

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA**

MARIA ISABEL FERNANDES LOPES

**ENSAIO CLÍNICO ALEATORIZADO PARA O TRATAMENTO DE CASOS
MODERADOS A GRAVES DA DOENÇA CAUSADA PELO NOVO
CORONAVÍRUS-2019 (COVID-19) COM CLOROQUINA E COLCHICINA**

**Ribeirão Preto - SP
2021**

MARIA ISABEL FERNANDES LOPES

ENSAIO CLÍNICO ALEATORIZADO PARA O TRATAMENTO DE CASOS
MODERADOS A GRAVES DA DOENÇA CAUSADA PELO NOVO
CORONAVÍRUS-2019 (COVID-19) COM CLOROQUINA E COLCHICINA.

Tese apresentada ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Renê Donizeti Ribeiro de Oliveira

Ribeirão Preto - SP
2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Lopes, Maria Isabel Fernandes

Ensaio clínico aleatorizado para o tratamento de casos moderados a graves da doença causada pelo novo coronavírus-2019 (COVID-19) com cloroquina e colchicina./ Maria Isabel Fernandes Lopes; Orientador: Renê Donizeti Ribeiro de Oliveira. Ribeirão Preto, 2021.

74 p.:il.; 30cm

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Medicina. Área de Concentração: Clínica Médica.

1. Síndrome respiratória aguda grave causada pelo coronavírus 2 (SARS-CoV-2); 2. COVID-19; 3. Cloroquina; 4. Colchicina;

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Maria Isabel Fernandes Lopes

Título: Ensaio clínico aleatorizado para o tratamento de casos moderados a graves da doença causada pelo novo coronavírus-2019 (COVID-19) com cloroquina e colchicina.

Tese apresentada ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Renê Donizeti Ribeiro de Oliveira

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

À minha amada mãe Marilei Fernandes Belini Lopes e ao meu amado pai Roberto Belletti Lopes, que desde cedo, me ensinaram o valor da educação e a importância do estudo, pelo amor e apoio incondicional e por abrirem espaço frente às dificuldades. Vocês são meu porto seguro!

À minha querida amiga Letícia Pastorelli Bonjorno, grande entusiasta da ideia, agradeço todo companheirismo e dedicação com o projeto. Obrigada por me encorajar e fortalecer.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renê Donizeti Ribeiro de Oliveira, grande inspiração de médico pesquisador, exemplo de caráter e cuidado com o paciente. Obrigada por sempre acreditar em mim!

Aos pacientes, por toda a confiança. Sem vocês, nada seria possível.

AGRADECIMENTO

“Você pode sonhar, criar, desenhar e construir o lugar mais maravilhoso do mundo, mas é necessário ter pessoas para transformar o seu sonho em realidade”

Walt Disney

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renê Donizeti Ribeiro de Oliveira, por todas as oportunidades a mim oferecidas, pelo seu entusiasmo científico que impulsiona e contagia a todos seus alunos.

Ao Prof, Dr, Eduardo Antonio Donadi, Prof. Dr. Marcelo Bezerra de Menezes e à Prof^a. Dr^a. Lívia Mara Mermejo, pelo incentivo, críticas construtivas e importantes sugestões que me deram na fase de finalização desse trabalho.

Às minhas queridas amigas e excelentes reumatologistas Letícia P. Bonjorno, Marcela El Halabi, Thaise de O. Quaresma e Larissa E. Miyazaki por toda a parceria e companheirismo nessa jornada.

Aos meus amigos Sabrina de S. Ramos, Jéssica Honorato e João A. Soler por todo apoio, paciência e compreensão, tanto nos dias bons quanto nos ruins.

Aos meus amigos e compadres Maria Luiza T. Xavier e José Luiz por acreditarem e torcerem por mim, vibrando junto a cada conquista.

Àqueles que ajudaram na coleta de dados e recrutamento dos pacientes – Maíra, Marcela Gianini, Natália, Letícia, Samara, Pâmela e Saulo.

Às “meninas” do laboratório de Imunologia – Ju, Muriel e Basílica e à toda equipe da UETDI que não mediram esforços para que esta pesquisa fosse possível.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de

Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Enfim, agradeço a todos que de maneira direta e indireta contribuíram para finalização deste trabalho, muito obrigada.

“Feliz aquele que transfere o que sabe, e
aprende o que ensina.”

Cora Carolina

RESUMO

LOPES, M.I.F. **Ensaio clínico aleatorizado para o tratamento de casos moderados a graves da doença causada pelo novo coronavírus-2019 (COVID-19) com cloroquina e colchicina.** 2021. 74f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Introdução: A doença por coronavírus de 2019 (COVID-19) tornou-se importante problema de saúde em todo o mundo. As manifestações clínicas mais frequentes incluem febre, anosmia, disgeusia, tosse, fadiga e dispneia, podendo evoluir para a síndrome respiratória aguda grave (SRAG). Neutrofilia, linfopenia e altos níveis de citocinas inflamatórias e outros mediadores da inflamação são achados comuns em pacientes com SRAG por COVID-19, uma condição dramática para a qual não há tratamento específico, mas cuidados de suporte e tentativas de controlar a inflamação sistêmica. Em março de 2020, a cloroquina era grande esperança para o tratamento da COVID-19. Por sua ação sobre os leucócitos e o inflamassoma, surgiu a possibilidade de testar a colchicina como intervenção racional, com potencial de eficácia e diminuto risco de eventos adversos, nos casos de COVID-19, com intuito de diminuir o processo inflamatório sistêmico, em especial o pulmonar. **Métodos:** Apresentamos os resultados de um ensaio clínico aleatorizado, duplo-cego, controlado por placebo para o tratamento de COVID-19 moderada a grave com cloroquina e colchicina, com 75 pacientes, alocados 1:1 de 11 de abril a 30 de agosto de 2020, divididos em dois grupos: Tratamento com cloroquina e placebo (CQ-PCB) e Tratamento com cloroquina e colchicina (CQ-COL). A dose de cloroquina utilizada, na forma de hidroxicloroquina, foi de 400 mg duas vezes ao dia por até 2 dias, seguido por 400 mg ao dia por 8 dias. Colchicina foi utilizada na dose de 0,5 mg três vezes ao dia durante 5 dias, em seguida, 0,5 mg duas vezes ao dia por 5 dias. Consideramos os seguintes desfechos primários: necessidade e tempo de suporte ventilatório não-invasivo e invasivo, tempo de internação, tempo de permanência em UTI e taxa de óbito. **Resultados:** Setenta e dois pacientes (36 para placebo e 36 para colchicina) completaram o estudo. A mediana de tempo da necessidade de oxigênio suplementar foi de 4,0 (2,0-6,0) dias para o grupo CQ-COL e 6,5 (4,0-9,0) dias para o grupo CQ-PCB ($p < 0,001$). A mediana de tempo de hospitalização foi de 7,0 (5,0–9,0) dias para o grupo CQ-COL e 9,0 (7,0–12,0) dias para o grupo CQ-PCB ($p = 0,003$). No dia 2, 67% contra 86% dos pacientes mantiveram a necessidade de oxigênio suplementar, enquanto no dia 7, os valores eram 9% versus 42%, para os grupos CQ-COL e CQ-PCB, respectivamente (log rank; $p = 0,001$). Dois pacientes morreram, ambos no grupo CQ-PCB. Quanto aos eventos adversos, diarreia foi mais frequente no grupo CQ-COL ($p = 0,26$). **Conclusão:** Colchicina reduziu tanto o tempo de oxigenoterapia suplementar quanto de hospitalização. A droga mostrou-se segura e bem tolerada. Uma vez que o óbito foi um evento incomum, não foi possível assegurar que a colchicina reduziu a mortalidade na COVID-19.

Palavras-chave: Cloroquina; Colchicina; COVID-19; SARS-CoV-2.

ABSTRACT

LOPES, M.I.F. **Randomized clinical trial for the treatment of moderate to severe cases of the disease caused by the new coronavirus-2019 (COVID-19) with chloroquine and colchicine.** 2021. 74f. Doctoral Thesis - Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Introduction: The 2019 coronavirus disease (COVID-19) has become an important health problem worldwide. The most frequent clinical manifestations include fever, anosmia, dysgeusia, cough, fatigue and dyspnea, which may progress to severe acute respiratory syndrome (SARS). Neutrophilia, lymphopenia, and high levels of inflammatory cytokines and other mediators of inflammation are common findings in patients with SARS by COVID-19, a dramatic condition for which there is no specific treatment but supportive care and attempts to control systemic inflammation. In March 2020, chloroquine was great hope for the treatment of COVID-19. Due to its action on leukocytes and the inflammasome, the possibility arose of testing colchicine as a rational intervention, with potential efficacy and a low risk of adverse events, in cases of COVID-19, in order to reduce the systemic inflammatory process, in particular the pulmonary.

Methods: We present the results of a randomised, double-blinded, placebo-controlled clinical trial of colchicine for the treatment of moderate to severe COVID-19, with 75 patients allocated 1:1 from 11 April to 30 August 2020, divided into two groups: Treatment with chloroquine and placebo (CQ-PCB) and Treatment with chloroquine and colchicine (CQ-COL). The dose of chloroquine used, in the form of hydroxychloroquine, was 400 mg twice a day for up to 2 days, followed by 400 mg a day for 8 days. Colchicine was used at a dose of 0.5 mg three times a day for 5 days, then 0.5 mg twice a day for 5 days. We considered the following primary outcomes: the need for supplemental oxygen, time of hospitalization, need for admission and length of stay in intensive care unit and death rate.

Results: Seventy-two patients (36 for placebo and 36 for colchicine) completed the study. Median time of need for supplemental oxygen was 4.0 (2.0–6.0) days for the CQ-COL group and 6.5 (4.0–9.0) days for the CQ-PCB group ($p < 0.001$). Median time of hospitalization was 7.0 (5.0–9.0) days for the CQ-COL group and 9.0 (7.0–12.0) days for the CQ-PCB group ($p = 0.003$). At day 2, 67% versus 86% of patients maintained the need for supplemental oxygen, while at day 7, the values were 9% versus 42%, in the CQ-COL and the CQ-PCB groups, respectively (log rank; $p = 0.001$). Two patients died, both in CQ-PCB group. As for adverse events, diarrhea was more frequent in the CQ-COL group ($p = 0.26$).

Conclusion: Colchicine reduced the length of both, supplemental oxygen therapy and hospitalization. The drug was safe and well tolerated. Once death was an uncommon event, it is not possible to ensure that colchicine reduced mortality of COVID-19.

Keywords: Chloroquine; Colchicine; COVID-19; SARS-CoV-2.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento temporal do ensaio clínico	38
Figura 2 - Fluxograma do estudo.....	41
Figura 3 - Curvas de Kaplan-Meier para necessidade de oxigenioterapia	44
Figura 4 - Curvas de Kaplan-Meier para o tempo de internação hospitalar	45
Figura 5 - Variação temporal dos níveis séricos de Proteína-C-reativa do Dzero ao D7 em ambos os grupos.....	46
Figura 6 - Variação temporal de Lactato desidrogenase do Dzero ao D7 em ambos os grupos.....	46
Figura 7 - Variação temporal da relação neutrófilo/linfócito no sangue periférico do Dzero ao D7 em ambos os grupos	47
Figura 8 - Variação temporal da dosagem sérica de AST (TGO) Dzero ao D7 em ambos os grupos	48
Figura 9 - Variação temporal da dosagem sérica de ALT (TGP) Dzero ao D7 em ambos os grupos	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Manifestações clínicas divididas pela gravidade da doença	21
Tabela 2 – Potencial interação medicamentosa com a colchicina	27
Tabela 3 – Dose de tratamento com cloroquina base de acordo com peso corpóreo e parâmetros clínico-laboratoriais	36
Tabela 4 – Doses de tratamento com colchicina de acordo peso corpóreo e com parâmetros clínico-laboratoriais	36
Tabela 5 – Características dos pacientes com COVID-19 ao recrutamento.....	42
Tabela 6 – Desfechos primários.....	43
Tabela 7 – Eventos adversos.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COVID19	Doença causada pelo coronavírus-2019
SRAG	Síndrome respiratória aguda grave
CQ-PCB	Cloroquina e placebo
CQ-COL	Cloroquina e colchicina
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave
RNA	Ácido ribonucleico
ACE2	Enzima conversora de angiotensina 2
TMPRSS2	Transmembrane serine protease 2
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
UTI	Unidade de terapia intensiva
IMC	Índice de massa corporal
FR	Frequência respiratória
SatO2	Saturação de oxigênio
PaO2	Pressão arterial de oxigênio
FiO2	Fração inspirada de oxigênio
DHL	Desidrogenase láctica
CPK	Creatinofosfoquinase
AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase
PCR	Proteína C-reativa
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
IL	Interleucina
TNF	Fator de necrose tumoral
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos
TLR	Toll Like Receptors
IFN	Interferon
NETs	Armadilhas extracelulares de neutrófilos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
MPO	Mieloperoxidase
ROS	Espécies reativas de oxigênio

PAD-4	Proteína arginina deaminase 4
NLRP3	Proteína 3 do receptor semelhante a NOD
Casp1p20	Caspase-1 ativada
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase com transcriptase reversa
IC	Intervalo de confiança
ATP	Adenosina trifosfato
NO	Óxido nítrico
NF-κB	Fator nuclear kappa-B
ASC	Apoptosis-associated speck-like protein
UETDI	Unidade Especial para Tratamento de Doenças Infecciosas
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
ECG	Eletrocardiograma
VO	Via oral
SC	Subcutâneo
TP	Tempo de protrombina
TTPa	Tempo de tromboplastina parcial ativada
IQR	Intervalo interquartil
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration

