(23,5)	
Febre	0	1(5)	1(16,67)	0,376 ^β
Cefaleia	2(25)	9(45)	2(33,33)	0,705 ^β
Fadiga	3(37,50)	8(40)	4(66,67)	0,625 ^β
Palidez cutânea mucosa	0	2(10)	0	1,000 ^β
Hiperemia conjuntival	0	2(10)	0	1,000 ^β
Turvação visual	2(25)	1(5)	2(33,33)	0,093 ^β
Náusea	0	0	1(16,67)	0,176 ^β
Vômitos	0	0	1(16,67)	0,176 ^β
Diarreia	0	1(5)	1(16,67)	0,376 ^β
Parestesia	2(25)	9(45)	3(50)	0,625 ^β
Disestesia	0	1(5)	1(16,67)	0,376 ^β
Artralgia	4(50)	14(70)	4(66,67)	0,549 ^β
Edema	4(50)	9(45)	3(50)	1,000 ^β
Mialgia	1(12,50)	3(15)	1(16,67)	1,000 ^β

Lombalgia	3(37,50)	7(35)	2(33,33)	1,000 ^β
Prurido	2(25)	3(15)	3(50)	0,247 ^β
Rash cutâneo	1(12,50)	2(10)	0	1,000 ^β
Lesão cutânea	1(12,50)	4(20)	1(16,67)	1,000 ^β
Depressão	1(12,50)	2(10)	3(50)	0,084 ^β
Insônia	2(25)	5(25)	2(33,33)	1,000 ^β
Alopecia	2(25)	4(20)	3(50)	0,415 ^β
Alteração de memória	0	9(45)	3(50)	0,047^β
Alteração de libido	1(12,50)	3(15)	1(16,67)	1,000 ^β
Rigidez matinal	7(87,50)	16(80)	5(83,33)	1,000 ^β

*N (%), media ± desvio padrão, α – kruska-wallis, β – teste exato de fischer.

4.4 Avaliação dos níveis de biomarcadores entre os casos crônicos com tempo de doença distintos em relação aos valores de referência.

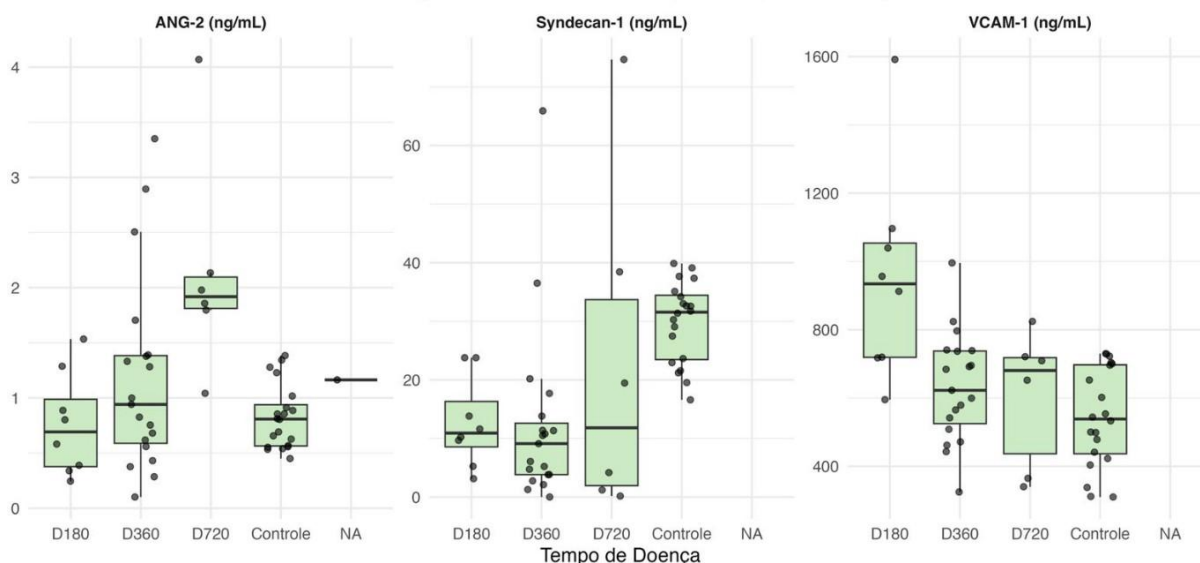
Os biomarcadores ANG-2, VCAM-1 e SYN-1 apresentaram diferenças significativas na comparação entre os casos com diferentes tempos de doença e os valores de referência, com $p = 0,007$, $p = 0,004$ e $p < 0,001$, respectivamente (Tabela 3). A distribuição desses biomarcadores está apresentada na Figura 7.

No pós-teste da ANG-2, os casos com 720 dias de doença apresentaram diferença significativa em relação aos valores de referência ($p = 0,010$) e aos casos com 180 dias ($p = 0,008$). No pós-teste do VCAM-1, apenas a comparação entre os casos com 180 dias e os valores de referência apresentou diferença significativa ($p = 0,001$). Por fim, no pós-teste do SYN-1, os valores de referência mostraram diferenças significativas em relação aos casos com 180 dias ($p = 0,031$) e com 360 dias ($p < 0,001$).

Tabela 3 - Avaliação dos níveis de biomarcadores entre os casos crônicos com tempo de doença distintos em relação aos valores de referência

Biomarcador	180 dias	360 dias	720 dias	Valores de referência	P- Valor
ANG-2	0,7 (0,4 – 1,1)	0,9 (0,6 - 1,4)	1,9 (1,8 – 2,1)	0,8 (0,6 - 1,0)	0,007^{αμ}
VCAM-1	934,5 (718,9 - 1,068.1)	622,8 (508,5 – 738,9)	680,8 (365,1 – 721,2)	538,8 (432,3 - 698,5)	0,004^{αμ}
SYN-1	10,9 (7,5 – 18,8)	9,1 (3,8 – 13,8)	11,8 (1,2 – 38,4)	31,6 (23,3 - 34,6)	<0,001^{αμ}

ANG-2 (angiopoietina 2), VCAM-1 (molécula de adesão de células vasculares 1), SYN-1 (syndecan-1), mediana (intervalo interquartil), ^αteste de Kruskal–Wallis, ^μPós-teste de Kruskal–Wallis: ANG-2 – 180 dias vs 720 dias, $p = 0,010$; 360 dias vs 720 dias, $p = 0,070$; 720 dias vs valores de referência, $p = 0,008$; VCAM-1 – 180 dias vs valores de referência, $p = 0,001$; SYN-1 – 180 dias vs valores de referência, $p = 0,031$; 360 dias vs valores de referência, $p = 0,000$.

Figura 7 - Distribuição dos biomarcadores por tempo de doença.

ANG-2 (angiopoietina 2), VCAM-1 (molécula de adesão de células vasculares-1), SYN-1 (syndecan-1), D180 - 180 dias, D360 - 360 dias, D720 - 720 dias, Controle - valores de referência, NA - não aplicável

4.5 Análise dos biomarcadores nos casos crônicos com ou sem comorbidades e/ou sintomas.

O biomarcador ANG-2 apresentou diferença significativa e níveis elevados nos casos com depressão em relação àqueles sem esse sintoma ($p = 0,037$), conforme mostrado, especialmente, na Figura 8. Níveis aumentados de ANG-2 também foram observados nos casos com rigidez matinal, parestesia, disestesia e lesões cutâneas, em comparação aos pacientes sem essas manifestações clínicas, embora sem diferença estatisticamente significativa. Esses dados estão descritos na Tabela 4.

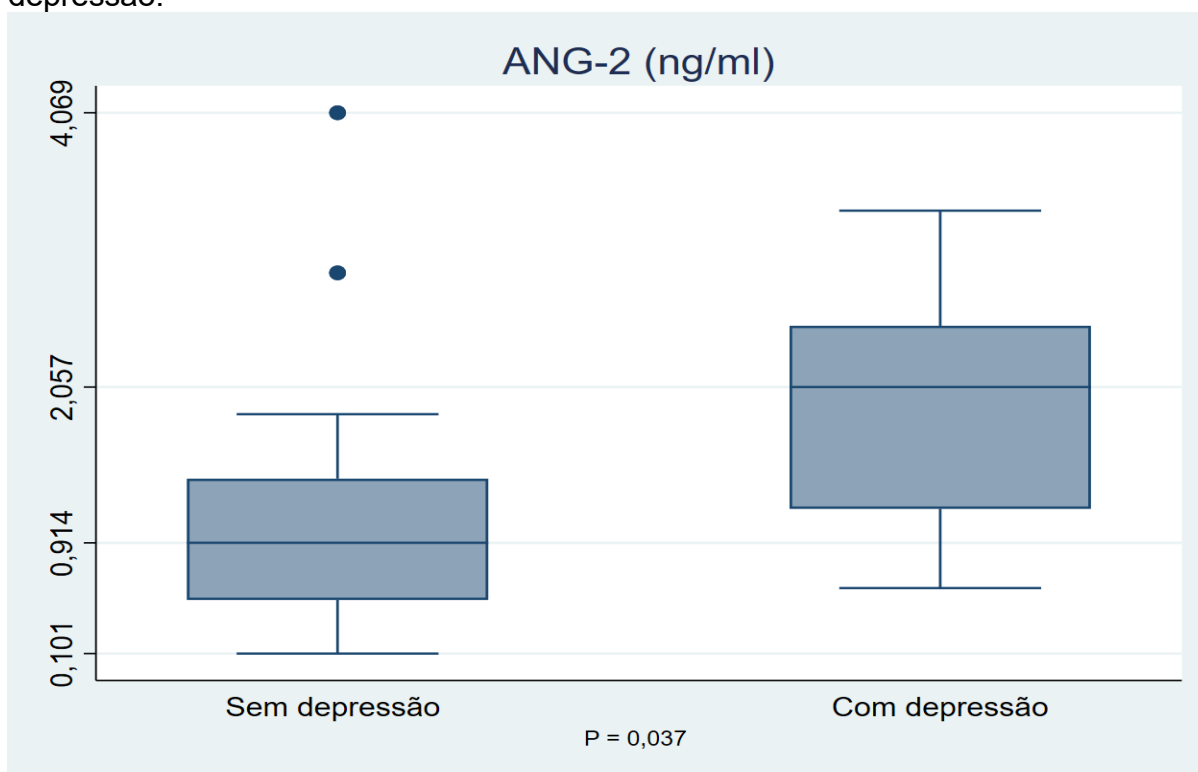
Tabela 4 – Avaliação do angiopoietina 2 nos pacientes com chikungunya em relação a presença de comorbidade e/ou sintomas.

Comorbidades/Sintomas	ANG-2 (mediana, intervalo interquartil)		P- Valor
	Não	Sim	
Hipertensão	0,99 (0,58 – 1,53)	1,85 (1,85 – 1,85)	0,284 ^β
Anemia	1,02 (0,61 – 1,79)	0,77 (0,36 – 1,43)	0,422 ^β
Asma	1,10 (0,60 – 1,75)	0,63 (0,37 – 0,88)	0,272 ^β
Rinite	1,02 (0,55 – 1,53)	1,32 (0,69 – 1,99)	0,593 ^β
Doença reumatológica	1,10 (0,58 – 1,70)	0,72 (0,50 – 1,34)	0,512 ^β
Doença vascular	0,99 (0,58 – 1,53)	1,85 (1,85 – 1,85)	0,284 ^β
Neoplasia	0,99	1,16	0,878 ^β

	(0,58 – 1,70)	(1,16 – 1,16)	
Doença hepática	1,02	1,44	0,883 ^β
	(0,60 - 1,61)	(0,38 – 2,50)	
Doença oftalmológica	1,04	0,38	0,241 ^β
	(0,61 – 1,70)	(0,38 - 0,38)	
Febre	0,97	1,88	0,124 ^β
	(0,57 – 1,46)	(1,79 – 1,97)	
Cefaleia	0,82	1,28	0,405 ^β
	(0,58 – 1,53)	(0,94 – 1,79)	
Fadiga	0,99	1,16	0,543 ^β
	(0,58 – 1,39)	(0,55 – 1,97)	
Palidez cutânea mucosa	1,02	1,59	0,608 ^β
	(0,57 – 1,61)	(0,68 – 2,50)	
Hiperemia conjuntival	1,02	1,36	0,558 ^β
	(0,57 – 1,61)	(0,94 – 1,79)	
Turvação visual	1,04	0,99	0,511 ^β
	(0,61 – 1,70)	(0,38 – 1,16)	
Náusea	0,99	2,13	0,202 ^β
	(0,58 – 1,53)	(2,13 – 2,13)	
Vômitos	0,99	2,13	0,202 ^β
	(0,58 – 1,53)	(2,13 – 2,13)	
Diarreia	0,97	1,22	0,107 ^β
	(0,50 – 1,61)	(0,68 – 1,79)	
Parestesia	0,97	1,22	0,752 ^β
	(0,50 – 1,61)	(0,68 – 1,79)	
Disestesia	0,97	1,62	0,213 ^β
	(0,57 – 1,61)	(1,39 – 1,85)	
Artralgia	1,33	0,91	0,330 ^β
	(0,74 – 1,61)	(0,55 – 1,79)	
Edema	1,16	0,87	0,351 ^β
	(0,80 – 1,53)	(0,40 – 1,82)	
Mialgia	1,04	0,88	0,826 ^β
	(0,61 – 1,53)	(0,43 – 2,50)	
Lombalgia	1,10	0,84	0,913 ^β
	(0,61 – 1,53)	(0,57 – 2,05)	
Prurido	1,02	0,92	0,569 ^β
	(0,61 – 1,53)	(0,35 – 1,82)	
Rash cutâneo	1,04	0,68	0,479 ^β
	(0,58 – 1,70)	(0,24 – 1,79)	
Lesão cutânea	0,97	1,24	0,258 ^β
	(0,49 – 1,61)	(0,88 – 2,50)	
Depressão	0,91	2,05	0,037^β
	(0,49 – 1,38)	(1,16 – 2,50)	
Insônia	0,88	1,28	0,265 ^β
	(0,43 – 1,70)	(0,94 – 1,39)	
Alopecia	0,99	1,04	0,922 ^β
	(0,58 – 1,70)	(0,82 – 1,39)	
Alteração de memória	1,05	1,02	0,745 ^β
	(0,58 – 1,79)	(0,65 – 1,36)	
Alteração de libido	1,04	0,37	0,422 ^β
	(0,68 – 1,53)	(0,24 – 2,13)	
Rigidez matinal	0,81	1,10	0,619 ^β
	(0,55 – 1,79)	(0,60 – 1,61)	

ANG-2 (angiopoietina 2), ^βteste de Mann –Whitney.

Figura 8 - Distribuição da frequência da angiotensina-2 entre pacientes com ou sem depressão.



P < 0.05 (valor significativo).

O biomarcador VCAM-1 apresentou diferença significativa e níveis reduzidos nos casos com alteração de memória em relação àqueles sem esse sintoma ($p = 0,047$), conforme mostrado, especialmente, na Figura 9. Níveis reduzidos de VCAM-1 também foram observados nos casos com parestesia, disestesia, artralgia, edema, mialgia, lombalgia, rash e lesões cutâneas, em comparação aos pacientes sem essas manifestações clínicas, embora sem diferença estatisticamente significativa. Esses dados estão descritos na Tabela 5.

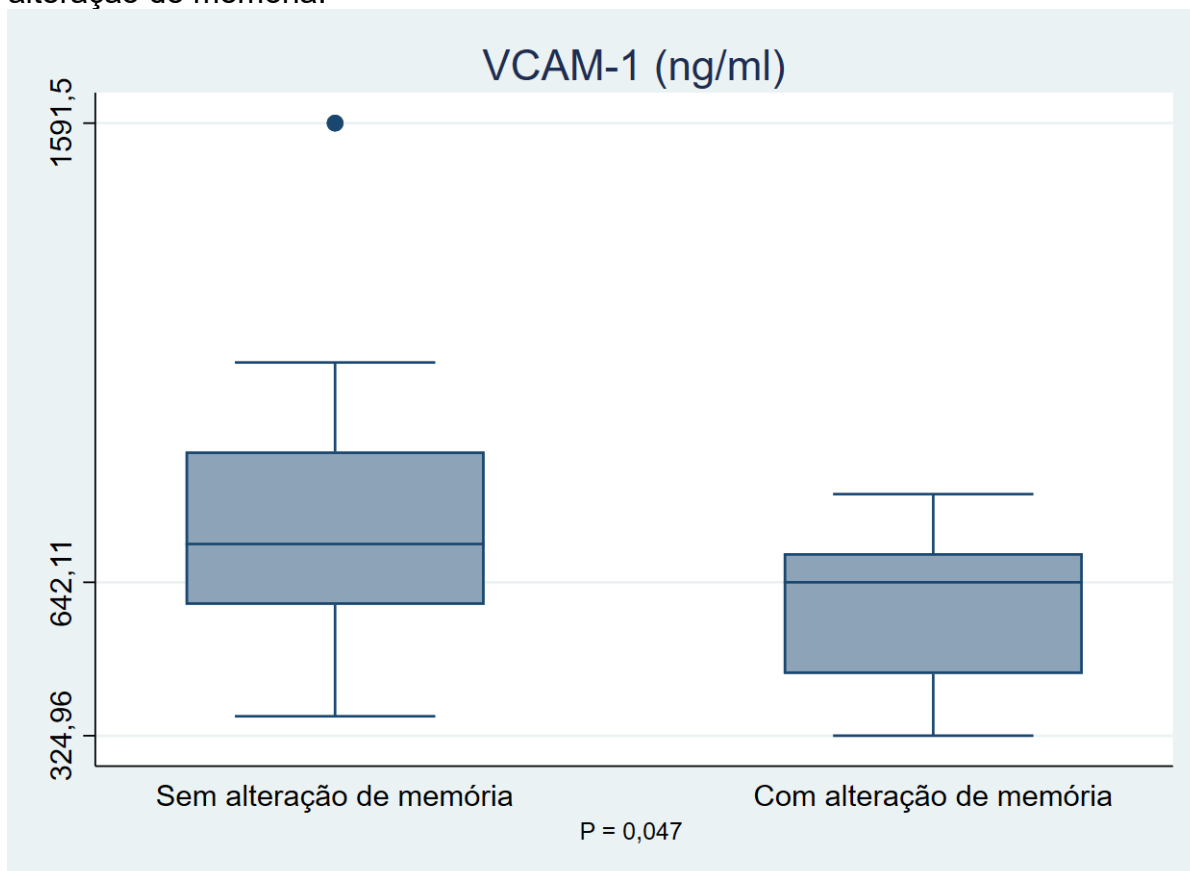
Tabela 5 – Avaliação da VCAM-1 nos pacientes com chikungunya em relação a presença de comorbidade e/ou sintomas.

Comorbidades/Sintomas	VCAM-1 (mediana, intervalo interquartil)		P- Valor
	Não	Sim	
Hipertensão	693,74 (553,68 – 810,37)	709,27 (709,27 – 709,27)	0,916 ^β
Anemia	692,06 (565,39 – 740,82)	857,86 (542,50 – 1017,73)	0,377 ^β
Asma	695,41 (565,39 – 796,75)	1026,83 (462,15 – 1591,51)	0,762 ^β
Rinite	692,06 (541,97 – 740,82)	766,87 (652,39 – 960,52)	0,269 ^β
Doença reumatológica	692,06 (565,39 – 796,75)	724,09 (625,62 - 889,27)	0,508 ^β

Doença vascular	693,74 (553,68 – 810,37)	709,27 (709,27 – 709,27)	0,916 ^β
Neoplasia	702,34 (572,32 – 810,37)	365,11 (365,11 – 365,11)	0,141 ^β
Doença hepática	695,41 (541,97 – 796,75)	802,51 (565,39 – 1039,63)	0,650 ^β
Doença oftalmológica	693,74 (553,68 – 768,78)	1039,63 (1039,63 – 1039,63)	0,141 ^β
Febre	695,41 (541,97 – 823,99)	650,24 (579,26 – 721,22)	0,820 ^β
Cefaleia	709,27 (599,81 – 796,75)	631,84 (485,33 – 782,41)	0,294 ^β
Fadiga	716,20 (595,51 – 912,61)	692,06 (541,97 – 721,22)	0,311 ^β
Palidez cutânea mucosa	709,27 (541,97 – 823,99)	594,07 (565,39 – 622,75)	0,365 ^β
Hiperemia conjuntival	709,27 (565,39 – 823,99)	543,88 (508,51 – 579,26)	0,199 ^β
Turvação visual	693,74 (553,68 – 810,37)	709,27 (684,42 – 719,89)	0,920 ^β
Náusea	693,74 (553,68 – 768,78)	824,47 (824,47 – 824,47)	0,293 ^β
Vômitos	693,74 (553,68 – 768,78)	824,47 (824,47 – 824,47)	0,293 ^β
Diarreia	695,41 (541,97 – 796,75)	701,86 (579,26 – 824,47)	0,820 ^β
Parestesia	721,22 (595,51 – 956,41)	611,28 (541,97 – 719,89)	0,365 ^β
Disestesia	695,41 (565,39 – 823,99)	576,15 (443,03 – 709,27)	0,820 ^β
Artralgia	738,91 (637,57 – 976,12)	684,42 (541,97 – 721,22)	0,116 ^β
Edema	729,11 (541,97 – 956,41)	684,42 (565,39 – 719,89)	0,262 ^β
Mialgia	709,27 (579,26 – 796,75)	608,89 (513,77 – 1121,95)	0,699 ^β
Lombalgia	709,27 (541,97 – 823,99)	657,41 (580,45 – 731,02)	0,736 ^β
Prurido	695,41 (565,39 – 823,99)	666,01 (520,70 – 718,88)	0,377 ^β
Rash cutâneo	702,34 (541,97 – 823,99)	622,75 (579,26 – 717,88)	0,573 ^β
Lesão cutânea	717,88 (595,51 – 823,99)	518,55 (365,11 – 622,75)	0,084 ^β
Depressão	695,41 (541,97 – 823,99)	658,36 (565,39 – 740,82)	0,749 ^β
Insônia	702,34 (587,38 – 767,83)	692,06 (443,03 – 824,47)	0,656 ^β
Alopecia	693,74 (587,38 – 768,78)	709,27 (508,51 – 823,99)	0,686 ^β
Alteração de memória	721,22 (595,51 – 912,61)	642,11 (452,59 – 702,34)	0,047^β
Alteração de libido	688,24 (553,68 – 781,45)	740,82 (717,88 – 796,75)	0,400 ^β
Rigidez matinal	657,41 (579,26 – 709,26)	717,88 (541,97 – 824,47)	0,258 ^β

VCAM-1 (molécula de adesão de células vasculares-1), ^βteste de Mann –Whitney.