LISTA DE SÍMBOLOS

mg	miligramas
nm	Nanômetros
kg	Quilogramas
m ²	Metro quadrado
irpm	Incursões respiratórias por minuto
mmHg	Milímetros de mercúrio
mL	Mililitro
cmH ₂ O	Centímetros de água
dL	Decilitro
mm ³	Milímetro cúbico
ms	Milisegundos
U	Unidade
vs	Versus
Ca ²⁺	Cálcio
K ⁺	Potássio

VALORES DE REFERÊNCIA

Exames Laboratoriais

Exame	Valor de referência
Hemoglobina (g/dL)	H: 13,9 – 17,7 M: 12 – 15,5
Neutrófilos (/mm ³)	1.700 – 7.200
Linfócitos (/mm ³)	1.070 – 3.120
Plaquetas (/mm ³)	166.000 – 389.000
Creatinina (mg/dL)	0,7 – 1,3
Proteína C-reativa (mg/dL)	<1,0
Lactato desidrogenase (U/L)	120 - 246
D- dímero (mcg/mL)	≤ 0,5
Ferritina (ng/mL)	22 – 322
Aspartato aminotransferase (U/L)	≤ 38
Alanina aminotransferase (U/L)	10 - 49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. O SARS-CoV-2 e a COVID-19.....	20
1.1.1. Quadro clínico	20
1.1.2. Avaliação laboratorial	22
1.1.3. Achados radiográficos.....	24
1.1.4. Diagnóstico.....	25
1.2. Tentativas de tratamento.....	25
1.2.1. Cloroquina/ Hidroxicloroquina	25
1.2.1.1. Mecanismos de Ação e Justificativa para uso na COVID-19	26
1.2.2. Colchicina.....	27
1.2.2.1. Justificativa do uso na forma moderada/grave da COVID-19	29
1.3. Caracterização do principal problema a ser abordado.....	30
2. OBJETIVOS	32
2.1. Objetivo principal	33
2.2. Objetivo secundário.....	33
3. MATERIAL E MÉTODO	34
3.1. Critérios de inclusão	35
3.2. Critérios de exclusão	35
3.3. Protocolo de intervenção	36
3.4. Avaliação clínica e laboratorial dos pacientes.....	38
3.5. Delineamento do ensaio clínico.....	38
3.6. Situações de retirada do estudo	39
3.7. Análise estatística	40
4. RESULTADOS	41
4.1. Participantes.....	42
4.2. Desfechos.....	43
5. DISCUSSÃO	51
6. CONCLUSÃO.....	56
7. REFERÊNCIAS.....	58
ANEXOS.....	64
ANEXO A – Ficha para coleta de dados	65
APÊNDICES	69
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	70

1. INTRODUÇÃO

1.1. O SARS-CoV-2 e a COVID-19

A doença por coronavírus de 2019 (COVID-19), causada pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), tornou-se importante problema de saúde em todo o mundo, resultando, até 21 de março de 2020, em 266.000 casos confirmados, com 11.184 mortes (UIC, 2021).

O SARS-CoV-2 é um vírus RNA (ácido ribonucleico) de fita simples, envelopado, com diâmetro de 60 a 140 nm, com várias espículas, conferindo aos vírions aspecto de coroa solar (CHAMS *et al.*, 2020).

Diferentes proteínas virais foram identificadas; entre elas, as mais importantes são a glicoproteína da espícula, conhecida como proteína S, hemaglutinina esterase e a proteína N, do nucleocapsídeo viral. A glicoproteína S e a hemaglutinina esterase permitem a entrada do vírus na célula hospedeira, enquanto a proteína N regula o processo de replicação viral (CHAMS *et al.*, 2020).

O vírus interage com as células alvo por meio da ligação da proteína S com proteínas de superfície de membranas celulares epiteliais, como a enzima conversora de angiotensina 2 (*angiotensin converting enzyme*, ACE2), de forma predominante. A clivagem da proteína S é essencial para a entrada do vírus na célula, o que é amplificado pela serina protease transmembrana TMPRSS2. A ACE2 é expressa na superfície celular em diferentes órgãos, como coração, rim, endotélio, fígado, células intestinais e outros tecidos, mas é nos pulmões que se encontra sua maior expressão, nas células alveolares tipo II. Ademais, pacientes com fatores de risco cardiovascular e idade avançada podem apresentar expressão elevada da ACE2, implicando em maior vulnerabilidade e gravidade da infecção (ABASSI *et al.*, 2020).

Após sua entrada na célula, o vírus é capaz de desencadear diferentes vias de sinalização, com liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias, culminando com um estado hiperinflamatório.

O período de incubação viral varia de 3 a 7 dias e a transmissão ocorre, principalmente, de forma indireta por gotículas oriundas de mucosas das vias aéreas (GUO *et al.*, 2020).

1.1.1. Quadro clínico

Os sintomas ocorrem mais comumente entre o quarto e quinto dias da exposição ao vírus; no entanto, o período de incubação pode durar até 14 dias (CHAMS *et al.*, 2020).

As manifestações clínicas mais frequentes incluem febre (88,7%), tosse (67,8%), fadiga (38,1%), expectoração (33,4%), dispneia (18,6%), dor na orofaringe (13,9%) e cefaleia (13,6%). Anosmia e disgeusia ocorrem em 85,6 e 88% dos pacientes respectivamente e, na maioria dos casos, precede o aparecimento de outros sintomas (LECHIEN *et al.*, 2020).

Idosos e indivíduos com doenças crônicas (hipertensão arterial sistêmica, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), diabetes e doenças cardiovasculares) constituem o grupo de maior risco para o desenvolvimento de síndrome respiratória aguda grave (SRAG), choque séptico, acidose metabólica e distúrbios da coagulação, e para evoluções fatais (GUAN *et al.*, 2020).

Estudos observacionais têm mostrado a predominância do sexo masculino entre os pacientes com doença grave, admissões em unidades de terapia intensiva, e morte por infecção. Estudos estratificados por sexo também identificaram o sexo masculino como um fator de risco para piores desfechos e aumento da mortalidade. Essa disparidade sexual quanto à morbidade e mortalidade é provavelmente explicada por uma combinação de diferenças biológicas (nos cromossomos, órgãos reprodutivos e esteroides sexuais) e fatores específicos de gênero (comportamentos diferenciais e atividades social e cultural /papéis tradicionais). Os homens são mais propensos a se envolver em comportamentos prejudiciais à saúde como o tabagismo e consumo de álcool, e têm maiores taxas ajustadas por idade de comorbidades preexistentes associadas ao pior prognóstico de COVID-19, incluindo hipertensão, doença cardiovascular, e DPOC (HAITAO *et al.*, 2020). Além disso, uma análise estratificada por sexo mostrou que mesmo após o ajuste para a idade, o efeito das comorbidades sobre a mortalidade de COVID-19 foi maior para os homens do que para as mulheres (JIN *et al.*, 2020).

Obesos são mais suscetíveis às infecções por vírus respiratórios, a uma maior gravidade da doença e aos piores desfechos após a infecção, incluindo maiores taxas de hospitalização, admissão em unidade de terapia intensiva (UTI) e óbito. Nesta pandemia, maiores taxas de obesidade e obesidade grave/mórbida entre pacientes com COVID-19, em relação aos controles históricos não-COVID-19, também foram relatadas (ZHOU *et al.*, 2021). Estudos realizados nos Estados Unidos evidenciaram que entre os pacientes com COVID-19 menores de 60 anos, aqueles com índice de massa corporal (IMC) de 30-35 kg/m² e acima de 35 kg/m² apresentaram 1,8 e 3,6 vezes maior probabilidade de serem

internados em UTI, respectivamente, em comparação com aqueles com IMC $<30 \text{ kg/m}^2$ (LIGHTER *et al.*, 2020).

A Tabela 1 mostra a classificação de gravidade do quadro clínico, baseada em sinais e sintomas e em exames subsidiários (WU; MCGOOGAN, 2020; LIANG, 2020).

Tabela 1: Manifestações clínicas divididas pela gravidade da doença

Leve	Sintomas leves e sem evidência radiográfica de pneumonia
Moderada	Febre, tosse e respiração curta (taquipneia, se criança), com sinais de pneumonia na imagem.
Grave	Dispneia, frequência respiratória (FR) ≥ 30 ipm, saturação de oxigênio (SatO_2) $\leq 93\%$, razão $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (pressão arterial de oxigênio, PaO_2 /fração inspirada de oxigênio, FiO_2) < 300 , e/ou infiltrados pulmonares $> 50\%$ dentro de 24 a 48 horas
Crítica	Falência respiratória, choque séptico e/ou disfunção ou falência de múltiplos órgãos

Casos críticos podem ainda ser divididos em precoces, intermediários e tardios, de acordo com parâmetros ventilatórios e o índice de oxigenação:

Precoce: $100 \text{ mmHg} < \text{índice de oxigenação} \leq 150 \text{ mmHg}$; complacência do sistema respiratório $\geq 30 \text{ mL/cmH}_2\text{O}$; sem falência de outro órgão que não os pulmões.

Intermediário: $60 \text{ mmHg} < \text{índice de oxigenação} \leq 100 \text{ mmHg}$; $30 \text{ mL/cmH}_2\text{O} > \text{complacência do sistema respiratório} \geq 5 \text{ mL/cmH}_2\text{O}$; pode ser complicado por disfunção leve ou moderada de outros órgãos.

Tardio: $\text{índice de oxigenação} \leq 60 \text{ mmHg}$; complacência do sistema respiratório $< 15 \text{ mL/cmH}_2\text{O}$; consolidação difusa de ambos os pulmões, requerendo uso de oxigenação por membrana extracorpórea; ou falência de outros órgãos vitais.

Aproximadamente 20-25% dos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 desenvolvem a forma grave ou a SRAG e requerem cuidados hospitalares (HE; DENG; LI, 2020).

1.1.2. Avaliação laboratorial

A linfopenia é característica cardinal da doença, podendo chegar a 72% dos casos. Elevação de desidrogenase láctica (DHL) e creatinofosfoquinase (CPK) são frequentes. Metade dos pacientes tem alteração de função hepática e elevação de AST (aspartato

aminotransferase) /ALT (alanina aminotransferase). Elevação de proteínas de fase aguda como ferritina e proteína C-reativa (PCR) ocorre em até 60% dos casos. O complemento, apesar de também ser uma proteína de fase aguda, pode estar consumido (reduzido) nas formas mais graves da doença (RODRIGUEZ-MORALES *et al.*, 2020). Outra proteína de fase aguda que se eleva é o fibrinogênio. O nível sérico de dímero-D é uma das medidas utilizadas para detecção de trombose. Estudos relataram aumento nas concentrações de dímero-D e fibrinogênio nos estágios iniciais da COVID-19. Um aumento de 3 a 4 vezes nos níveis de dímero-D está ligado a pior prognóstico, em especial nos casos que necessitam de cuidados intensivos, sugerindo casos de coagulação intravascular disseminada (CIVD). Nesta situação, os níveis séricos de fibrinogênio podem estar reduzidos, em concentrações séricas inferiores a 100 mg/dL (ROSTAMI; MANSOURITORGHABEH, 2020).

A inflamação sistêmica é a marca registrada dos casos moderados a graves de COVID-19, tendo resultado em milhões de internações em enfermarias e UTI em todo o mundo, principalmente devido aos infiltrados pulmonares resultando na SRAG (RUAN *et al.*, 2020). Altos níveis de interleucina (IL) -1 β , IL-6, IL-18 e fator de necrose tumoral (TNF) são alguns dos muitos distúrbios imunológicos na fisiopatologia do estado hiperinflamatório da COVID-19 (MANDEL *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 pode ativar rapidamente células Th1 patogênicas a secretar citocinas pró-inflamatórias, como fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) e IL-6. GM-CSF é capaz de ativar macrófagos inflamatórios CD14 + e CD16 + a produzir grandes quantidades de IL-6, TNF e outras citocinas. Receptores imunes ligados à membrana, (por exemplo, receptores Fc e semelhantes a Toll (*Toll Like Receptors*, TLR) podem contribuir para um desequilíbrio da resposta inflamatória, que juntamente com a fraca indução de Interferon (IFN) - γ , amplificam a produção de citocinas. A tempestade de citocinas na COVID-19 é caracterizada por uma alta expressão de IL-6 e TNF (HU; HUANG; YIN, 2021).

Nosso grupo demonstrou que, nas formas graves de COVID-19, os neutrófilos liberam armadilhas extracelulares (NETs) e que estas são importantes na patogênese da lesão pulmonar. As NETs são redes extracelulares de ácido desoxirribonucleico (DNA) contendo histonas e enzimas citoplasmáticas derivadas de grânulos citoplasmáticos, como mieloperoxidase (MPO) e elastase. O processo de formação da NET por neutrófilos, chamado NETose, tem sido amplamente estudado. Em geral, o processo começa com a ativação de neutrófilos por receptores de reconhecimento padrão ou quimiocinas, seguida

por produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e mobilização de cálcio, o que leva à ativação da proteína arginina deaminase 4 (PAD-4), uma enzima intracelular envolvida na deaminação de resíduos de arginina em histonas, passo essencial para o desenovelamento da cromatina. Em seguida, a membrana nuclear desaparece e a cromatina em expansão liga-se a proteínas plasmáticas. O processo termina com a extrusão de todo o material. Em 2004, Brinkmann *et al.* descreveram as NETs como um mecanismo microbicida liberado por neutrófilos. No entanto, evidências acumuladas demonstraram que as NETs têm dois polos de ação. Além de atividade microbicida, também foram implicadas na lesão tecidual e, conseqüentemente, na patogênese de várias doenças, incluindo artrite reumatóide, diabetes mellitus e sepse. Foi evidenciado que as NETs foram tóxicas para as células epiteliais pulmonares *in vitro*. Além disso, altos níveis de NETs estavam presentes no plasma de pacientes com COVID-19 em comparação com controles saudáveis e a presença desses componentes celulares era pelo menos dez vezes maior nos aspirados traqueais do que no plasma dos mesmos pacientes, levantando a hipótese de terem papel nas lesões pulmonares (VERAS *et al.*, 2020).