Figura 9 - Distribuição da frequência do VCAM-1 entre pacientes com ou sem alteração de memória.



$P < 0.05$ (valor significativo).

O biomarcador SYN-1 apresentou diferença significativa e níveis elevados nos casos com febre em relação àqueles sem esse sintoma ($p = 0,041$), conforme mostrado, especialmente, na Figura 10. Níveis aumentados de SYN-1 também foram observados nos casos com mialgia, rash e lesões cutâneas, em comparação aos pacientes sem essas manifestações clínicas, embora sem diferença estatisticamente significativa. Esses dados estão descritos na Tabela 6.

Além disso, o SYN-1 apresentou diferença significativa e níveis reduzidos nos casos com alteração de memória, turvação visual e alopecia em relação àqueles sem esses sintomas, respectivamente, $p = 0,047$, $p = 0,015$ e $p = 0,009$, conforme mostrado, especificamente, nas Figuras 11 a 13. Níveis reduzidos de SYN-1 também foram observados nos casos com doença reumatológica, parestesia, disestesia, artralgia e lombalgia, em comparação aos pacientes sem essas manifestações clínicas, embora sem diferença estatisticamente significativa. Esses dados estão descritos na Tabela 6.

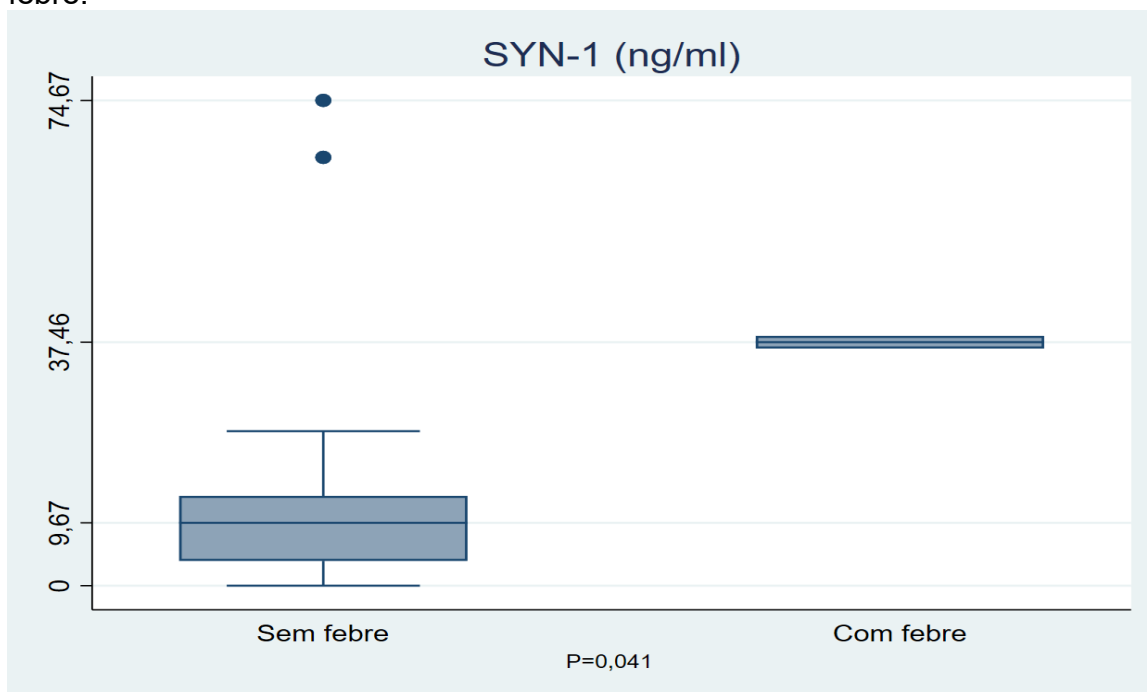
Tabela 6 – Avaliação do syndecan-1 nos pacientes com chikungunya em relação a presença de comorbidade e/ou sintomas.

Comorbidades/Sintomas	SYN-1 (mediana, intervalo interquartil)		P- Valor
	Não	Sim	
Hipertensão	10,36 (4,00 – 18,57)	1,21 (1,21 – 1,21)	0,141 ^β
Anemia	10,50 (3,83 – 19,45)	4,71 (3,65 – 9,53)	0,423 ^β
Asma	9,67 (3,81 – 17,69)	17,27 (10,77 – 23,77)	0,308 ^β
Rinite	10,50 (4,17 – 19,45)	5,71 (0,68 – 12,02)	0,214 ^β
Doença reumatológica	10,77 (4,73 – 19,45)	3,47 (2,17 – 6,46)	0,053 ^β
Doença vascular	10,36 (4,00 – 18,57)	1,21 (1,21 – 1,21)	0,141 ^β
Neoplasia	10,36 (3,82 – 18,57)	4,17 (4,17 – 4,17)	0,462 ^β
Doença hepática	10,22 (3,83 – 19,45)	7,25 (3,12 – 11,38)	0,650 ^β
Doença oftalmológica	10,36 (4,00 – 18,57)	3,12 (3,12 – 3,12)	0,293 ^β
Febre	9,67 (3,81 – 13,82)	37,46 (36,50 – 38,43)	0,041^β
Cefaleia	9,67 (4,73 – 13,82)	11,07 (2,02 – 30,14)	0,895 ^β
Fadiga	11,05 (3,83 – 19,45)	6,07 (3,12 – 11,60)	0,366 ^β
Palidez cutânea mucosa	9,67 (3,81 – 19,45)	10,94 (10,50 – 11,38)	0,705 ^β
Hiperemia conjuntival	10,22 (3,83 – 17,69)	18,25 (0,00 – 36,50)	0,820 ^β
Turvação visual	11,05 (4,97 – 19,81)	3,12 (1,28 – 4,17)	0,015^β
Náusea	10,36 (4,00 – 18,57)	0,16 (0,16 - 0,16)	0,115 ^β
Vômitos	10,36 (4,00 – 18,57)	0,16 (0,16 - 0,16)	0,115 ^β
Diarreia	10,22 (3,83 – 17,69)	18,33 (0,16 – 36,50)	0,880 ^β
Parestesia	11,60 (5,22 – 20,17)	4,99 (2,75 – 10,77)	0,155 ^β
Disestesia	10,50 (4,17 – 19,45)	2,52 (1,21 – 3,83)	0,096 ^β
Artralgia	13,82 (7,44 – 21,97)	6,07 (2,75 – 11,38)	0,059 ^β
Edema	10,08 (3,83 – 20,17)	10,22 (2,11 – 11,60)	0,375 ^β
Mialgia	9,11 (3,81 – 13,82)	15,41 (11,07 – 21,61)	0,143 ^β
Lombalgia	11,33 (5,22 – 19,45)	4,99 (2,62 – 10,94)	0,166 ^β
Prurido	10,22 (3,83 – 19,45)	7,87 (2,69 – 11,19)	0,424 ^β
Rash cutâneo	9,39 (3,81 – 17,69)	11,60 (10,50 – 36,50)	0,234 ^β
Lesão cutânea	9,67 (3,12 – 19,45)	10,94 (6,07 - 17,69)	0,498 ^β
Depressão	9,67 (3,81 – 17,69)	10,80 (4,17 – 38,43)	0,607 ^β

Insônia	10,63 (4,51 – 18,57)	4,73 (3,83 – 13,82)	0,373 ^β
Alopecia	11,35 (5,64 – 19,81)	3,12 (1,21 – 5,24)	0,009^β
Alteração de memória	11,38 (5,24 – 19,45)	4,28 (1,70 – 9,94)	0,036^β
Alteração de libido	9,39 (3,82 – 18,57)	11,33 (10,77 – 11,60)	0,615 ^β
Rigidez matinal	4,99 (1,21 – 10,50)	10,77 (3,83 – 19,45)	0,224 ^β

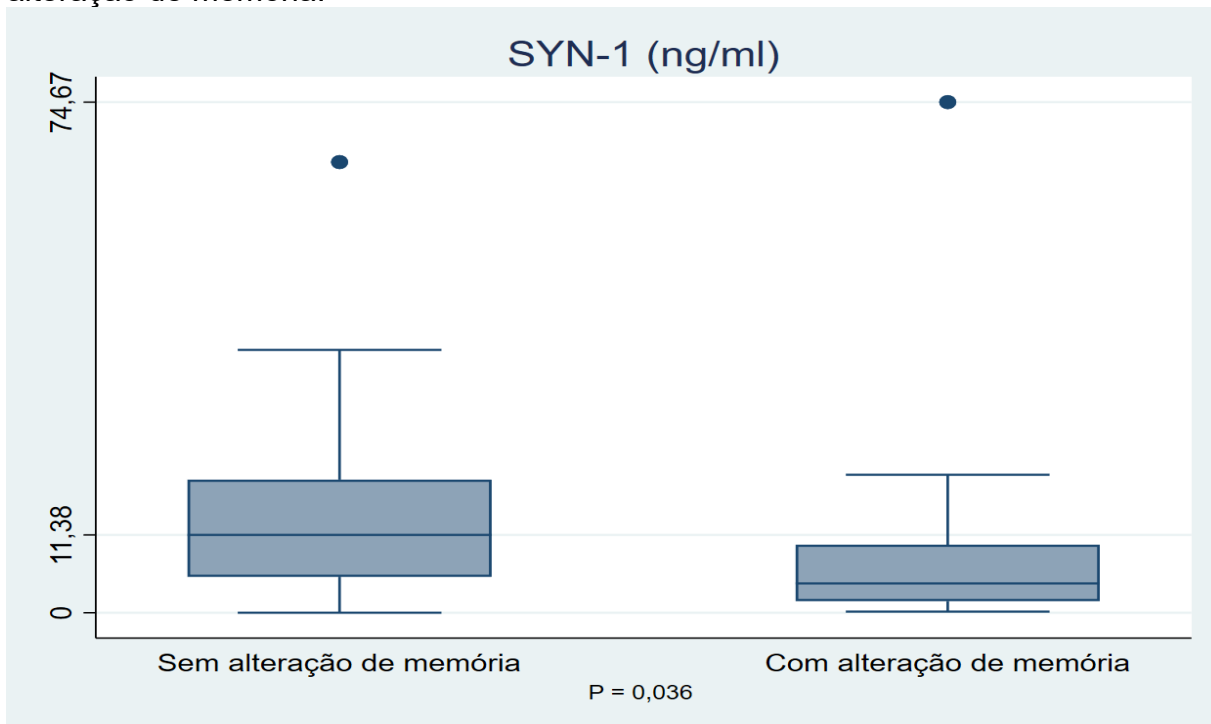
SYN-1 (syndecan-1), ^βteste de Mann –Whitney.

Figura 10 - Distribuição da frequência do Syndecan-1 entre pacientes com ou sem febre.



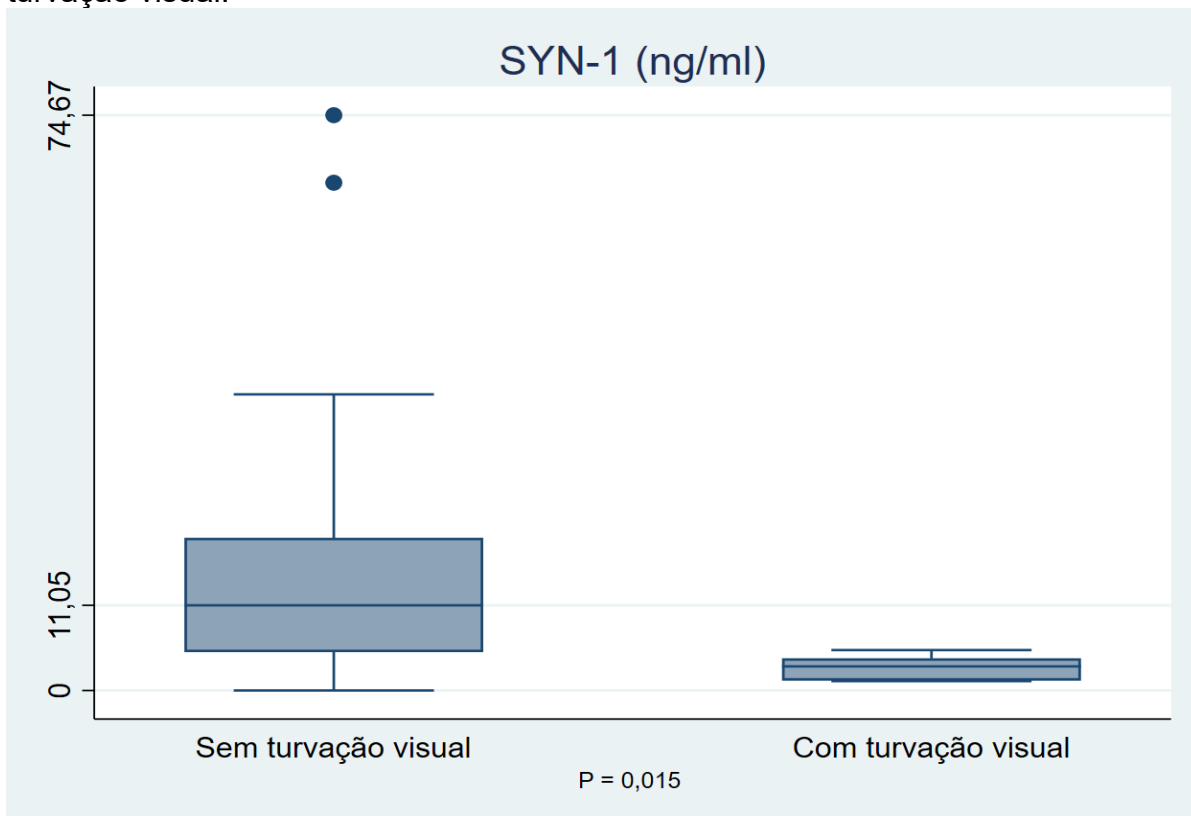
P < 0.05 (valor significante).

Figura 11 - Distribuição da frequência do Syndecan-1 entre pacientes com ou sem alteração de memória.



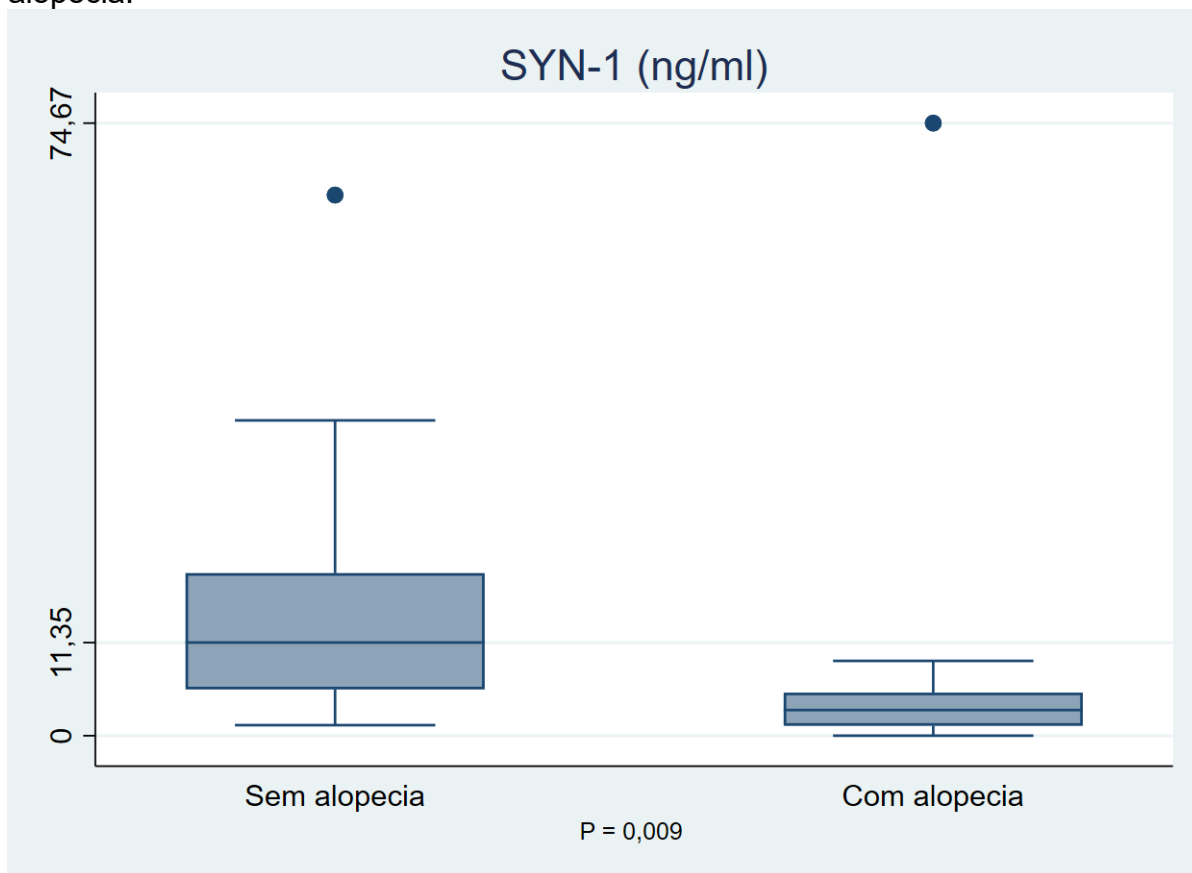
P < 0.05 (valor significativo).

Figura 12 - Distribuição da frequência do Syndecan-1 entre pacientes com ou sem turvação visual.



P < 0.05 (valor significativo).

Figura 13 - Distribuição da frequência do Syndecan-1 entre pacientes com ou sem alopecia.



P < 0.05 (valor significativo).

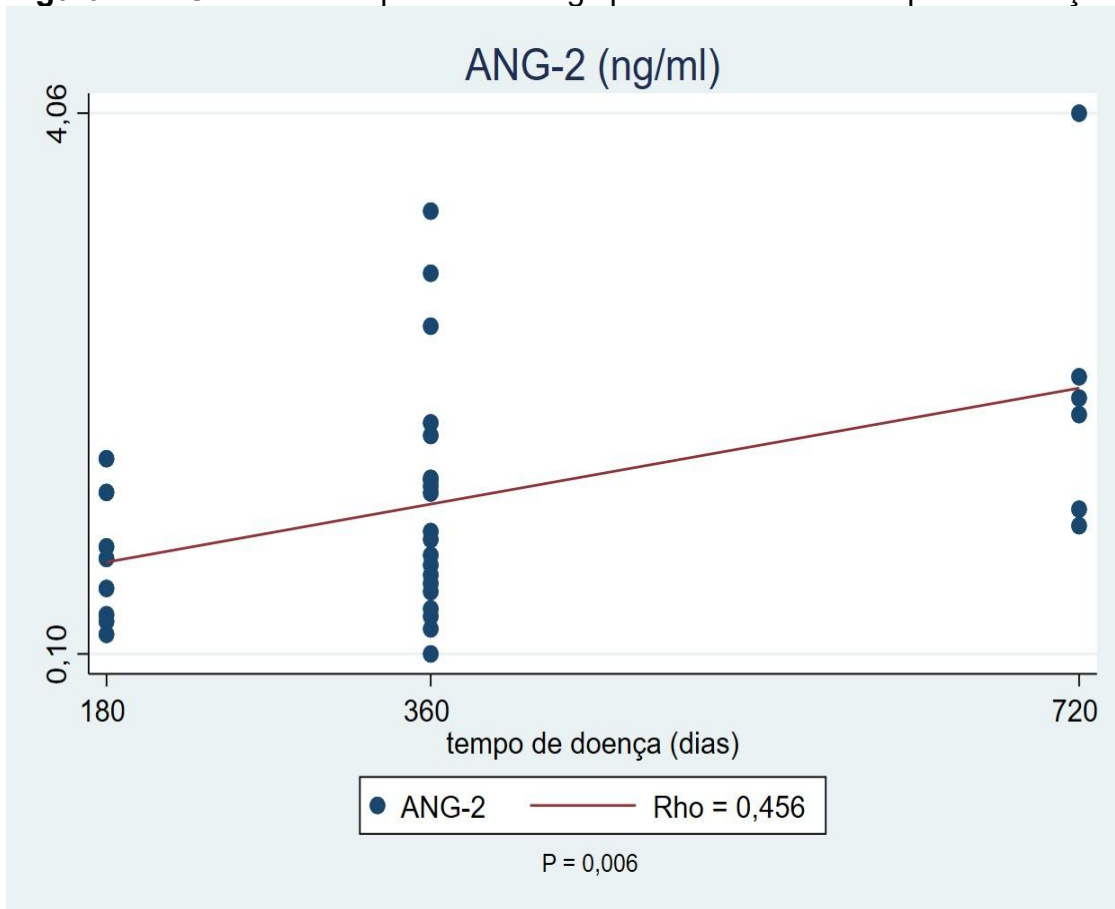
4.6 Relação dos biomarcadores com o tempo de doença dos casos.