Nosso grupo demonstrou também que o inflamassoma NLRP3 (proteína 3 do receptor semelhante a NOD) é ativado em resposta à infecção por SARS-CoV-2. Analisando pacientes com COVID-19 moderada a grave, encontramos, em células mononucleares de sangue periférico e em material de pulmões provenientes de autópsia, inflamassoma NLRP3 ativo. Produtos derivados deste, como caspase-1 ativada (Casp1p20) e IL-18 encontrados no soro, se correlacionaram com marcadores de gravidade da COVID-19, incluindo IL-6 e DHL. Além disso, os níveis mais elevados de IL-18 e Casp1p20 foram associados à gravidade da doença e aos desfechos clínicos insatisfatórios. Estes resultados sugerem que os inflamassomas de fato participam da fisiopatologia da doença, podendo ser um marcador de gravidade e potencial alvo terapêutico para COVID-19 (RODRIGUES *et al.*, 2021).

1.1.3. Achados radiográficos

Opacidades em vidro fosco, geralmente periféricas, focais ou multifocais, em ambos os pulmões, são anormalidades encontradas na tomografia de tórax durante os estágios iniciais da COVID-19 em aproximadamente 50–75% dos pacientes. Com a progressão da doença, pavimentação em mosaico e consolidações tornam-se os achados dominantes, com pico em torno de 9–13 dias, as quais podem levar além de um mês para

resolução completa na tomografia. Importante ressaltar que até 50% dos pacientes apresentam-se com tomografias de tórax normais nos primeiros dias de sintomas (KANNE *et al.*, 2020). Por outro lado, foi demonstrado que achados anormais podem se desenvolver em pacientes assintomáticos (SHI *et al.*, 2020). Evidenciou-se, em um estudo de pacientes com COVID-19 internados, que todos estes apresentavam algum nível de anormalidade na tomografia de tórax e que cerca de 98% tinham envolvimento pulmonar bilateral (HUANG *et al.*, 2020).

1.1.4. Diagnóstico

Baseia-se na epidemiologia (contactante de caso ou permanência em área endêmica), manifestações clínicas (febre e sintomas respiratórios) e exame de imagem dos pulmões compatível (infiltrado em vidro fosco predominante na periferia de vários lobos) ou detecção de RNA viral por RT-PCR (reação em cadeia de polimerase com transcriptase reversa) (12). O exame de detecção do RNA viral pode ser negativo, daí a importância em considerar os exames de imagem. As técnicas e locais possíveis de amostragem são, em ordem crescente de positividade, *swab* de orofaringe (32%), *swab* nasal (63%), escarro (72%) e lavado broncoalveolar (93%) (WANG *et al.*, 2020).

1.2. Tentativas de tratamento

1.2.1. Cloroquina/ Hidroxicloroquina

Essas duas aminoquinolinas, a hidroxicloroquina e a cloroquina (na forma de difosfato), utilizadas primeiramente para o tratamento da malária, têm efeitos imunomodulatórios, sem efeitos imunossupressores, e, embora seus mecanismos de ação não sejam completamente compreendidos, são amplamente utilizadas também no tratamento de doenças inflamatórias sistêmicas como artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e síndrome antifosfolípide, nesta última devido à prevenção de trombose (SCHREZENMEIER; DÖRNER, 2020). As doses utilizadas nas doenças reumáticas autoimunes são de 200-400 mg/dia para sulfato de hidroxicloroquina e de 250-500 mg/dia para o difosfato de cloroquina, equivalendo, respectivamente, a 155-310 e 150-300 mg de cloroquina base em cada formulação.

Ambas são rapidamente absorvidas no duodeno, com biodisponibilidade de até 80%. Apresentam grande volume de distribuição – resultando em meia-vida longa (40-60 dias) –, fato atribuível à elevada concentração dessas medicações em vesículas intracelulares (CUTLER; MACINTYRE; TETT, 1988; TETT *et al.*, 1993; MAUTHE *et al.*, 2018). Além disso, têm efeitos colaterais e interações medicamentosas há muito conhecidos, sendo amplamente utilizadas de forma segura em diversas doenças autoimunes e com boa tolerabilidade. Os eventos adversos mais frequentes de ambas são hiporexia, náusea, vômito e diarreia, ocorrendo nas primeiras semanas de uso e sendo responsáveis pela interrupção do tratamento em até 7% dos pacientes (WANG *et al.*, 1999). Como já relatado, essas medicações não têm efeito imunossupressor, não aumentando a incidência de infecções (RUIZ-IRASTORZA *et al.*, 2009) ou neoplasias (LAZARUS *et al.*, 2006). Há relato de pouco mais de uma dezena de casos de toxicidade cardíaca com o uso dessas medicações, conforme revisado por Sumpter *et al.* (2012), que encontraram toxicidade cardíaca pelos antimaláricos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide após no mínimo três anos de uso, com dose acumulada igual ou superior a 290 g. A dose recomendada da cloroquina base para tratamento de malária é de 30 mg/kg nas primeiras 48 horas (BRASIL, 2010), sem que se ultrapasse a dose de 1,5 g em 24 horas, o equivalente a 5 comprimidos de sulfato de hidroxicloroquina 400 mg e 10 comprimidos de difosfato de cloroquina 250 mg. Com relação à bem reconhecida toxicidade ocular por essas medicações, ela não ocorre no uso por curto período (semanas), ocorre em 1-8% dos pacientes após 5 ou mais anos de uso (JORGE *et al.*, 2018).

1.2.1.1. Mecanismos de Ação e Justificativa para uso na COVID-19

Sabe-se que a cloroquina pode inibir a ativação endossomal citoplasmática dos receptores do tipo Toll, especialmente os TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9, estruturas importantes para permitir a replicação viral e ampliação da resposta inflamatória. Ao efeito em lisossomos e endossomos é atribuído seu mecanismo de ação mais conhecido, e, levando-se em conta o que é de interesse na resposta inflamatória a vírus, essas medicações, por elevarem o pH endossomal, podem prevenir a ligação do RNA viral e consequente ativação em TLR (TLR-7, por exemplo) (HUANG *et al.*, 2020), além de essa alcalinização vesicular ser aventada como mecanismo inibitório da replicação de diversos outros vírus (ROLAIN; COLSON; RAOULT, 2007). Esse efeito nas células

imunitárias, em especial as que apresentam antígeno (como o macrófago alveolar pulmonar), resulta em redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF (VAN DEN BORNE *et al.*, 1997). A partir destes achados, algumas recomendações nacionais e ao redor do mundo, colocaram a medicação no protocolo de tratamento para COVID-19 (BLOT *et al.*, 2020; LIANG, 2020; NICASTRI *et al.*, 2020).

NOTA: À época da escrita deste projeto de pesquisa (março de 2020), estes dois anti-maláricos eram as únicas medicações utilizadas no mundo todo para o tratamento da COVID-19, motivo pelo qual foram recebidas por todos os pacientes do estudo (permitindo, inclusive, a incorporação ao protocolo institucional de tratamento da COVID-19). Ao final do período de recrutamento deste projeto, foram publicados os primeiros artigos sobre o uso da hidroxicloroquina na COVID-19. Embora houvesse ainda, naquele momento, controvérsias sobre eficácia e segurança, e retratações em alguns estudos, a coincidência temporal com o final do recrutamento permitiu-nos encerrar o projeto sem a necessidade de alterar o protocolo de intervenção.

1.2.2. Colchicina

A colchicina é amplamente utilizada para o tratamento de crises agudas articulares em doenças por depósito de cristais de ácido úrico (gota) e pirofosfato de cálcio (condrocalcinose). O interesse pelo uso clínico da colchicina advém de suas propriedades anti-inflamatórias, as quais decorrem, principalmente, do efeito na adesão e na migração de neutrófilos, bem como na capacidade de essas células alterarem sua forma e liberarem agentes quimiotáticos (NUKI *et al.*, 2008). A ligação da colchicina com dímeros de tubulina (HASTIE, 1991) e consequente bloqueio de sua polimerização é o evento responsável por todas essas alterações da atividade neutrofílica e a justificativa para seu uso nas doenças reumáticas cujo quadro clínico decorre da deposição de microcristais. Outras ações em leucócitos, em especial as células apresentadoras de antígenos, como a redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, não podem ser atribuídas com certeza ao efeito nos microtúbulos. Tem sido reconhecido o efeito da medicação no bloqueio da conversão da pró-IL-1 β em IL-1 β pela caspase-1 do inflamassoma NLRP3 estimulada por microcristais. Ocorre também redução da produção de IL-6 e TNF, o que tem sido creditado à limitação do efeito cascata pós-ativação da IL-1 β (SLOBODNICK *et al.*, 2015).

A colchicina é absorvida no jejuno e no íleo, tem meia-vida de 20-40 horas e sua biodisponibilidade varia de 24 a 88%. Sofre ação da glicoproteína-P ainda na célula luminal intestinal e pode ser secretada sem que chegue à corrente sanguínea; pode também ser secretada na via biliar durante a primeira passagem hepática (inalterada ou em forma de metabólito), para ao final ser excretada nas fezes. A mesma glicoproteína é responsável pela eliminação da colchicina, inalterada, pelos túbulos renais (SLOBODNICK *et al.*, 2018). A porção metabolizada pelo fígado sofre efeito do citocromo P450, CYP3A4.

A dose terapêutica para as indicações de uso recorrente ou crônico da colchicina varia de 0,015 a 0,030 mg/kg/dia (NIEL; SCHERRMANN, 2006). Doses com elevada toxicidade ou resultando em morte estão entre 0,5 e 0,8 mg/kg (BEN-CHETRIT *et al.*, 1994). Em revisão sistemática seguida de metanálise sobre os eventos adversos do uso da colchicina, os mais frequentes foram os gastrointestinais, em especial quando do uso crônico, com destaque para diarreia (risco relativo = 2,4; IC95% 1,6-3,7) (STEWART *et al.*, 2020). Essa mesma revisão não mostrou ter havido aumento de eventos adversos hepáticos, neurológicos, musculares, infecciosos ou hematológicos e nenhuma morte atribuível à medicação. Em estudo com pacientes de DPOC acima de 60 anos (média = 69 anos) foi testada colchicina na dose de 0,6 mg a cada 8 horas por 14 dias, não tendo havido aumento de eventos adversos de qualquer natureza quando comparado com grupo placebo (COHEN *et al.*, 1991). No Brasil, a apresentação é em comprimidos de 0,5 mg. Doses entre 1,5 e 3,0 mg são indicadas nas primeiras 24 horas de uma crise de gota. Em estudo com pacientes de gota, com média de idade de 52 anos, o grupo que recebeu 1,8 mg (1,2 mg seguido de 0,6 mg após uma hora) de colchicina em um período de uma hora teve, ao longo de 24 horas de observação, a mesma frequência de eventos adversos que o grupo placebo (TERKELTAUB *et al.*, 2010).

As interações da colchicina com outras medicações decorrem da metabolização destas por essas duas proteínas, glicoproteína-P e CYP3A4. Exemplos de drogas (42, 43) que podem causar acúmulo e toxicidade da colchicina estão na Tabela 2.

Tabela 2: Potencial interação medicamentosa com a colchicina.

Inibidores do CYP3A4	Substratos da glicoproteína-P
Cetoconazol/itraconazol	Amitriptilina
Cimetidina	Ciclosporina

Claritromicina/eritromicina	Verapamil
Fluoxetina/paroxetina	Digoxina
Nefazodona	Alcaloides da vinca
Inibidores de protease	Estatinas

1.2.2.1. Justificativa do uso na forma moderada/grave da COVID-19

Durante décadas, a colchicina tem sido usada com sucesso para o tratamento e prevenção da artrite induzida por cristais. As doenças autoinflamatórias sistêmicas, como a febre familiar do Mediterrâneo e a doença de Behçet, são condições nas quais o uso de colchicina pode ser necessário continuamente (COHEN *et al.*, 1991). Muito desse sucesso vem de seu efeito direto sobre os fagócitos que residem ou migram para as articulações sinoviais, paredes dos vasos ou outros tecidos, levando à inibição do inflamassoma e diminuição da produção e liberação de IL-1 β (NUKI *et al.*, 2008) e NETs (TERKELTAUB *et al.*, 2010). Em todas essas situações, o medicamento é bem tolerado e seus efeitos adversos, amplamente reconhecidos.

A colchicina é um inibidor da mitose e da montagem dos microtúbulos. Ela se liga a heterodímeros de tubulina não polimerizados solúveis para formar um complexo tubulina-colchicina (NIEL; SCHERRMANN, 2006). Em doses mais baixas, a colchicina interfere na formação e alongamento dos microtúbulos, e em doses mais altas, a colchicina promove a despolimerização dos microtúbulos (BHATTACHARYYA *et al.*, 2008). Como os microtúbulos estão envolvidos em uma variedade de processos celulares, como divisão, manutenção da forma, sinalização, transdução de sinal, migração e transporte celular, a colchicina pode inibir essas funções, bem como a quimiotaxia de neutrófilos.

Além disso, apresenta um efeito inibitório nas funções dos neutrófilos, como adesão, motilidade, e quimiotaxia, através da diminuição da expressão de moléculas de adesão em sua membrana, levando uma inibição significativa na migração e interação dos neutrófilos com células endoteliais, modulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF (SCHLESINGER; FIRESTEIN; BRUNETTI, 2020).