A correlação dos biomarcadores ANG-2 e VCAM-1 com o tempo de doença foi, respectivamente, positiva moderada e negativa fraca (Tabela 7; Figuras 14 e 15). O biomarcador SYN-1 não apresentou correlação (Tabela 7; Figura 16).

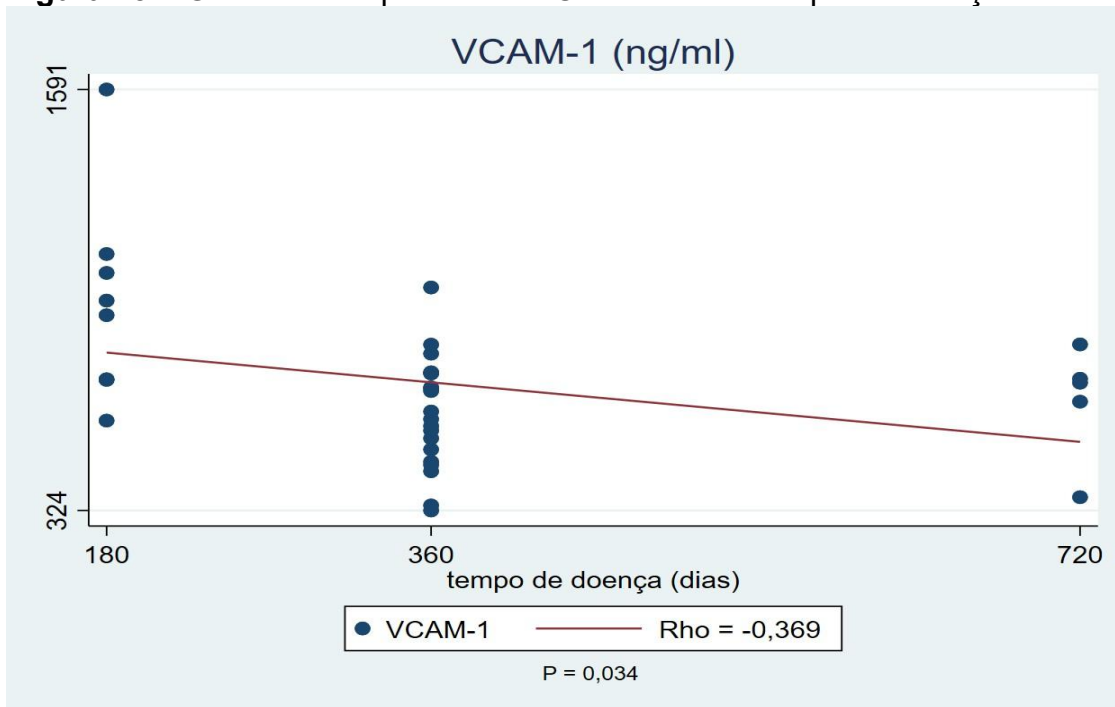
Tabela 7 – Correlação entre tempo de doença e os biomarcadores.

Biomarcador	Tempo de doença	
	Rho	P- Valor
ANG-2	0.456 ^Y	0.006
VCAM-1	-0.369 ^Y	0.034
SYN-1	-0.167 ^Y	0.353

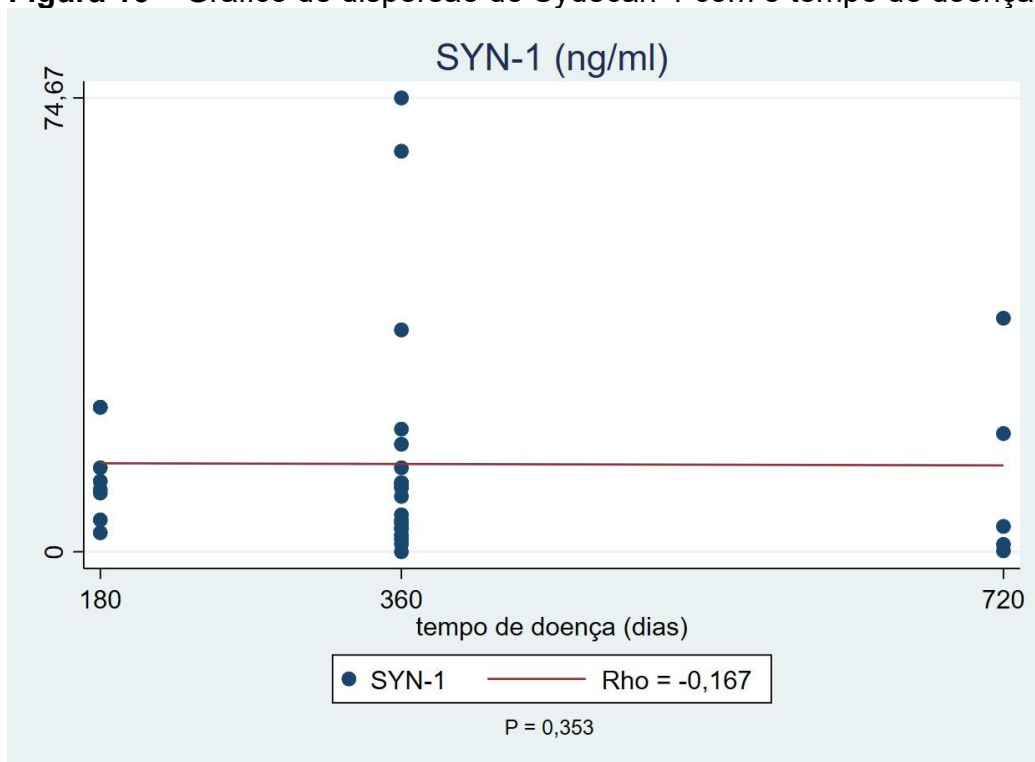
ANG-2 (angiopoietina 2), VCAM-1 (molécula de adesão de células vasculares-1), SYN-1 (syndecan-1), ^YCorrelação de Spearman.

Figura 14 – Gráfico de dispersão da angiopoietina-2 com o tempo de doença.

$P < 0,05$ (valor significante).

Figura 15 – Gráfico de dispersão do VCAM-1 com o tempo de doença.

$P < 0,05$ (valor significante).

Figura 16 – Gráfico de dispersão do Sydecan-1 com o tempo de doença.

P < 0.05 (valor significativo).

4.7 Performance diagnóstica de biomarcadores endoteliais para maior tempo de doença crônica.

Na análise sobre a especificidade e sensibilidade dos biomarcadores ANG-2, VCAM-1 e SYN-1 em relação ao tempo de doença de 720 dias, apenas a ANG-2 apresentou bom desempenho preditivo, com AUC = 0,864, conforme descrito na Figura 17. Os demais biomarcadores não apresentaram capacidade de predição, com AUC < 0,7, segundo mostrado nas Figuras 18 e 19 e Tabela 8.

Tabela 8 - Avaliação da performance preditiva dos biomarcadores em relação ao tempo de doença de 720 dias.

Biomarcadores	AUC – 95% IC	Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	VPN	VPP
ANG-2	0,864 (0,725 – 1000)	1,75	0,83	0,89	0,88	0,62	0,96
VCAM-1	0,605 (0,338 – 0,872)	404,07	0,33	0,96	0,15	0,13	0,33
SYN-1	0,519 (0,148 – 0,890)	18,57	0,50	0,81	0,76	0,38	0,88

ANG-2 (angiopoietina 2), VCAM-1 (molécula de adesão de células vasculares-1), SYN-1 (syndecan-1), IC (Intervalo de confiança), VPP (valores preditivos positivos), VPN (valores preditivos negativos).

Figura 17- Curva ROC da angiotensina-2 com o tempo de doença de 720 dias

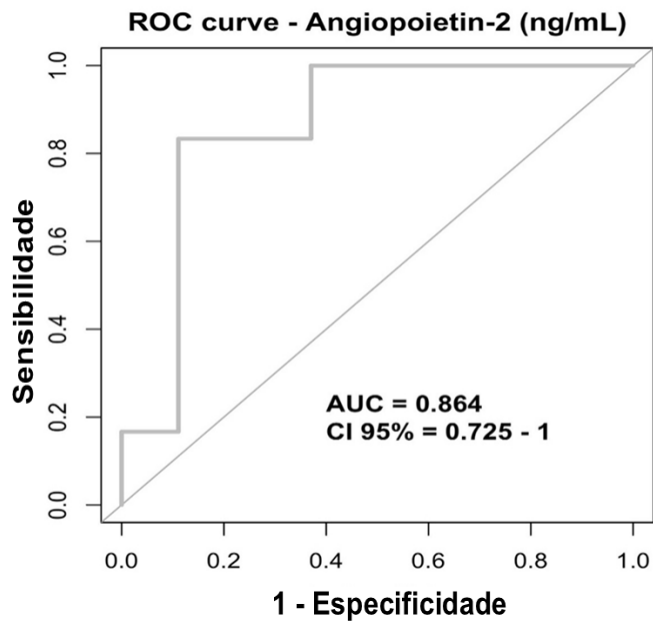


Figura 18 - Curva ROC da VCAM-1 com o tempo de doença de 720 dias

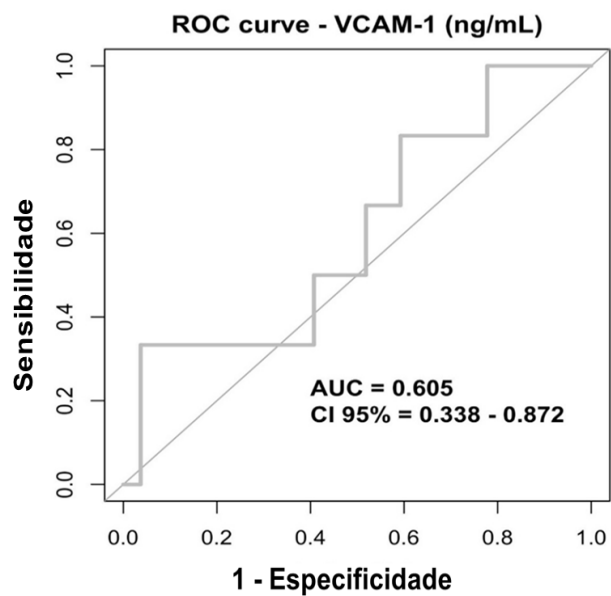
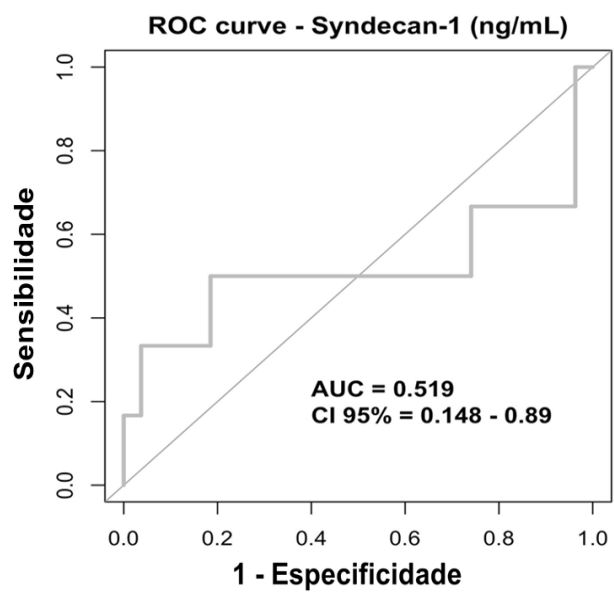


Figura 19 - Curva ROC da syndecan-2 com o tempo de doença de 720 dias



5 DISCUSSÃO

A maioria dos pacientes infectados pelo CHIKV apresenta a resolução dos sintomas após a fase aguda. Apesar disso, uma proporção significativa evolui para manifestações crônicas persistentes e os mecanismos biológicos que determinam essa progressão ainda não estão completamente esclarecidos. Nesse contexto, a investigação de biomarcadores endoteliais pode contribuir para elucidar o papel da disfunção vascular na manutenção do estado inflamatório crônico.

No presente estudo, a avaliação de SYN-1, VCAM-1 e ANG-2 em casos de chikungunya crônica revelou que a ANG-2 foi o marcador com associação mais consistente com o tempo de doença, sugerindo possível envolvimento da ativação endotelial na evolução prolongada da infecção.

Destaca-se, também, o elevado valor preditivo negativo (96%) da ANG-2, sugerindo que níveis baixos desse biomarcador estão fortemente associados à ausência de evolução crônica prolongada. Esses achados reforçam o papel potencial da disfunção endotelial na fisiopatologia da forma crônica da CHIK.

Nos casos crônicos de CHIK avaliados, os níveis de ANG-2 aumentaram conforme o tempo de doença do grupo era maior, sendo considerados estatisticamente diferentes em relação aos valores de referência. O grupo com 720 dias de tempo de doença apresentou os maiores níveis de ANG-2, com diferença significativa em relação ao grupo de 180 dias e aos valores de referência, além de tendência à diferença em relação ao grupo de 360 dias no pós-teste.

Em pacientes com artrite reumatoide (AR), verificaram-se concentrações aumentadas de ANG-2, especialmente entre aqueles que apresentavam eventos cardiovasculares quando comparados aos que não manifestavam essas complicações clínicas, ocorrendo também correlação com a idade ao início da doença. (LÓPEZ-MEJÍAS et al., 2013).

Em contrapartida, outro estudo prospectivo que acompanhou cento e sessenta e sete indivíduos com AR, embora tenha corroborado os resultados referentes aos níveis elevados de ANG-2 em pacientes com AR e eventos cardiovasculares, observou a manutenção dessa concentração aumentada mesmo após dois anos do diagnóstico (WESTRA et al., 2011).

Adicionalmente, os níveis de ANG-2 apresentaram associação significativa com a proteína C-reativa (PCR), a velocidade de hemossedimentação (VHS), a

contagem de articulações inchadas (CAI) e o escore de atividade da doença (DAS-28). Isso indica que a ANG-2 é um marcador da atividade da doença, com forte associação com a inflamação, em concordância com sua ação de desestabilizador pró-inflamatório do endotélio.(PÀMIES et al., 2024; WESTRA et al., 2011).

Esses dados sugerem que, nos pacientes com CHIK crônica avaliados no estudo, os níveis elevados de ANG-2, especialmente no grupo com maior tempo de doença (720 dias), podem estar relacionados à manutenção de uma resposta inflamatória intensa e, conseqüentemente, à persistência das manifestações clínicas.

Em concordância com esse achado, a curva ROC da ANG-2 no grupo de 720 dias apresentou sensibilidade de 83% e especificidade de 89%, com acurácia global de 88%. Destaca-se o elevado valor preditivo negativo (96%), sugerindo que níveis baixos de ANG-2 estão fortemente associados à ausência de evolução crônica prolongada. Esses achados reforçam o papel potencial da disfunção endotelial na fisiopatologia da forma crônica da CHIK.

Além disso, a patogênese da AR envolve mecanismos semelhantes aos da artrite crônica causada pelo CHIK, como as elevadas concentrações de IL-6 observadas tanto na inflamação articular da AR quanto nos níveis plasmáticos de pacientes com artralgia prolongada decorrente da fase crônica da CHIK (AMARAL; BILSBORROW; SCHOEN, 2020).

Na dengue, níveis elevados de ANG-2 foram detectados em pacientes na fase aguda, sem diferença significativa na comparação entre aqueles com e sem extravasamento plasmático. No entanto, observou-se associação negativa e significativa com parâmetros microcirculatórios, como a proporção de vasos perfundidos e o índice de fluxo médio. (MALAVIGE; OGG, 2017; YACOUB et al., 2016).

Na febre amarela, os níveis de ANG-2 estavam elevados tanto nos pacientes com coagulação intravascular disseminada (CID) em comparação aos sem CID, quanto nos indivíduos não sobreviventes em relação aos sobreviventes. Esses achados demonstraram que a ANG-2 constitui um forte preditor de sobrevida e mortalidade. Além disso, por meio de análise proteômica não supervisionada, constatou-se a associação da ANG-2 com processos relacionados à função vascular, inflamação endotelial e coagulação (HIGGINS et al., 2018; VAN DE WEG et al., 2024).

Outro achado registrado foi a presença de níveis elevados de ANG-2 no grupo de pacientes com CHIK crônica que apresentavam depressão, em comparação aos

sem depressão. Esse dado sugere uma possível associação da Ang-2 com alterações cognitivas, possivelmente relacionadas a danos endoteliais.

Semelhante resultado também foi observado em uma coorte prospectiva composta por 216 pacientes em hemodiálise, provenientes de três centros distintos, na qual se verificou associação significativa, fraca e negativa entre concentrações elevadas de ANG-2 e função cognitiva reduzida. Esse achado reforça a provável ligação entre danos endoteliais e déficits cognitivos (FREIRE DE MEDEIROS et al., 2020).

No presente estudo, os níveis de VCAM-1 diminuía conforme o tempo de doença do grupo era maior, sendo considerados estatisticamente diferentes em relação aos valores de referência. O grupo com 180 dias de tempo de doença apresentou os maiores níveis de VCAM-1, com diferença significativa em relação aos valores de referência no pós-teste.

Elevadas concentrações de VCAM-1 foram observadas em pacientes com diagnóstico recente de AR, quando comparados tanto a indivíduos saudáveis quanto àqueles que já haviam iniciado tratamento. Isso indica um quadro de ativação e desregulação endotelial em situações de inflamação excessiva e estresse oxidativo (MANGONI; ZINELLU, 2024; SINGH et al., 2023).

Além disso, constatou-se uma forte correlação positiva e significativa entre os níveis elevados de VCAM-1 com o DAS-28 e o VHS. Essa última correlação reforça a estreita ligação da ativação e da disfunção endotelial com a intensificação do processo inflamatório (MANGONI; ZINELLU, 2024; SALEM; ZAHRAN, 2021).

Em pacientes crônicos com CHIK, também foram observados níveis elevados de VCAM-1 naqueles com dor no joelho em comparação aos sem esse sintoma, com diferenças significativas nas faixas etárias abaixo de 30 anos, entre 31 e 40 anos e acima de 60 anos (CHIRATHAWORN et al., 2022).

Os níveis elevados de VCAM-1, especialmente no grupo com 180 dias de tempo de doença dos pacientes com CHIK crônica avaliados no estudo, podem estar associados à desregulação endotelial em contextos de inflamação excessiva, como a causada pela CHIK. Isso provavelmente explica a permanência de sintomas musculoesqueléticos por um período superior a três meses.

Apesar disso, a curva ROC do VCAM-1 no grupo de 720 dias apresentou baixa especificidade e sensibilidade, indicando limitada capacidade preditiva desse biomarcador em pacientes com CHIK crônica. Resultado semelhante foi observado

quanto ao uso do VCAM-1 como marcador de triagem em um estudo com 128 pacientes com AR, composto por indivíduos recém-diagnosticados e por aqueles com mais de seis meses de tempo de doença (YASIN et al., 2024).

Em outras arboviroses, como a dengue, concentrações elevadas de VCAM-1 foram observadas em pacientes com a forma hemorrágica, naqueles que apresentaram infecção secundária e nos que evoluíram com extravasamento plasmático, quando comparados a indivíduos saudáveis. O VCAM-1, por desempenhar função moduladora da permeabilidade microvascular, pode estar implicado na patogênese do extravasamento plasmático (MOALLEMI et al., 2025; SIVASUBRAMANIAN et al., 2022).

Outro achado registrado foi a presença de níveis reduzidos de VCAM-1 no grupo de pacientes com CHIK crônica que apresentavam alteração de memória, em comparação aos que não apresentavam esse sintoma. Esse dado sugere uma possível relação do VCAM-1 com déficits cognitivos, devido à sua função como mediador da migração de células inflamatórias através da barreira hematoencefálica.

Entretanto, concentrações elevadas de VCAM-1 foram verificadas em pacientes com deficiência cognitiva, em comparação aos que não apresentavam essa característica clínica. Além disso, esses níveis estiveram associados ao aumento da resistência cerebrovascular e ao pior desempenho cognitivo em idosos (TCHALLA et al., 2017).

É válido salientar que o VCAM-1 desempenha importante papel como mediador neuroinflamatório na barreira hematoencefálica, estando envolvido em processos relacionados ao desenvolvimento e ao reparo neural durante a lesão nervosa (GUAN et al., 2025).

Nos casos crônicos de CHIK avaliados, os níveis de SYN-1 mantiveram-se relativamente constantes conforme o tempo de doença do grupo era maior, sendo considerados estatisticamente diferentes em relação aos valores de referência. Os grupos com 180 e 360 dias de tempo de doença apresentaram os menores níveis de SYN-1, com diferença significativa em relação aos valores de referência no pós-teste.

Não foi encontrada correlação entre as concentrações reduzidas de SYN-1 e o tempo de doença. A curva ROC do SYN-1 no grupo de 720 dias apresentou baixa especificidade e sensibilidade, indicando limitada capacidade preditiva desse biomarcador em pacientes com CHIK crônica avaliados. Apesar disso, não se pode

descartar a hipótese de que esses níveis reduzidos estejam relacionados às manifestações clínicas da CHIK nos pacientes crônicos.