Também foi descrito que na presença de colchicina, os macrófagos peritoneais de camundongos mostram menos permeabilidade induzida por adenosina trifosfato (ATP) e

diminuição da formação de ROS, óxido nítrico (NO) e liberação de IL-1 β (CHIA; GRAINGER; HARPER, 2008). A colchicina modula a secreção de TNF induzida por lipopolissacarídeos nos macrófagos do fígado de camundongo e desregula os receptores de TNF nas células endoteliais, resultando em expressão de superfície diminuída. É importante ressaltar que o TNF induz o fator nuclear kappa-B (NF- κ B) e vice-versa, e a estabilidade dos microtúbulos se correlaciona com a regulação da sinalização de NF- κ B. Especificamente, se os microtúbulos são desestabilizados pela colchicina, a indução de NF- κ B pelo TNF é significativamente reduzida (ROBERGE *et al.*, 1996).

Quanto ao inflamassoma NLRP3, este é composto por três componentes distintos: NLRP3, uma proteína semelhante a uma partícula associada à apoptose (ASC, do inglês *apoptosis-associated speck-like protein*) e a pró caspase-1. O complexo colchicina-tubulina bloqueia a formação e ativação do inflamassoma NLRP3 ao inibir a polimerização dos microtúbulos e atenua o arranjo do inflamassoma e a sua ativação (SLOBODNICK *et al.*, 2018; (MISAWA *et al.*, 2013). Essa atenuação decorre da interrupção do transporte de mitocôndrias mediado por microtúbulos (onde a ASC endógena está localizada) para o retículo endoplasmático, onde o NLRP3 está localizado. A junção de NLRP3 e ASC é necessária para a montagem e ativação do inflamassoma para produzir IL-1 β e IL-18 ativas (MISAWA *et al.*, 2013).

Como a infecção viral pelo SARS-CoV-2 ativa o inflamassoma NLRP3 e esta ativação leva a grande produção de IL-1 β , o reconhecido efeito da colchicina na inibição deste sistema pode produzir efeito sinérgico positivo no intuito de diminuir o estado hiperinflamatório, com poucos eventos adversos e baixo custo.

1.3. Caracterização do principal problema a ser abordado

Dos casos diagnosticados de COVID-19, 20% necessitam de internação em ambiente hospitalar (casos moderados até críticos), sendo que 25% (ou seja, 5% do total) destes necessitarão de cuidados em unidades de terapia intensiva (LECHIEN *et al.*, 2020). No Brasil, como em qualquer lugar do mundo afetado pela pandemia, o número de leitos de UTI é um dos muitos fatores limitantes do atendimento aos pacientes agudamente acometidos pela SRAG e, certamente, é o de maior dramaticidade, seja pela morte iminente seja pela real possibilidade de a equipe médica ter de decidir prestar cuidados intensivos para alguns em detrimento de outros. Como é evidente, carecemos de terapia

eficaz contra a COVID-19. Mesmo que não tenhamos uma terapia específica que atue diretamente no vírus, são justificáveis tentativas que diminuam a magnitude da resposta inflamatória sistêmica que resulta na SRAG.

Propomos o uso da colchicina como intervenção racional, com potencial de eficácia e diminuto risco de eventos adversos, nos casos de COVID-19 que necessitem de internação hospitalar. O objetivo desta intervenção, realizada nos primeiros dez dias de internação, é diminuir o processo inflamatório sistêmico, em especial o pulmonar, na intenção de reduzir a necessidade de suporte avançado à vida em UTIs.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

- Avaliar eficácia e segurança do uso da colchicina no tratamento de pacientes com COVID-19 que necessitem de tratamento hospitalar.

Para isso, serão considerados os seguintes desfechos primários:

- Necessidade e tempo de suporte ventilatório não-invasivo e invasivo;
- Tempo de internação;
- Tempo de permanência em UTI;
- Taxa de óbito;

Como desfechos secundários, observaremos:

- Frequência e natureza de eventos adversos;
- Frequência de interrupção do tratamento por evento adverso.

2.2. Objetivo secundário

- Traçar perfil clínico e laboratorial dos casos de COVID-19 hospitalizados em nosso meio.

3. MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo clínico controlado, duplo-cego, com aleatorização simples para dois grupos: Tratamento com cloroquina e placebo (CQ-PCB) e Tratamento com cloroquina e colchicina (CQ-COL), realizado na Unidade Especial para Tratamento de Doenças Infecciosas (UETDI) do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da FMRP-USP. A aleatorização foi realizada 1:1 para CQ-PCB e CQ-COL por meio da ferramenta online <https://www.randomizer.org/>.

Para estimar o tamanho amostral, levamos em consideração o paralelismo dos grupos e a aleatorização 1:1, com uma diferença mínima de efeito de 0,3 atribuível à colchicina nos desfechos primários. Consideramos um erro alfa de 0,05 e um erro beta de 0,10; o que resultou num número amostral mínimo de 27 por grupo.

Levando em consideração a necessidade de terapias eficazes para COVID-19, além das limitações para a realização de um ensaio clínico em um único centro, o número de 60 pacientes pareceu adequado se aleatorizados em dois grupos de 30.

O ensaio está registrado no Registro Nacional sob o código alfanumérico RBR-8jyhxx (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-8jyhxx/>) e foi aprovado pelo Comitê Nacional de Ética (CONEP; CAAE: 30248420.9. 3001.5403). Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.1. Critérios de inclusão

Foram inclusos pacientes com diagnóstico de COVID-19 (conforme detalhado no item 1.1.4), maiores de 18 anos e com pelo menos 50 kg de peso corpóreo, com a forma moderada ou grave e que necessitavam de tratamento em ambiente hospitalar. Além disso, os pacientes deveriam ter dosagens normais de cálcio (Ca^{2+}) e potássio (K^+) séricos, eletrocardiograma (ECG) de 12 derivações mostrando intervalo QT dentro da normalidade e exame de β -HCG negativo (se mulher entre 18 e 50 anos).

3.2. Critérios de exclusão

Não foram inclusos no estudo pacientes que:

- Apresentavam forma leve ou crítica da COVID-19;
- Apresentavam diarreia líquida;
- Sabiam ser alérgicos a hidroxicloroquina ou colchicina;

- Tinham diagnóstico de porfiria, miastenia gravis ou arritmia não controlada no momento da admissão;
- Estivessem gestantes ou amamentando;
- Fizessem uso de digoxina, amiodarona, verapamil ou metoprolol;
- Fizessem uso de inibidores de proteases;
- Possuíssem antecedente de hepatopatia crônica com disfunção hepática;
- Fossem portadores de câncer metastático ou estivessem em uso de terapia imunossupressora;
- Não conseguissem entender as informações contidas no TCLE.

3.3. Protocolo de intervenção

Cada comprimido de sulfato de hidroxicloroquina 400 mg tem 310 mg de cloroquina base. A cloroquina base foi utilizada para cálculo de doses, de acordo com a faixa de peso, visando dose acumulada entre 45 e 65 mg/kg ao final de 10 dias de terapia (Tabela 3). Como já relatado, a dose recomendada da cloroquina base para tratamento de malária é de 30 mg/kg nas primeiras 48 horas, com possibilidade de repetição de doses de 5 mg/kg nos dias 7 e 14. Pelo desenho do estudo, nenhum paciente recebeu dose acima de 19 mg/kg nas primeiras 48 horas ou de 50 mg/kg até o dia 7 e a maioria dos pacientes recebeu entre 40 e 60 mg/kg ao longo de 10 dias. Os pacientes de ambos os grupos receberam a mesma dose de hidroxicloroquina.

Pacientes do grupo CQ-COL receberam colchicina na dose de 0,5 mg a cada 8 horas nos primeiros 5 dias, seguido de 0,5 mg a cada 12 horas por 5 dias. Se o peso corpóreo fosse igual ou maior que 80 kg, a primeira dose era de 1 mg (Tabela 4). As doses de cloroquina base e de colchicina foram reduzidas (Tabelas 3 e 4) nas seguintes situações: *clearance* de creatinina < 30 mL/min, por qualquer causa, na admissão, e sinais clínicos e laboratoriais de insuficiência hepática, na admissão, causada pela COVID-19 (insuficiência hepática prévia à COVID-19 é critério de exclusão do estudo).

Tabela 3: Dose de tratamento com cloroquina base de acordo com peso corpóreo e parâmetros clínico-laboratoriais.

	50-79 kg	≥ 80 kg
HCQ 400 mg: 1 comp a cada 12 horas	Dia 1 – total de 2 doses	Dias 1 e 2 – total de 4 doses
HCQ 400 mg: 1 comp a cada 24 horas	Dias 2 a 10 – total de 9 doses	Dias 3 a 10 – total de 8 doses
Se Clearance Creatinina < 30 mL/min e/ou insuficiência hepática		
	50-79 kg	≥ 80 kg
HCQ 400 mg: 1 comp a cada 24 horas	Dia 1 – total de 1 dose	Dias 1 e 2 – total de 2 doses
HCQ 400 mg: meio comp a cada 24 horas	Dias 2 a 10 – total de 9 doses	Dias 3 a 10 – total de 8 doses

Fonte: Dados da pesquisa.**Tabela 4:** Doses de tratamento com colchicina de acordo peso corpóreo e com parâmetros clínico-laboratoriais.

	50-79 kg	≥ 80 kg
Colchicina	Na admissão – 1 cp	Na admissão – 2 cp
Colchicina	Dias 1 a 5 – 1 cp a cada 8 horas	Dias 1 a 5 – 1 cp a cada 8 horas
Colchicina	Dias 6 a 10 – 1 cp a cada 12 horas	Dias 6 a 10 – 1 cp a cada 12 horas
Se Clearance Creatinina < 30 mL/min e/ou insuficiência hepática		
	50-79 kg	≥ 80 kg
Colchicina	Na admissão – meio cp	Na admissão – 1 cp
Colchicina	Dias 1 a 5 – meio cp a cada 8 horas	Dias 1 a 5 – meio cp a cada 8 horas
Colchicina	Dias 6 a 10 – meio cp a cada 12 horas	Dias 6 a 10 – meio cp a cada 12 horas

Fonte: Dados da pesquisa.

Todos os participantes receberam o tratamento institucional para COVID-19 com azitromicina 500 mg (via oral - VO) uma vez ao dia por até 7 dias e heparina não fracionada 5000 UI (subcutânea - SC) três vezes ao dia até o final da hospitalização. Durante a condução do estudo, os primeiros resultados do Grupo Colaborativo RECOVERY foram lançados, (HORBY *et al.*, 2021) mostrando os benefícios de adicionar glicocorticoide ao tratamento de COVID-19. Então, metilprednisolona 0,5 mg/kg/dia por 5 dias foi adicionado ao protocolo da instituição, para uso se o paciente precisasse de oxigênio suplementar a um fluxo de 6 L/min ou superior. As medicações do protocolo institucional e do estudo foram suspensas antes do décimo dia se os participantes tivessem condições clínicas de alta hospitalar.

Eventuais deteriorações do quadro clínico foram consideradas, pela gravidade da COVID-19, consequências da infecção e as medicações somente tiveram suas doses ajustadas se as alterações de função renal e hepática descritas acima ocorressem.

3.4. Avaliação clínica e laboratorial dos pacientes

Dados de anamnese e exame físico, bem como outros dados aferidos através de aparelhos, foram obtidos por consulta ao prontuário eletrônico da instituição. Quando da admissão no serviço hospitalar foram realizados os seguintes exames, de acordo com rotina de atendimento assistencial da instituição: hemograma; gasometria arterial, dosagens séricas de enzimas hepáticas, glicose, eletrólitos, ureia e creatinina, DHL, bilirrubinas, albumina, ferritina, dímeros-D, fibrinogênio, e PCR; tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa). Tais exames fizeram parte da avaliação de gravidade da COVID-19.

Para coleta e armazenamento primário dos dados, foi utilizada a Ficha de Coleta de Dados que se encontra no Anexo 1.

3.5. Delineamento do ensaio clínico

Os pacientes foram avaliados diariamente, e coleta de sangue para testes laboratoriais gerais foram realizados nos dias 0, 2, 3, 5, 7, 10 e 14, se a alta não ocorresse antes. ECG de doze derivações foi realizado a cada 24–48 horas. A definição da necessidade de suprimento de oxigênio foi a medida da $\text{SatO}_2 \leq 92\%$ em repouso. Os

critérios alta hospitalar foram a ausência de dispneia e $\text{SatO}_2 > 92\%$, ambos por pelo menos 48 horas consecutivas.

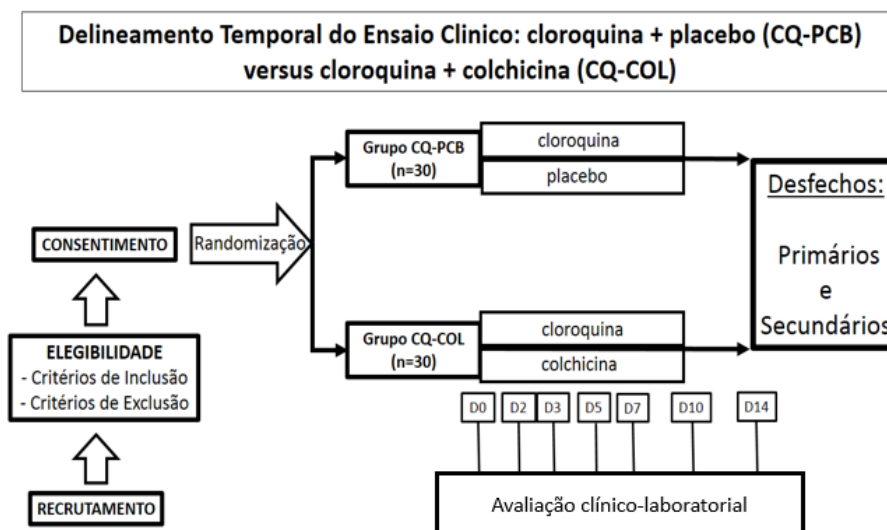


Figura 1: Delineamento temporal do ensaio clínico.

Após o dia 14, foi mantido seguimento observacional dos pacientes a cada sete dias, até o final da internação, tendo em vista os desfechos primários e secundários.

3.6. Situações de retirada do estudo

Com relação à minimização de eventos adversos leves, como náuseas, dor abdominal inespecífica e cefaleia, medicações para controle sintomático foram permitidas (antieméticos, antidiarreicos e analgésicos comuns), visto que podem ser sintomas atribuíveis à COVID-19. Se os eventos adversos gastrointestinais impedissem a alimentação, o paciente seria retirado do estudo. Se houvesse aumento de volume e frequência evacuatória, levando a desconforto/incômodo do paciente ou desidratação, o paciente seria retirado do estudo. Se houvesse prolongamento do intervalo QT durante os 10 dias de tratamento, as medicações do estudo seriam interrompidas e o paciente retirado do protocolo e mantido sob observação até que a alteração desaparecesse.

Caso o paciente tivesse recuperação completa antes dos 10 dias de tratamento e alta hospitalar, o protocolo poderia ser interrompido, sem que houvesse prejuízo da participação como paciente do estudo.

3.7. Análise estatística

Apresentamos estatísticas descritivas como números absolutos e porcentagem ou mediana e intervalo interquartil (IQR). Números absolutos e porcentagem foram comparados com o teste exato de Fisher. Comparações de parâmetros clínicos e laboratoriais expressos em mediana e IQR foram feitos por meio do teste de Mann-Whitney. Além disso, curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier foram realizadas, com análise pelo teste de Mantel-Haenszel, para comparar o tempo de necessidade de oxigênio suplementar e o tempo de internação hospitalar entre os grupos. O teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparações de exames laboratoriais nos momentos de coleta de sangue, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn. Para todos os testes, $p < 0,05$ foi considerado para significância estatística.

4. RESULTADOS

4.1. Participantes

O recrutamento começou no dia 11 de abril e terminou no dia 31 de agosto de 2020. Avaliamos 131 pacientes e incluímos 75 para aleatorização, conforme mostrado na Figura 2. As características clínicas e laboratoriais dos 72 pacientes que concluíram o estudo são apresentadas na Tabela 5. Todos os pacientes receberam o protocolo de tratamento institucional com azitromicina e heparina. Vinte e cinco e 24 pacientes, respectivamente, para os grupos CQ-COL e CQ-PCB receberam metilprednisolona.

Nenhum tratamento, institucional ou intervencionista, foi interrompido devido a eventos adversos. Os grupos eram semelhantes em termos de características demográficas, estado clínico e avaliação laboratorial de entrada. Houve uma ligeira predominância de homens no grupo CQ-COL. Além disso, 35 de 36 pacientes no grupo CQ-COL apresentavam IMC acima de 25,0 kg/m² e a mediana do grupo para PaO₂/FiO₂ foi 50,0 mmHg menor, para ambos os parâmetros sem diferença estatística.

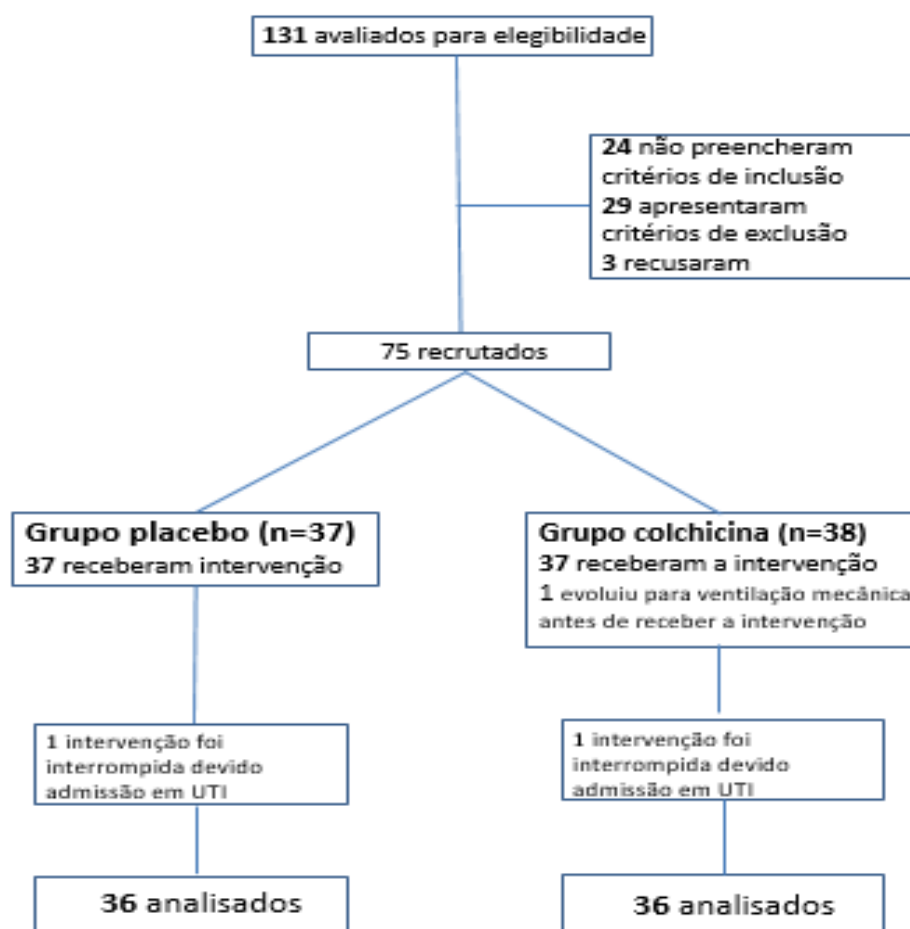


Figura 2: Fluxograma do estudo

4.2. Desfechos

Pelo menos metade dos pacientes do grupo CQ-COL cessou o uso de oxigênio suplementar no quarto dia (mediana 4,0; IQR 2,0-6,0 dias) de intervenção, enquanto o mesmo aconteceu com os pacientes do grupo CQ-PCB somente no sétimo dia (mediana 6,5; IQR 4,0-9,0 dias), com significância estatística ($p < 0,001$). Foi encontrada diferença significativa ($p = 0,003$) entre os grupos para o tempo de internação, em detrimento do grupo CQ-PCB (7,0; IQR 5,0-9,0 dias vs 9,0; IQR 7,0-12,0 dias).

Dois e quatro pacientes, respectivamente, para os grupos CQ-COL e CQ-PCB, necessitaram de internação na UTI. A equipe assistente da UTI preferiu interromper a intervenção do estudo para dois pacientes, um de cada grupo. Por esse motivo, esses dois pacientes foram excluídos da análise final. Embora as intervenções tenham sido interrompidas, ambos os pacientes foram acompanhados para desfechos: o tempo de tratamento antes da admissão na UTI foi de 2 e 3 dias, o tempo de permanência na UTI foi de 12 e 11 dias e o tempo de hospitalização foi de 23 e 26 dias, respectivamente, para os grupos CQ-COL e CQ-PCB. Dois pacientes do grupo CQ-PCB morreram (2 homens; taxa de mortalidade de 6%) e nenhum do grupo CQ-COL. A causa da morte foi pneumonia associada à ventilação mecânica em ambos os casos. Não foi realizada análise estatística para a necessidade de internação em UTI e para a taxa de mortalidade devido ao pequeno número de eventos para cada grupo.

Tabela 5: Características dos pacientes com COVID-19 ao recrutamento.

	Grupo CQ-PCB (n=36)	Grupo CQ-COL(n=36)	Valor de p
Dados demográficos			
Homens [n(%)]	14 (39)	19 (53)	0,34
Idade [anos; mediana (IQR)]	55,0 (42,0 – 67,0)	54,5 (42,5 – 64,5)	0,93
Tempo de sintomas [dias; mediana (IQR)]	8,0 (7,0 – 11,0)	9,5 (7,5 – 11,0)	0,15
Comorbidades			
Tabagismo atual ou prévio (n [%])	9 (25)	7 (19)	0,78
Doenças respiratórias (n [%])	5 (14)	4 (11)	1
Doenças cardiovasculares (n [%])	16 (44)	17 (47)	1
Diabetes mellitus (n [%])	14 (42)	12 (33)	0,63
Dislipidemia (n [%])	12 (33)	8 (18)	0,43
IMC (kg/m ² ; mediana [IQR])	29,7 (26,3 – 36)	33,5 (28,6 – 37,8)	0,17
Quadro clínico da COVID-19			
Febre (n [%])	33 (92)	32 (89)	1
Tosse (n [%])	36 (100)	36 (100)	1
Fadiga (n [%])	15 (42)	19 (53)	0,48
Mialgia (n [%])	22 (61)	19 (53)	0,63

Diarreia (n [%])	8 (22)	11 (31)	0,59
Sem oxigênio suplementar (n [%])	4 (11)	1 (3)	0,36
Com suporte de oxigênio (n [%]), (L/min; mediana [IQR])	24 (67), (3; 2 – 3,5)	28 (78), (3; 2 – 4)	0,65
Em alto fluxo (n [%])	8 (22)	7 (19)	1
Ventilação mecânica (n [%])	0	0	1
PaO ₂ / FiO ₂ no recrutamento (mediana [IQR])	278 (197 – 313)	228 (196 – 272)	0,25
qSOFA ≥ 1 (n [%])	34 (94)	34 (94)	1
SOFA	2,5 (1-3)	2 (1-3)	0,8
Achados laboratoriais			
Hemoglobina (g/dL; mediana [IQR])	12,9 (11,8 – 14,2)	13,3 (12,5 – 14,6)	0,44
Neutrófilos (/mm ³ ; mediana [IQR])	5450 (3800 – 7300)	5750 (3500 – 7650)	0,98
Linfócitos (/mm ³ ; mediana [IQR])	1300 (900 – 2050)	1100 (900 – 1550)	0,16
Neutrófilo/ Linfócito (mediana[IQR])	3,34 (2,46 – 6,0)	3,86 (2,8 – 7,44)	0,40
Plaquetas (/mm ³ ; mediana [IQR])	240000 (170000 – 288000)	226000 (20100 – 318000)	0,79
Creatinina (mg/dL; mediana [IQR])	0,81 (0,64 – 1,05)	0,9 (0,7 – 1,01)	0,51
Proteína C-reativa (mg/dL; mediana [IQR])	9,3 (5,8 – 15,1)	9,2 (6,6 – 12,6)	0,91
Lactato desidrogenase (U/L; mediana [IQR])	374 (301 – 477)	351 (299 – 473)	0,76
D-dímero (mcg/mL; mediana [IQR])	1,12 (0,63 – 1,77)	1,4 (0,92 – 1,92)	0,12
Ferritina (ng/mL; mediana [IQR])	597 (285 – 1289)	723 (436 – 1173)	0,43
Aspartato aminotransferase (U/L; mediana [IQR])	37 (27 – 63)	44 (28 – 70)	0,43
Alanina aminotransferase (U/L; mediana [IQR])	35 (24 – 48)	45 (38 – 80)	0,18

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 6 mostra o tempo de uso de oxigenioterapia suplementar e o tempo de hospitalização. Nota-se diferença entre os dois grupos com relação a ambos os parâmetros.

Tabela 6: Desfechos primários.

Desfecho	Grupo CQ- PCB (n=36)	Grupo CQ- COL (n=36)	Valor de p
Tempo de O ₂ suplementar [dias; mediana (IQR)]	6,5 (4,0 - 9,0)	4,0 (2,0 - 6,0)	<0,001

Tempo de hospitalização [dias; mediana (IQR)]	9,0 (7,0 – 12,0)	7,0 (5,0 – 9,0)	0,003
Pacientes que necessitaram de admissão em UTI [n (%)]	4 (11)	2 (6)	-
Taxa de mortalidade (%)	6	0	-

Fonte: Dados da pesquisa.

As curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier para a necessidade de oxigênio suplementar e manutenção da hospitalização estão representadas nas Figuras 3 e 4, respectivamente. No dia 2, 67% vs 86% dos pacientes mantiveram a necessidade de oxigênio suplementar, enquanto no dia 7 esses valores foram 9% vs 42%, nos grupos CQ-COL e CQ-PCB, respectivamente (teste log rank, 10,6; $p=0,001$). A hospitalização foi mantida por 42% vs 72% dos pacientes no dia 7 e 9% vs 39% no dia 10, nos grupos CQ-COL e CQ-PCB, respectivamente (teste de log rank, 9,2; $p=0,002$). Ambos os desfechos apresentaram comportamento semelhante, uma vez que o último é em grande parte consequência do primeiro.