Em um modelo animal, constatou-se que a ausência de SYN-1 desencadeia uma resposta inflamatória mais intensa no AR. Esse fenômeno ocorre, provavelmente, devido a dois mecanismos relacionados aos mastócitos na ausência de SYN-1: a liberação precoce de seus componentes por degranulação, sem reposição adequada de novas células do mesmo tipo, ou a expressão deficiente dessa molécula, comprometendo sua função no sistema imunológico (JURJUS et al., 2024).

Entretanto, elevadas concentrações de SYN-1 foram verificadas em pacientes do sexo feminino com AR moderada ou grave, quando comparadas tanto a indivíduos saudáveis quanto àquelas em remissão da doença, com diferença significativa. Além disso, observou-se associação entre os níveis aumentados de SYN-1 e os de PCR, indicando relação desse biomarcador com o processo inflamatório na AR (DEYAB et al., 2021; RODRIGUEZ-JIMENEZ et al., 2024).

Na dengue, níveis elevados de SYN-1 estão relacionados à trombocitopenia e ao extravasamento plasmático, fenômenos importantes na patogênese da doença. Dessa forma, o SYN-1 pode atuar como um forte preditor de desfechos clínicos. Já na febre amarela, concentrações elevadas de SYN-1 correlacionam-se principalmente com a gravidade da doença, provavelmente em razão de seu papel na disfunção endotelial (DE SOUSA et al., 2023; MARIAPPAN et al., 2021).

Outro resultado observado foi a presença de níveis elevados de SYN-1 nos casos avaliados que apresentavam febre, em comparação àqueles sem esse sintoma, com diferença estatisticamente significativa. Isso ocorreu, provavelmente, devido à função do SYN-1 como mediador inflamatório, por meio de suas interações com citocinas, leucócitos e neutrófilos (DIAB et al., 2024).

Adicionalmente, verificaram-se concentrações reduzidas de SYN-1 nos pacientes crônicos que exibiam turvação visual, alopecia e alteração de memória, em comparação aos que não apresentavam esses sintomas, com diferença estatisticamente significativa.

Quanto à turvação visual, estudo em modelo animal demonstrou que a ausência de SYN-1 provoca aumento da angiogênese corneana, devido ao incremento do número de leucócitos aderidos às células endoteliais. Assim, o SYN-1 atuaria como regulador negativo das respostas inflamatórias mediadas por leucócitos. Dessa forma, sua dosagem poderia ser útil na prevenção de interações patológicas

entre leucócitos e endotélio durante processos de angiogênese e inflamação (GÖTTE et al., 2002).

A alopecia pode ser consequência de níveis reduzidos de SYN-1, uma vez que a expressão alterada dessa substância está associada à biogênese do folículo piloso. O SYN-1 participa do desenvolvimento do folículo piloso ao mediar vias de sinalização de fatores de crescimento epidérmico e de fatores de crescimento de queratinócitos, por meio de uma regulação negativa (RICHARDSON et al., 2009).

A alteração de memória indica uma possível relação desse biomarcador com deficiências cognitivas, causadas por danos no endotélio. Resultado, também, obtido por uma coorte prospectiva multicêntrica de pacientes em hemodiálise na qual se verificou associação significativa, fraca e negativa entre concentrações elevadas de SYN-1 e a função cognitiva reduzida (FREIRE DE MEDEIROS et al., 2020).

O perfil clínico dos pacientes crônicos com CHIKV no estudo foi caracterizado majoritariamente por indivíduos do sexo feminino, com idade acima de 45 anos, apresentando principalmente os seguintes sintomas e comorbidades: rinite, anemia, doenças reumatológicas, rigidez matinal, artralgia e edema.

Essas características clínicas se assemelham às dos participantes do estudo de Costa e colaboradores (2025), que analisaram o inibidor tecidual de metaloproteinase-2 (TIMP-2) como potencial biomarcador de artralgia persistente em 133 pacientes crônicos, com idade média acima de 50 anos e predominância do sexo feminino. Os sintomas e comorbidades relatados com maior frequência também foram rinite, artralgia, doenças reumatológicas e anemia (COSTA et al., 2025).

Da mesma forma, outros estudos sobre biomarcadores inflamatórios incluíram pacientes com idade média acima de 40 anos e predominância do sexo feminino, embora não descrevam detalhadamente os sintomas e comorbidades de suas amostras (LOZANO-PARRA et al., 2025; THANAPATI et al., 2025).

Uma característica singular da amostra estudada, foi o tempo de doença diferente entre os pacientes crônicos. O que possibilitou segmentá-los em três grupos com 180 dias, 360 dias e 720 dias de doença e ao compará-los encontrar $p < 0.05$ quanto as manifestações clínicas rinite e alteração de memória.

A rinite é mais frequente em pacientes só com CHIK em relação a grupos com CHIK e dengue ou só com dengue (AWAL; SWU, 2024). Enquanto a alteração de memória causada pela infecção da CHIK em pacientes idosos pode ser responsável por provocar um declínio cognitivo com o avanço da idade (PEIXOTO et al., 2022).

As limitações do estudo são: a amostra reduzida dos casos com CHIK avaliados, pois reduz poder de extrapolação dos desfechos obtidos; o tempo de doença distinto entre os casos do estudo, dificultando uma análise mais uniforme dos resultados obtidos, a falta de dosagens dos biomarcadores nas fases aguda, pós-aguda e crônica (90 dias) da doença, impedindo avaliar o perfil evolutivo dessas substâncias, a falta de exames de PCR e VHS para composição do questionário de atividade da doença DAS-28.

Por fim, recomenda-se a realização de uma coorte prospectiva com a dosagem de biomarcadores em cada fase da Chikungunya, a fim de avaliar a curva de desenvolvimento dessas substâncias ao longo da evolução clínica dos pacientes. Isso possibilitaria a obtenção de novas evidências sobre o processo fisiopatológico da doença e a persistência dos sintomas a longo prazo, fornecendo dados importantes para reduzir os impactos da Chikungunya na saúde e na qualidade de vida dos pacientes afetados.

6 CONCLUSÃO

- O perfil clínico dos pacientes crônicos com CHIK é composto, em sua maioria, por indivíduos do sexo feminino, com idade acima de 40 anos, apresentando predominância dos seguintes sintomas e comorbidades: rinite, anemia, doenças reumatológicas, rigidez matinal, artralgia e edema.
- Níveis elevados de VCAM-1 e de ANG-2 em pacientes crônicos com CHIK estão associados ao tempo de doença.
- Pacientes crônicos com CHIK que apresentam níveis elevados de ANG-2 podem ter associação com a presença de depressão.
- A presença de alterações de memória em pacientes crônicos com CHIK pode estar relacionada a níveis reduzidos de VCAM-1.
- Em pacientes crônicos com CHIK, níveis elevados de SYN-1 podem estar associados à presença de febre, enquanto níveis reduzidos podem se relacionar a sintomas como alteração de memória, turvação visual e alopecia.

REFERENCIAS

- AMARAL, J. K.; BILSBORROW, J. B.; SCHOEN, R. T. Chronic Chikungunya Arthritis and Rheumatoid Arthritis: What They Have in Common. **Am J Med**, v. 133, n. 3, p. e91-e97, Mar 2020.
- AWAL, S. K.; SWU, A. K. Beyond the Bite: Detailed findings on Chikungunya and Dengue co-detection in Punjab, North India - clinical insights and diagnostic challenges. **Braz J Microbiol**, v. 55, n. 4, p. 3711-3719, Dec 2024.
- BARTHOLOMEEUSEN, K. et al. Chikungunya fever. **Nat Rev Dis Primers**, v. 9, n. 1, p. 17, Apr 6 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Chikungunya : manejo clínico - 2. ed. p. 72, 2024.
- BRITO, C. A. A. et al. Classification of chikungunya cases: a proposal. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 53, p. e20200529, 2020.
- CHIRATHAWORN, C. et al. IL-1Ra and sVCAM-1 in chikungunya virus infection. **Acta Trop**, v. 233, p. 106548, Sep 2022.
- COSTA, A. C. S. et al. TIMP-2 as a Potential Indicator of Persistent Arthralgia in Chikungunya: Evidence From a Brazilian Cohort Study. **J Med Virol**, v. 97, n. 10, p. e70635, Oct 2025.
- DE JESUS SANTOS, T. et al. Spatial and Temporal Dynamics of Chikungunya Incidence in Brazil and the Impact of Social Vulnerability: A Population-Based and Ecological Study. **Diseases**, v. 12, n. 7, Jun 27 2024.
- DE LIMA CAVALCANTI, T. Y. V. et al. A Review on Chikungunya Virus Epidemiology, Pathogenesis and Current Vaccine Development. **Viruses**, v. 14, n. 5, May 5 2022.
- DE SOUSA, F. T. G. et al. Yellow fever disease severity and endothelial dysfunction are associated with elevated serum levels of viral NS1 protein and syndecan-1. **medRxiv**, Jun 30 2023.
- DE SOUZA, W. M. et al. Spatiotemporal dynamics and recurrence of chikungunya virus in Brazil: an epidemiological study. **Lancet Microbe**, v. 4, n. 5, p. e319-e329, May 2023.
- DE SOUZA, W. M. et al. Chikungunya: a decade of burden in the Americas. **Lancet Reg Health Am**, v. 30, p. 100673, Feb 2024.
- DEYAB, G. et al. Antirheumatic treatment is associated with reduced serum Syndecan-1 in Rheumatoid Arthritis. **PLoS One**, v. 16, n. 7, p. e0253247, 2021.
- DIAB, L. et al. Syndecan-1: a key player in health and disease. **Immunogenetics**, v. 77, n. 1, p. 9, Dec 17 2024.

FERREIRA, A. S. et al. Biomarkers of severity and chronification in chikungunya fever: a systematic review and meta-analysis. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 63, p. e16, 2021.

FREIRE DE MEDEIROS, C. M. M. et al. Cognitive impairment, endothelial biomarkers and mortality in maintenance haemodialysis patients: a prospective cohort study. **Nephrol Dial Transplant**, v. 35, n. 10, p. 1779-1785, Oct 1 2020.

FREPPPEL, W. et al. Pathogenicity and virulence of chikungunya virus. **Virulence**, v. 15, n. 1, p. 2396484, Dec 2024.

GARCÍA DE YÉBENES PROUS, M. J.; CARMONA ORTELLS, L. Biomarkers: how to consolidate them in clinical practice. **Reumatol Clin (Engl Ed)**, v. 20, n. 7, p. 386-391, Aug-Sep 2024.

GÖTTE, M. et al. Role of syndecan-1 in leukocyte-endothelial interactions in the ocular vasculature. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 43, n. 4, p. 1135-41, Apr 2002.

GUAN, X. et al. VCAM-1 in Cognitive Impairment: Mechanisms, Biomarker Potential, and Therapeutic Targeting. **Aging Dis**, Jul 11 2025.

HIGGINS, S. J. et al. Tie2 protects the vasculature against thrombus formation in systemic inflammation. **J Clin Invest**, v. 128, n. 4, p. 1471-1484, Apr 2 2018.

HUA, C.; COMBE, B. Chikungunya Virus-Associated Disease. **Curr Rheumatol Rep**, v. 19, n. 11, p. 69, Oct 5 2017.

JURJUS, R. et al. Lack of Syndecan-1 promotes the pathogenesis of experimental rheumatoid arthritis. **Immunogenetics**, v. 76, n. 3, p. 145-154, Jun 2024.

KHONGWICHIT, S. et al. Chikungunya virus infection: molecular biology, clinical characteristics, and epidemiology in Asian countries. **J Biomed Sci**, v. 28, n. 1, p. 84, Dec 2 2021.

KONG, D. H. et al. Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 4, Apr 2 2018.

LÓPEZ-MEJÍAS, R. et al. Angiopoietin-2 serum levels correlate with severity, early onset and cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. **Clin Exp Rheumatol**, v. 31, n. 5, p. 761-6, Sep-Oct 2013.

LOZANO-PARRA, A. et al. Acute Immunological Profile and Prognostic Biomarkers of Persistent Joint Pain in Chikungunya Fever: A Systematic Review. **Yale J Biol Med**, v. 97, n. 4, p. 473-489, Dec 2024.

LOZANO-PARRA, A. et al. Acute Immunological Biomarkers for Predicting Chronic Rheumatologic Disease After Chikungunya Virus Infection. **Trop Med Infect Dis**, v. 10, n. 7, Jul 11 2025.

MALAVIGE, G. N.; OGG, G. S. Pathogenesis of vascular leak in dengue virus infection. **Immunology**, v. 151, n. 3, p. 261-269, Jul 2017.

MANGONI, A. A.; ZINELLU, A. A systematic review and meta-analysis of circulating adhesion molecules in rheumatoid arthritis. **Inflamm Res**, v. 73, n. 3, p. 305-327, Mar 2024.

MARIAPPAN, V. et al. Expression dynamics of vascular endothelial markers: endoglin and syndecan-1 in predicting dengue disease outcome. **Transl Res**, v. 232, p. 121-141, Jun 2021.

MOALLEMI, S. et al. Early circulating biomarkers to predict plasma leakage in dengue fever. **J Infect**, v. 90, n. 2, p. 106401, Feb 2025.

OLIVEIRA, J. L. et al. Extra-articular Manifestations of Chikungunya. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 56, p. 0341, 2023.

PÀMIES, A. et al. Angiopoietin-2, vascular endothelial growth factor family, and heparin binding endothelial growth factor are associated with subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis. **Comput Struct Biotechnol J**, v. 23, p. 1680-1688, Dec 2024.

PATHAK, H.; MOHAN, M. C.; RAVINDRAN, V. Chikungunya arthritis. **Clin Med (Lond)**, v. 19, n. 5, p. 381-385, Sep 2019.

PEIXOTO, V. et al. Cognitive Dysfunction of Chikungunya Virus Infection in Older Adults. **Front Psychiatry**, v. 13, p. 823218, 2022.

PINTO, J. R. et al. Clinical profile and factors associated with hospitalization during a Chikungunya epidemic in Ceará, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 52, p. e20190167, 2019.

RAJAPAKSE, S.; RODRIGO, C.; RAJAPAKSE, A. Atypical manifestations of chikungunya infection. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 104, n. 2, p. 89-96, Feb 2010.

RICHARDSON, G. D. et al. Dynamic expression of Syndecan-1 during hair follicle morphogenesis. **Gene Expr Patterns**, v. 9, n. 6, p. 454-60, Sep 2009.

RODRIGUEZ-JIMENEZ, N. A. et al. Syndecan-1 Levels in Females with Active Rheumatoid Arthritis. **J Clin Med**, v. 13, n. 14, Jul 14 2024.

SALEM, H. R.; ZAHRAN, E. S. Vascular cell adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis patients: Relation to disease activity, oxidative stress, and systemic inflammation. **Saudi Med J**, v. 42, n. 6, p. 620-628, Jun 2021.

SCHIFFMANN, R. Role of Biomarkers in Diagnosing Disease, Assessing the Severity and Progression of Disease, and Evaluating the Efficacy of Therapies. **J Inherit Metab Dis**, v. 48, n. 3, p. e70034, May 2025.

SIMON, F. et al. Chikungunya: risks for travellers. **J Travel Med**, v. 30, n. 2, Apr 5 2023.

SINGH, V. et al. ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. **Clin Chim Acta**, v. 548, p. 117487, Aug 1 2023.

SIVASUBRAMANIAN, S. et al. The utility of inflammatory and endothelial factors in the prognosis of severe dengue. **Immunobiology**, v. 227, n. 6, p. 152289, Nov 2022.

TCHALLA, A. E. et al. Elevated Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Is Associated With Cerebrovascular Resistance and Cognitive Function. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 72, n. 4, p. 560-566, Apr 1 2017.

TENG, T. S. et al. A Systematic Meta-analysis of Immune Signatures in Patients With Acute Chikungunya Virus Infection. **J Infect Dis**, v. 211, n. 12, p. 1925-35, Jun 15 2015.

THANAPATI, S. et al. Pro inflammatory IL-1 β : A potential biomarker for chronic chikungunya arthritis condition. **Hum Immunol**, v. 86, n. 4, p. 111336, Jul 2025.

TORRES DOS SANTOS LOPES, D. et al. Factors associated with hospitalization in the acute phase of Chikungunya. **PLoS One**, v. 18, n. 12, p. e0296131, 2023.

TRAVERSE, E. M. et al. Chikungunya Immunopathology as It Presents in Different Organ Systems. **Viruses**, v. 14, n. 8, Aug 16 2022.

VAIRO, F. et al. Chikungunya: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention. **Infect Dis Clin North Am**, v. 33, n. 4, p. 1003-1025, Dec 2019.

VAN DE WEG, C. A. M. et al. Levels of Angiopoietin 2 Are Predictive for Mortality in Patients Infected With Yellow Fever Virus. **J Infect Dis**, v. 230, n. 1, p. e60-e64, Jul 25 2024.

VIJAYAN, V.; SUKUMARAN, S. Chikungunya Virus Disease: An Emerging Challenge for the Rheumatologist. **J Clin Rheumatol**, v. 22, n. 4, p. 203-11, Jun 2016.

WESTRA, J. et al. Angiopoietin-2 is highly correlated with inflammation and disease activity in recent-onset rheumatoid arthritis and could be predictive for cardiovascular disease. **Rheumatology (Oxford)**, v. 50, n. 4, p. 665-73, Apr 2011.

WU, Q.; XU, W. D.; HUANG, A. F. Role of angiopoietin-2 in inflammatory autoimmune diseases: A comprehensive review. **Int Immunopharmacol**, v. 80, p. 106223, Mar 2020.

YACOUB, S. et al. Association of Microvascular Function and Endothelial Biomarkers With Clinical Outcome in Dengue: An Observational Study. **J Infect Dis**, v. 214, n. 5, p. 697-706, Sep 1 2016.

YASIN, A. T. et al. Extensive study of CCN4, VCAM-1, MMP-3, and GM-CSF as reliable markers for disease activity in rheumatoid arthritis. **J Taibah Univ Med Sci**, v. 19, n. 4, p. 885-900, Aug 2024.

APÊNDICE

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **CHIKUNGUNYA E IMPACTOS EM BIOMARCADORES ENDOTELIAIS: REPERCUSSOES NO PROGNOSTICO CLINICO**

Pesquisador responsável: **FREDERICO LUIS BRAZ FURTADO**

Prezado participante,

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos. Este estudo pretende avaliar alterações na função de seus rins. Trata-se de uma pesquisa de observação, significando que seu tratamento não será alterado de forma alguma pela sua participação na pesquisa.

Ao participar desta pesquisa você será convidado a responder algumas questões que buscam caracterizar o ambiente que você vive, seu passado médico e medicações em uso. Também serão coletados dados da sua história como exames laboratoriais anteriores, dados sobre sua doença e por seguinte será coletada uma amostra de sangue (8ml – uma colher de sopa) e uma amostra de urina (5ml) que serão armazenadas para posterior realização de exames. Esses exames que serão realizados não são da prática médica do dia a dia e tem a finalidade de avaliar lesões nos rins em estágios bem iniciais.

A amostra de sangue será processada e guardada uma amostra de soro (sangue sem as células). Essa amostra de soro e de urina serão guardadas em um congelador especial (-80°C) e será utilizada para a pesquisa da qual você está fazendo parte.

O material armazenado será identificado por código, sendo mantido o seu sigilo e o seu acesso ao material guardado será garantido através do contato com o pesquisador que se encontra abaixo.

Após um período de seis meses, o material será descartado de forma apropriada. Essas amostras pertencem a você e apenas ficarão sob nossa guarda durante o período necessário para realizar a pesquisa. Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado a resposta dos questionários, sem nenhum prejuízo para você.

Haverá risco mínimo para você ao participar dessa pesquisa. Poderá sentir desconforto durante a punção da agulha para a coleta do sangue e qualquer constrangimento será evitado mantendo-se o sigilo da sua pessoa.

A sua participação possibilitará o levantamento de informações sobre a sua saúde e favorecerá o estabelecimento de estratégias para melhorar o atendimento prestado nessa instituição. As informações serão utilizadas em trabalhos, divulgadas em congressos ou publicadas em revista científica, sem permitir que você seja identificado. Acredita-se que a realização deste estudo terá como benefícios a melhoria da qualidade da assistência nesta instituição, atendendo-o de forma individualizada, conforme as reais necessidades do paciente.

Você poderá ter acesso às informações e poderá tirar dúvidas sobre este trabalho em qualquer momento. Você terá a liberdade de desistir de participar, sem que isso lhe cause problemas no seu acompanhamento na instituição. Caso o Sr(a) aceite participar da pesquisa NÃO receberá pagamento ou gratificação pela participação no estudo. Este termo será realizado em duas vias, permanecendo uma com o senhor(a) e outra com a pesquisadora.

Estaremos à disposição para dar informações sobre o nosso trabalho. Caso o senhor(a) precise entrar em contato com a gente, nosso endereço e telefone estão abaixo:

CONTATOS DO RESPONSÁVEL PELA PESQUISA: Frederico Luis Braz Furtado, telefone (85) 999732879 – e-mail: fredericolbf@hotmail.com. Caso tenha alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344/46. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIMENTO

Eu, _____, portador da cédula de identidade _____, declaro que, após leitura detalhada do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa. E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza,

_____ de _____ de _____

Assinatura do participante	Assinatura do responsável pela coleta de dados	DIGITAL
Assinatura da testemunha	Assinatura do Pesquisador	