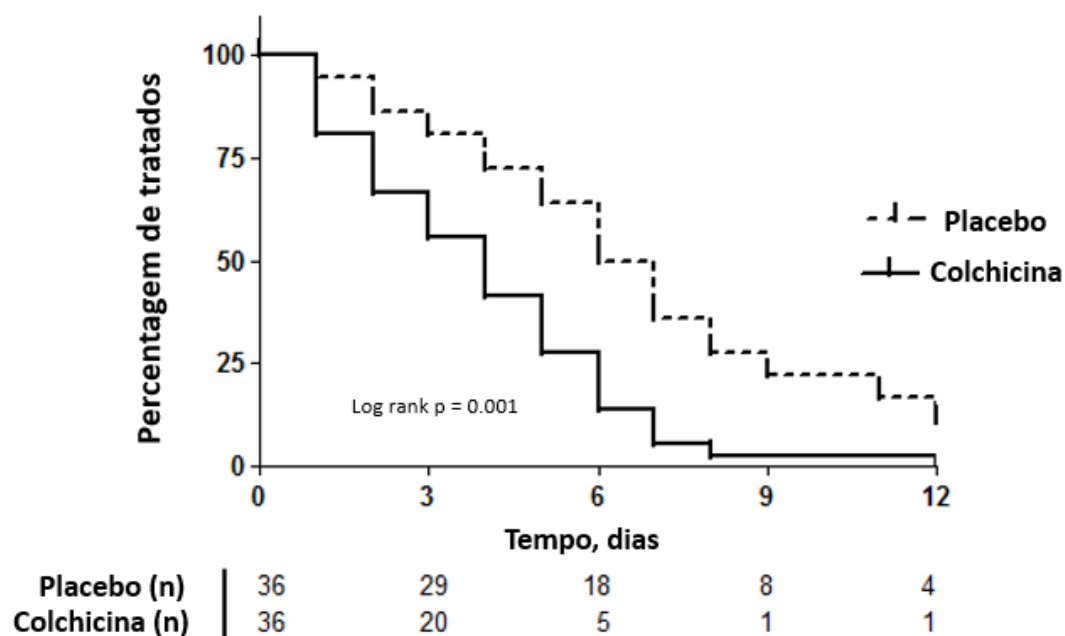


Figura 3: Curvas de Kaplan-Meier para necessidade de oxigenioterapia.

Fonte: Dados da pesquisa.

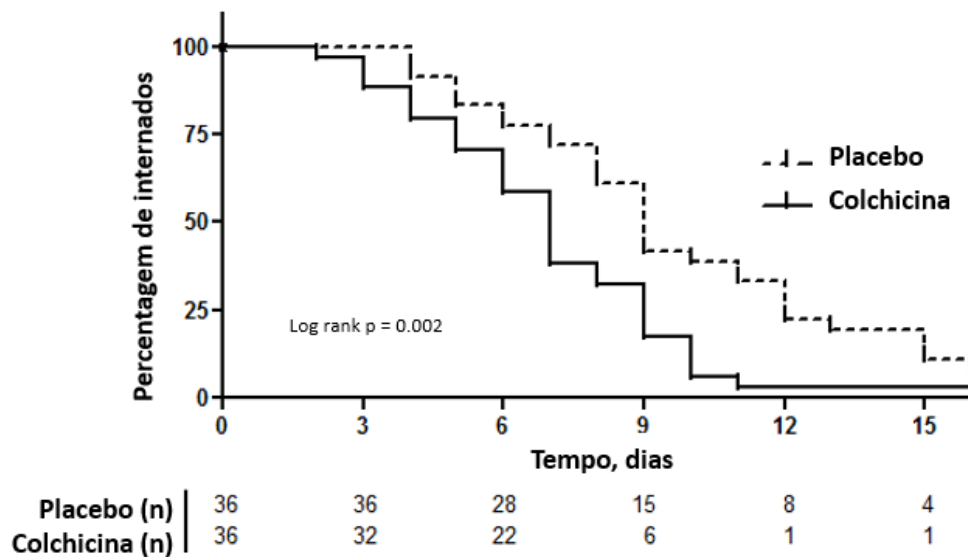


Figura 4: Curvas de Kaplan-Meier para o tempo de internação hospitalar.

Fonte: Dados da pesquisa.

Avaliamos alguns parâmetros laboratoriais como desfechos secundários. As Figuras 5, 6 e 7 mostram as variações temporais de PCR sérica e DHL, e a relação neutrófilos/linfócitos no sangue periférico, respectivamente, do dia zero ao dia 7. Começando ambos os grupos com níveis semelhantes de PCR sérica, no dia 4 pacientes do grupo CQ-COL apresentaram redução significativa de seus níveis e em relação aos pacientes do grupo CQ-PCB ($p < 0,001$). É possível observar que os níveis séricos de PCR tornaram-se diferentes entre os grupos no intervalo entre os dias 2 e 4, com valores próximos da normalidade (mediana = 1,3 mg/dL) para o grupo CQ-COL no dia 4. Para o grupo CQ-PCB, a diferença estatística em comparação com a linha de base ocorreu no dia 7 ($p < 0,001$), mas nenhum retorno ao intervalo normal da mediana de PCR foi observado naquele momento. O pós-teste para DHL mostrou uma diferença entre o dia zero e os dias 4 e 7 para o grupo CQ-COL. Nenhuma diferença inter e intragrupo para a relação neutrófilos/linfócitos foi obtida.

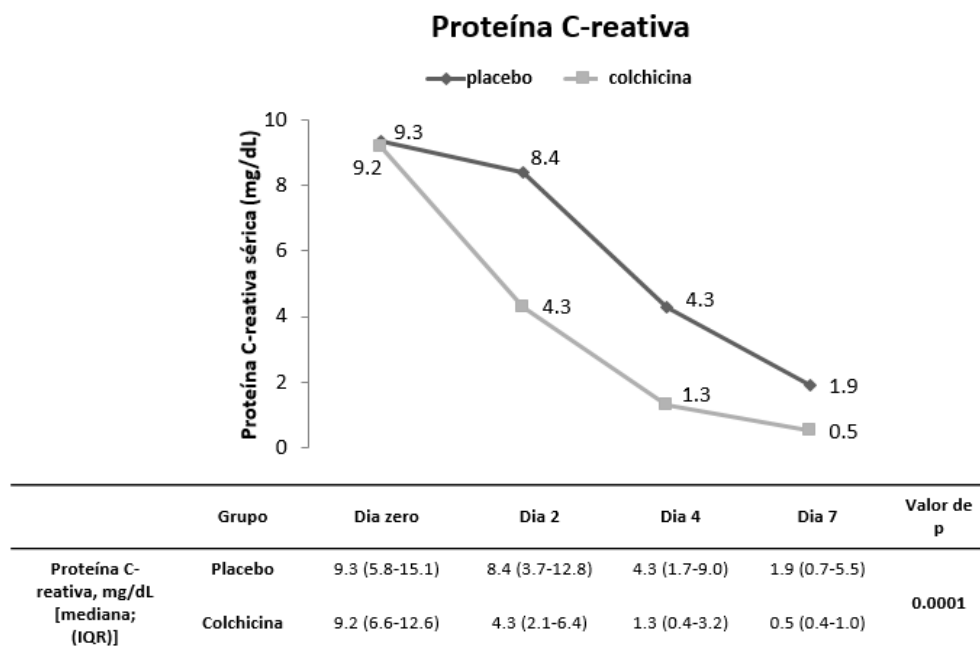


Figura 5: Variação temporal dos níveis séricos de Proteína-C-reativa do Dzero ao D7 em ambos os grupos.

Fonte: Dados da pesquisa.

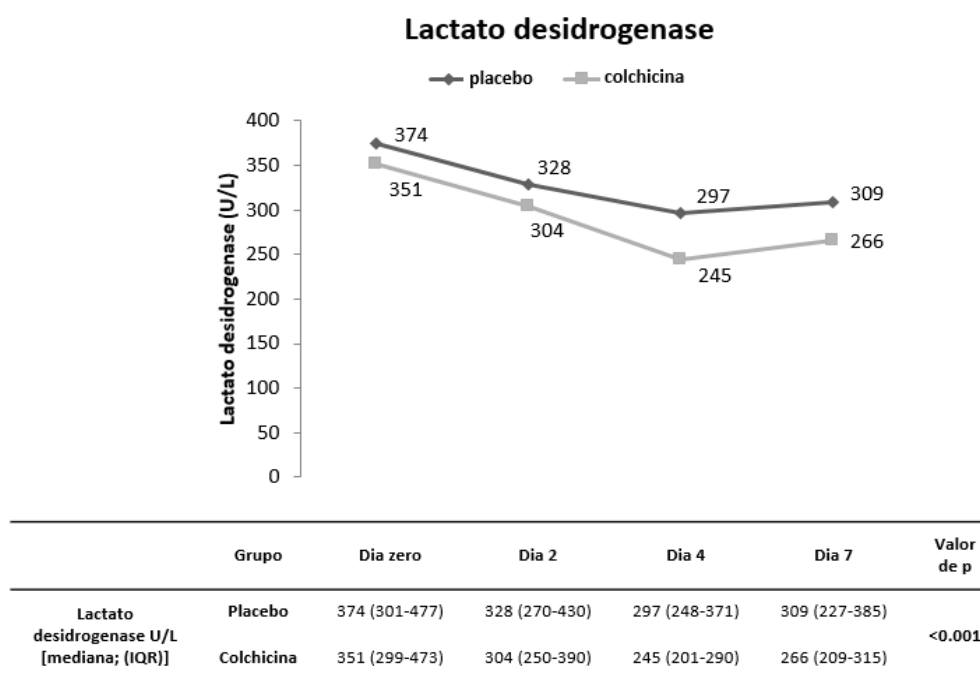


Figura 6: Variação temporal de Lactato desidrogenase do Dzero ao D7 em ambos os grupos.

Fonte: Dados da pesquisa.

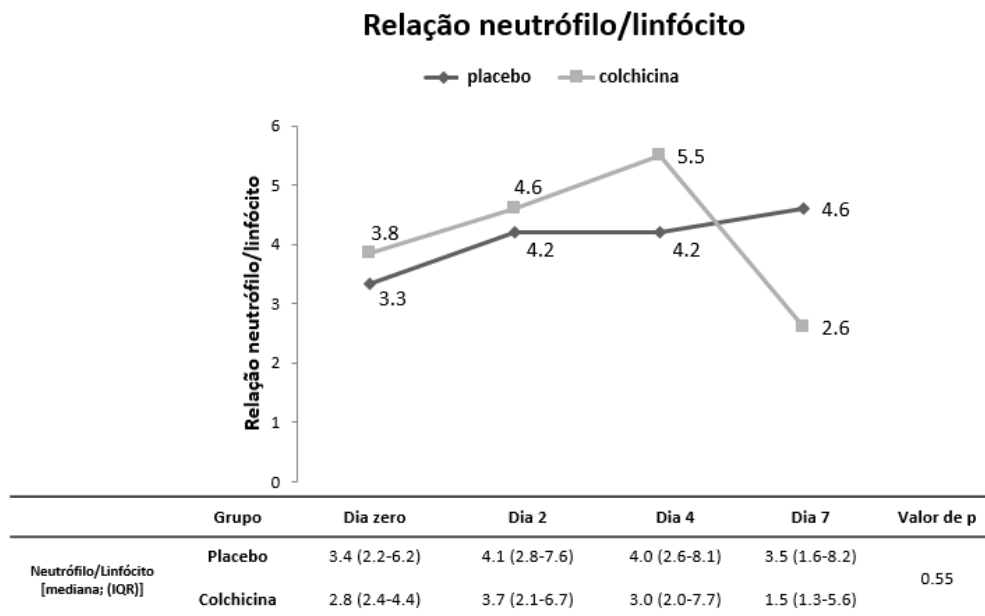


Figura 7: Variação temporal da relação neutrófilo/linfócito no sangue periférico do Dzero ao D7 em ambos os grupos.

Fonte: Dados da pesquisa.

Com relação aos eventos adversos (Tabela 7), a maioria foi leve (exceção para pneumonia) e, de certa forma, atribuível à própria infecção viral ou suas complicações, não implicando na retirada do paciente do estudo; como no caso de elevações transitórias de AST e ALT, abaixo de 3x o limite superior da normalidade, sem diferença entre os grupos (Figuras 8 e 9). Diarreia nova ou agravada foi mais frequente no grupo de intervenção (17% vs 6%). Nenhum dos pacientes sofreu desidratação e a diarreia foi controlada com a prescrição de um agente anti-secretor (racecadotril). Os eventos adversos cardíacos, sem dúvida a principal questão sobre o uso de hidroxicloroquina e/ou azitromicina para COVID-19, não tiveram uma frequência aumentada com a adição de colchicina. Nenhum participante teve intervalo QT acima de 450 ms durante o período de observação, sendo o valor máximo igual a 428 ms, em paciente do grupo CQ-PCB. Não foi observada diferença entre os grupos na variação do intervalo QT do valor do dia zero ao valor mais alto.

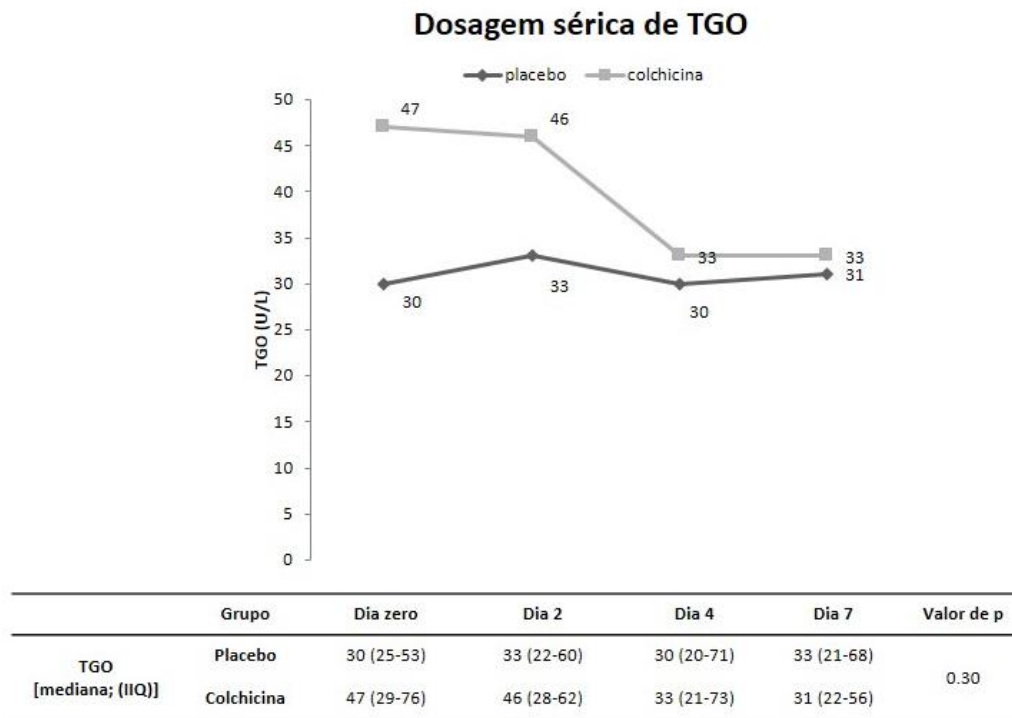


Figura 8: Variação temporal da dosagem sérica de AST (TGO) Dzero ao D7 em ambos os grupos.
Fonte: Dados da pesquisa.

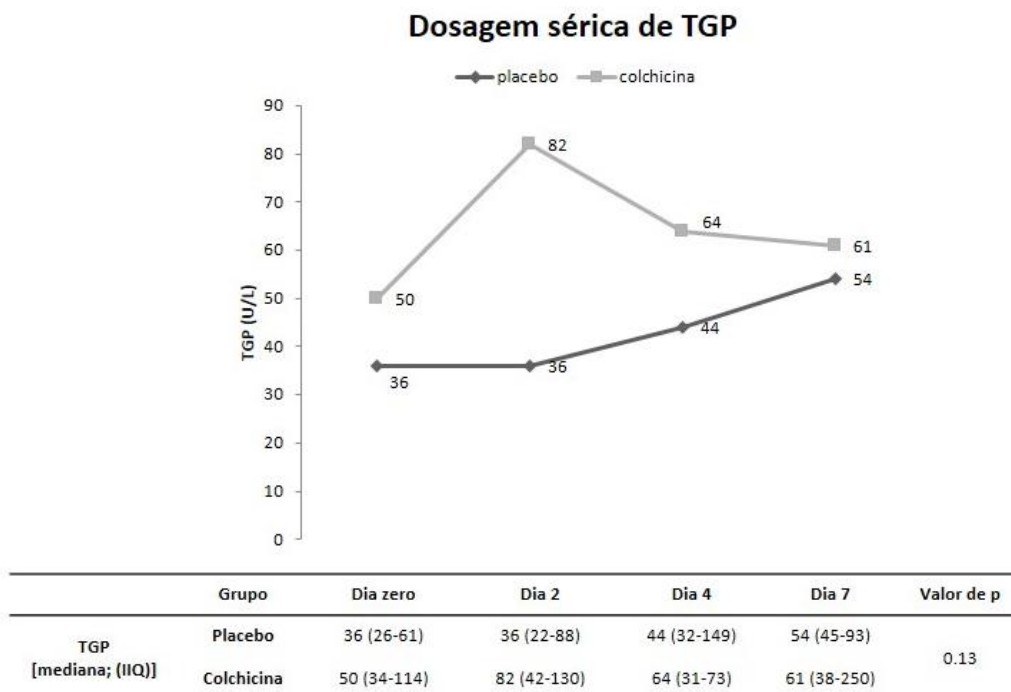


Figura 9: Variação temporal da dosagem sérica de ALT (TGP) Dzero ao D7 em ambos os grupos.
Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 7: Eventos adversos.

Evento adverso	Grupo CQ- PCB (n=36)	Grupo CQ- COL (n=36)	Valor de p
Elevação transitória de AST [n (%)]	3 (8)	4(11)	1
Elevação transitória de ALT [n (%)]	5 (14)	5 (14)	1
Náusea/ vômito [n (%)]	4 (11)	2 (6)	0,67
Dor abdominal [n (%)]	4 (11)	4 (11)	1
Novo episódio de diarreia ou agravamento [n (%)]	2 (6)	6 (17)	0,26
Pneumonia nosocomial[n (%)]	5 (14)	3(8)	0,71
Arritmia [n (%)]	0	0	1
Intervalo QT no dia 3 [ms; mediana (IQR)]	405 (388 – 406)	408 (392- 415)	1
Variação de intervalo QT [ms; mediana (IQR)]	28 (13-35)	22 (9 -29)	0,25
Morte	2	0	-

Fonte: Dados da pesquisa.

5. DISCUSSÃO

Frente à pandemia da COVID-19, e na ausência de qualquer terapia eficaz à época, o reaproveitamento de alguns antivirais comumente usados para infecções respiratórias e drogas imunomoduladoras serviu como tentativa de tratamento. Entre estas últimas, a hidroxicloroquina foi um dos primeiros medicamentos a serem testados para COVID-19. Relatos iniciais chineses, no início da pandemia, sugeriam que a cloroquina era eficaz e apresentava perfil de segurança aceitável em pacientes com pneumonia por SARS-CoV-2, tendo sido, então, recomendada nas diretrizes de tratamento em vários países (ELAVARASI *et al.*, 2020). Em junho de 2020, um estudo americano multicêntrico retrospectivo ($n = 807$), em pacientes hospitalizados com COVID-19 mostrou que a hidroxicloroquina foi ineficaz e potencialmente prejudicial (MAGAGNOLI *et al.*, 2020). Em 15 de junho de 2020, a *Food and Drug Administration* dos EUA (FDA) revogou a autorização de uso emergencial desta medicação (FDA, 2020). Desde então múltiplos estudos foram publicados evidenciando a ineficácia da droga. No entanto, é válido ressaltar, como dito em NOTA na introdução, que a coincidência temporal da publicação destes estudos com o final do recrutamento permitiu-nos encerrar o projeto sem a necessidade de alterar o protocolo de intervenção.

Apresentamos os resultados de um ensaio clínico aleatorizado, duplo-cego e controlado, para tratamento da COVID-19 com hidroxicloroquina e placebo ou hidroxicloroquina e colchicina. Os pacientes que receberam colchicina abandonaram a suplementação de oxigênio mais cedo do que aqueles que receberam placebo (mediana, 4,0 vs 6,5 dias) e o tempo até a alta seguiu uma tendência semelhante. Esses dois desfechos primários têm relevância para a prática diária na pandemia de COVID-19, por reduzir o tempo de internação, consequentemente diminuindo os custos e a necessidade de leitos hospitalares. Além disso, o tratamento com colchicina é barato.

Mulheres obesas representaram a maior parcela da população do estudo (39 mulheres e 33 homens). Embora a suscetibilidade à infecção por SARS-CoV-2 pareça não estar relacionada ao sexo, a apresentação clínica da COVID-19 se mostrou pior em homens, com maiores taxas de mortalidade (MI *et al.*, 2020). Não pudemos avaliar a taxa de mortalidade por sexo, mas os dois pacientes que morreram eram homens. A maior frequência de mulheres em nossa população de estudo decorre do fato de que 19 dos 29 pacientes que preencheram os critérios de exclusão eram homens com forma crítica da doença (insuficiência respiratória) na avaliação inicial.

Uma grande variação da magnitude da inflamação sistêmica, refletida nas amplas faixas de PCR sérica (2,3 a 28,2 mg/dL) e $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (65 a 400 mmHg), garante que esta

amostra de pacientes é representativa das hospitalizações por pneumonia da COVID-19. Levando em consideração o efeito sobre a curva de PCR e a necessidade de oxigênio suplementar, o uso da colchicina parece promissor se considerarmos que a inflamação sistêmica foi interrompida com segurança em um período mais curto em comparação com o tratamento padrão.

Seis pacientes necessitaram de internação em UTI e todos eles tinham $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100$ mmHg no momento da admissão. É certo que o efeito da colchicina na redução da inflamação sistêmica não é suficiente para todos os pacientes e que, para alguns, nenhuma intervenção impediria a insuficiência respiratória. Esses seis pacientes receberam metilprednisolona. Vale ressaltar que o uso concomitante de glicocorticoide não deve ser considerado como tendo influência na evolução mais favorável do grupo CQ-COL, uma vez que ambos os grupos apresentaram número semelhante de pacientes em uso do medicamento.

O protocolo do estudo utilizou a dose máxima diária segura de colchicina considerando um peso corporal de 50 kg, ou seja, 0,030 mg/kg (44). O peso corporal dos participantes variou de 62 a 145 kg, o que resulta, para alguns pacientes, em uma dose diária inferior a 0,015 mg/kg, a dose mínima para uso crônico de colchicina. Esse intervalo de dose (em mg/kg) seguro foi mantido, mesmo nas primeiras 24 horas, com o objetivo de evitar a ocorrência ou agravamento da diarreia, manifestação frequente da COVID-19.

Apenas 5 dos 72 pacientes analisados apresentaram valores normais de IMC, sendo 4 deles aleatorizados para o grupo CQ-PCB. A inflamação sistêmica é uma característica comum associada à obesidade, síndrome metabólica e risco cardiovascular elevado (ROCHA; LIBBY, 2009; ESSER *et al.*, 2014), com papel destacado para IL-1 β e para o inflamassoma NLRP3. O tecido adiposo de obesos tem o macrófago tipo 1 como principal célula fagocítica residente. Esse subgrupo de macrófagos é preparado para secretar citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF (CHAWLA; NGUYEN; GOH, 2011). Alguns grupos descobriram que a obesidade é um fator de risco para a gravidade do COVID-19, conforme relatado em uma revisão sistemática com metanálise (YANG; HU; ZHU, 2021). Devido ao pequeno número de não obesos em nossa população de estudo, não podemos simplesmente extrapolar nossos achados para indivíduos não obesos da população em geral, uma vez que a ação da colchicina pode ser limitada àqueles em que a associação de obesidade e inflamação tem uma efeito fisiopatológico fundamental.

A colchicina já foi testada inclusive como protetora contra eventos isquêmicos pós-infarto do miocárdio com algum sucesso (TARDIF *et al.*, 2019), e foi descoberto que melhora a função endotelial em um subgrupo de pacientes com doença coronariana e aumento da contagem de leucócitos no sangue periférico (KAJIKAWA *et al.*, 2019).

Nosso grupo relatou dois possíveis mecanismos envolvidos na inflamação pulmonar na COVID-19. Em primeiro lugar, o possível papel das NETs na inflamação pulmonar (VERAS *et al.*, 2020). Em segundo lugar, relatamos que a ativação do inflamassoma de NLRP3 foi associada à gravidade da COVID-19 e ao desfecho clínico insatisfatório (RODRIGUES *et al.*, 2021). Uma das ações da colchicina é reduzir a migração de leucócitos, principalmente neutrófilos, para tecidos inflamados. Qualquer que seja o mecanismo de ação - inibir o inflamassoma, reduzir a migração e ativação de neutrófilos ou prevenir o dano endotelial -, a colchicina parece ser benéfica para o tratamento de pacientes com COVID-19 hospitalizados. A redução acentuada dos níveis séricos de PCR entre o segundo e o quarto dias coincide com a recuperação clínica da maioria dos pacientes. A maioria dos participantes estava na segunda semana de sintomas, fase em que a inflamação sistêmica se torna marcante. É muito improvável que a colchicina tenha algum efeito antiviral.

Digno de nota é o fato de que o medicamento não contribuiu para eventos adversos hepáticos ou cardíacos nem causou imunossupressão. A diarreia não foi um evento adverso limitante e um medicamento anti-secretor foi adicionado quando necessário.

Alguns estudos sobre o uso da colchicina na COVID-19 foram publicados até o momento; o primeiro deles (SCARSI *et al.*, 2020), um ensaio clínico controlado aleatorizado aberto, no qual foram avaliados 262 pacientes internados com COVID-19, dentre os quais 140 fizeram uso do protocolo institucional (hidroxicloroquina, dexametasona e terapia antiviral), enquanto 122 fizeram uso do mesmo protocolo institucional e da colchicina na dose de 1 mg/dia. Esses pacientes foram acompanhados por 21 dias, e este estudo evidenciou que pacientes tratados com colchicina tiveram maior taxa de sobrevivência após 21 dias.

Além deste, o ensaio GRECCO-19 (DEFTEREOS *et al.*, 2020), um estudo aberto, mostrou que os pacientes que receberam colchicina eram menos propensos à deterioração clínica, apesar de seus níveis séricos de PCR não apresentarem diferença significativa em comparação com os dos pacientes que não receberam o medicamento. A título de comparação, ao analisar pacientes com peso corporal > 60 kg em uso de colchicina (aproximadamente 92%), os pacientes do estudo GRECCO receberam uma dose total de

5,0 mg de colchicina nos primeiros 5 dias, enquanto em nosso estudo os pacientes receberam 7,5 ou 8,0 mg no mesmo período. Essa diferença de dosagem $\geq 50\%$ nos primeiros 5 dias pode explicar a evidente redução da PCR sérica em nosso estudo e justificar a melhor evolução do grupo intervenção.

Dando informação favorável também o uso da colchicina, temos ainda o estudo conhecido como COLCORONA (TARDIF *et al.*, 2021), um ensaio clínico aleatorizado duplo-cego controlado por placebo, que avaliou 4488 pacientes não hospitalizados, evidenciando que entre os pacientes não hospitalizados com COVID-19 confirmado, a colchicina levou a uma menor taxa de mortalidade e hospitalização que o placebo.

Em contrapartida, um único estudo, do grupo RECOVERY (GROUP RECOVERY, 2021), um ensaio clínico controlado aleatorizado aberto, concluiu que a colchicina não teria sido associada à redução de mortalidade, tempo de internação, evolução para ventilação mecânica, nem taxa de mortalidade. Porém algumas considerações devem ser feitas, dentre elas o uso de subdose da medicação, visto que pacientes com menos de 70 kg receberam a dose de 0,5 mg/dia de colchicina, estando aquém da dose terapêutica mínima de 0,015 mg/kg. Além disso, o texto nos traz que 93% dos participantes do estudo receberam ao menos uma dose de colchicina, do que podemos inferir que o estudo analisou pacientes que receberam apenas uma dose da medicação. Mais detalhes sobre como o estudo foi conduzido deve estar disponível na futura publicação definitiva e revisada por pares, já que até o momento dispomos apenas das informações em plataforma *preprint*.

Nosso ensaio clínico tem algumas limitações. A mais evidente é o número reduzido de pacientes e a impossibilidade de avaliar a capacidade da colchicina em evitar internações em UTI e reduzir a mortalidade. Apesar disso, o cegamento e o controle por um braço de placebo fortalecem nossos resultados. A ausência de investigações mecanísticas, por exemplo, medidas dos níveis plasmáticos de citocinas, é outra limitação. Nossos critérios de exclusão foram restritos, como a proibição de alguns medicamentos cardiovasculares. Muitas dessas preocupações estavam relacionadas a medicamentos que poderiam prejudicar o metabolismo ou a excreção da colchicina, mas algumas preocupações também se deviam ao potencial efeito perigoso do uso combinado de hidroxicloroquina e azitromicina para fibras miocárdicas. Por fim, com a alta dos pacientes, o número de amostras de sangue diminuiu ao longo da primeira semana de observação e subsequentes, uma vez que não seria adequado convocar os pacientes para novas coletas de sangue devido à possibilidade de transmissão do SARS-CoV-2.

6. CONCLUSÃO

Pacientes que receberam colchicina neste ensaio clínico aleatorizado, duplo-cego, controlado por placebo, apresentaram melhor evolução em termos da necessidade de oxigênio suplementar e tempo de hospitalização. A PCR sérica foi um marcador laboratorial de melhora. Hidroxicloroquina e colchicina mostraram-se seguras e bem toleradas. Ensaio clínico com um número maior de pacientes e nos quais o protocolo de intervenção não use colchicina em dose inferior à da faixa terapêutica, devem ser realizados para avaliar melhor a eficácia e a segurança da medicação como terapia adjuvante para pacientes hospitalizados com COVID-19 moderada a grave.

7. REFERÊNCIAS¹

¹ Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT

- ABASSI, Z. *et al.* The lung macrophage in SARS-CoV-2 infection: a friend or a foe?. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 1312, 2020.
- BEN-CHETRIT, E. *et al.* Colchicine disposition in patients with familial Mediterranean fever with renal impairment. **The Journal of rheumatology**, v. 21, n. 4, p. 710-713, 1994.
- BHATTACHARYYA, B *et al.* Anti-mitotic activity of colchicine and the structural basis for its interaction with tubulin. **Medicinal research reviews**, v. 28, n. 1, p. 155-183, 2008.
- BLOT, K. *et al.* **Interim Clinical Guidance For Adults with Suspected or Confirmed COVID-19 in Belgium**, p. 1-50, 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia prático de tratamento da malária no Brasil** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, p. 1-38, 2010.
- CHAMS, N. *et al.* COVID-19: a multidisciplinary review. **Frontiers in public health**, v. 8, p. 383, 2020.
- CHAWLA, A.; NGUYEN, K. D.; GOH, Y. S. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 11, p. 738-749, 2011.
- CHIA, E. W.; GRAINGER, R.; HARPER, J. L. Colchicine suppresses neutrophil superoxide production in a murine model of gouty arthritis: a rationale for use of low-dose colchicine. **British journal of pharmacology**, v. 153, n. 6, p. 1288-1295, 2008.
- COHEN, A. B. *et al.* A controlled trial of colchicine to reduce the elastase load in the lungs of ex-cigarette smokers with chronic obstructive pulmonary disease. **Am Rev Respir Dis**, v. 143, n. 5 Pt 1, p. 1038-1043, 1991.
- CUTLER, D. J.; MACINTYRE, A. C.; TETT, S. E. Pharmacokinetics and cellular uptake of 4-aminoquinoline antimalarials. **Agents and actions. Supplements**, v. 24, p. 142-157, 1988.
- DEFTEREOS, S. G. *et al.* Effect of colchicine vs standard care on cardiac and inflammatory biomarkers and clinical outcomes in patients hospitalized with coronavirus disease 2019: the GRECCO-19 randomized clinical trial. **JAMA network open**, v. 3, n. 6, p. 1-14, 2020.
- ELAVARASI, A. *et al.* Chloroquine and hydroxychloroquine for the treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Journal of general internal medicine**, v. 35, n. 11, p. 1-7, 2020.
- ESSER, N. *et al.* Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Diabetes research and clinical practice**, v. 105, n. 2, p. 141-150, 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. FOOD, U. S.; DRUG ADMINISTRATION. CORONAVIRUS (COVID-19) UPDATE: FDA **Revokes Emergency Use Authorization for Chloroquine and Hydroxychloroquine**. 2020.

GROUP RECOVERY, C. Colchicine in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 12, p.1419-1426, 2021.

GUAN, W. *et al.* Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708-1720, 2020.

GUO, Y. *et al.* The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. **Military Medical Research**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2020.

HAITAO, T. *et al.* COVID-19 and sex differences: mechanisms and biomarkers. In: **Mayo clinic proceedings**. Elsevier, n. 95, v. 10, p. 2189-2203, 2020.

HASTIE, S. B. Interactions of colchicine with tubulin. **Pharmacology & therapeutics**, v. 51, n. 3, p. 377-401, 1991.

HE, F.; DENG, Y.; LI, W. Coronavirus disease 2019: What we know?. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 7, p. 719-725, 2020.

HORBY, P. *et al.* Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 8, p. 693-704, 2021.

HU, B.; HUANG, S.; YIN, L. The cytokine storm and COVID-19. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 1, p. 250-256, 2021.

HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

JIN, J. *et al.* Gender differences in patients with COVID-19: focus on severity and mortality. **Frontiers in public health**, v. 8, p. 152, 2020.

JORGE, A. *et al.* Hydroxychloroquine retinopathy—implications of research advances for rheumatology care. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 14, n. 12, p. 693-703, 2018.

KAJIKAWA, M. *et al.* Effect of short-term colchicine treatment on endothelial function in patients with coronary artery disease. **International journal of cardiology**, v. 281, p. 35-39, 2019.

KANNE, J. P. *et al.* Essentials for Radiologists on COVID-19: An Update-Radiology Scientific Expert Panel. **Radiology**, v. 296, n. 2, p. 1-2, 2020.

LAZARUS, M. N. *et al.* Incidence of cancer in a cohort of patients with primary Sjogren's syndrome. **Rheumatology**, v. 45, n. 8, p. 1012-1015, 2006.

LECHIEN, J. R. *et al.* Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 277, n. 8, p. 2251-2261, 2020.

LIANG, T. Handbook of COVID-19 prevention and treatment. **The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine. Compiled According to Clinical Experience**, p. 1-68, 2020.

LIGHTER, J. *et al.* Obesity in patients younger than 60 years is a risk factor for Covid-19 hospital admission. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 896-897, 2020.

MAGAGNOLI, J. *et al.* Outcomes of hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with Covid-19. **Med**, v. 1, n. 1, p. 114-127. e3, 2020.

MANDEL, M. *et al.* Cytokine prediction of mortality in COVID19 patients. **Cytokine**, v. 134, p. 155190, 2020.

MAUTHE, M. *et al.* Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. **Autophagy**, v. 14, n. 8, p. 1435-1455, 2018.

MI, J. *et al.* Gender, age and comorbidities as the main prognostic factors in patients with COVID-19 pneumonia. **American Journal of Translational Research**, v. 12, n. 10, p. 6537, 2020.

MISAWA, T. *et al.* Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. **Nature immunology**, v. 14, n. 5, p. 454-460, 2013.

NICASTRI, E. *et al.* National institute for the infectious diseases “L. Spallanzani” IRCCS. Recommendations for COVID-19 clinical management. **Infectious disease reports**, v. 12, n. 1, p. 3-9, 2020.

NIEL, E.; SCHERRMANN, J. Colchicine today. **Joint Bone Spine**, v. 73, n. 6, p. 672-678, 2006.

NUKI, G.. Colchicine: its mechanism of action and efficacy in crystal-induced inflammation. **Current rheumatology reports**, v. 10, n. 3, p. 218-227, 2008.

ROBERGE, C. J. *et al.* Paradoxical effects of colchicine on the activation of human neutrophils by chemotactic factors and inflammatory microcrystals. **Journal of leukocyte biology**, v. 59, n. 6, p. 864-871, 1996.

ROCHA, V. Z.; LIBBY, P.. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. **Nature Reviews Cardiology**, v. 6, n. 6, p. 399-409, 2009.

RODRIGUES, T. S. *et al.* Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. **Journal of Experimental Medicine**, v. 218, n. 3, 2021.

- RODRIGUEZ-MORALES, A. J. *et al.* Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **Travel medicine and infectious disease**, v. 34, p. 101623, 2020.
- ROLAIN, J. M.; COLSON, P.; RAOULT, D. Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21st century. **International journal of antimicrobial agents**, v. 30, n. 4, p. 297-308, 2007.
- ROSTAMI, M.; MANSOURITORGHABEH, H. D-dimer level in COVID-19 infection: a systematic review. **Expert review of hematology**, v. 13, n. 11, p. 1265-1275, 2020.
- RUAN, Q. *et al.* Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. **Intensive care medicine**, v. 46, n. 5, p. 846-848, 2020.
- RUIZ-IRASTORZA, G. *et al.* Predictors of major infections in systemic lupus erythematosus. **Arthritis research & therapy**, v. 11, n. 4, p. 1-8, 2009.
- SCARSI, M. *et al.* Association between treatment with colchicine and improved survival in a single-centre cohort of adult hospitalised patients with COVID-19 pneumonia and acute respiratory distress syndrome. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 79, n. 10, p. 1286-1289, 2020.
- SCHLESINGER, N.; FIRESTEIN, B. L.; BRUNETTI, L. Colchicine in COVID-19: an old drug, new use. **Current pharmacology reports**, v. 6, n. 4, p. 137-145, 2020.
- SCHREZENMEIER, E.; DÖRNER, T.. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 16, n. 3, p. 155-166, 2020.
- SHI, H. *et al.* Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The Lancet infectious diseases**, v. 20, n. 4, p. 425-434, 2020.
- SLOBODNICK, A. *et al.* Colchicine: old and new. **The American journal of medicine**, v. 128, n. 5, p. 461-470, 2015.
- SLOBODNICK, A. *et al.* Update on colchicine, 2017. **Rheumatology**, v. 57, n. suppl_1, p. i4-i11, 2018.
- STEWART, S. *et al.* Adverse events during oral colchicine use: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **Arthritis research & therapy**, v. 22, n. 1, p. 1-15, 2020.
- SUMPTER, M. D. *et al.* Evidence for risk of cardiomyopathy with hydroxychloroquine. **Lupus**, v. 21, n. 14, p. 1594-1596, 2012.
- TARDIF, J. C. *et al.* Colchicine for community-treated patients with COVID-19 (COLCORONA): a phase 3, randomised, double-blinded, adaptive, placebo-controlled, multicentre trial. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 8, p. 924-932, 2021.

- TARDIF, J. C. *et al.* Efficacy and safety of low-dose colchicine after myocardial infarction. **New England journal of medicine**, v. 381, n. 26, p. 2497-2505, 2019.
- TERKELTAUB, R. A. *et al.* High versus low dosing of oral colchicine for early acute gout flare: twenty-four-hour outcome of the first multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, dose-comparison colchicine study. **Arthritis & Rheumatism**, v. 62, n. 4, p. 1060-1068, 2010.
- TETT, S. *et al.* Insights from pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of hydroxychloroquine. **Agents and actions. Supplements**, v. 44, p. 145-190, 1993.
- UNION INTERNATIONALE DES CHEMINS – UIC. **Coronavirus: UIC Works on providing its members and partners with concrete measures**. 2021.
- VAN DEN BORNE, B. E. *et al.* Chloroquine and hydroxychloroquine equally affect tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells. **The Journal of rheumatology**, v. 24, n. 1, p. 55-60, 1997.
- VERAS, F. P. *et al.* SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 12, p. e20201129, 2020.
- WANG, C. *et al.* Discontinuation of antimalarial drugs in systemic lupus erythematosus. **The Journal of rheumatology**, v. 26, n. 4, p. 808-815, 1999.
- WANG, W. *et al.* Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. **Jama**, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, 2020.
- WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **Jama**, v. 323, n. 13, p. 1239-1242, 2020.
- YANG, J.; HU, J.; ZHU, C. Obesity aggravates COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 1, p. 257-261, 2021.
- ZHOU, Yue *et al.* Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 37, n. 2, p. e3377, 2021.

ANEXO A – Ficha para coleta de dados

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA-FMRP-USP

Ensaio clínico randomizado para o tratamento de casos moderados a graves da doença causada pelo novo coronavírus-2019 (COVID19) com cloroquina e colchicina

(Responsáveis pelo preenchimento – Favor rubricar ou por iniciais a cada dia de preenchimento)

Ficha para coleta de dados

Nome: _____ Registro: _____ DN: __/__/____
 Idade: _____ Sexo: ☐ M ☐ F Raça: ☐Caucasiana ☐Negra ☐Mulata ☐Amarela
 Est. Civil: _____ Profissão: _____ Natural.: _____ ☐ Urb ☐ Rur
 Data dos primeiros sintomas: __/__/____ Tempo de Doença: _____
 Data da Avaliação: __/__/____ Data da 1ª coleta: __/__/____
 Tabagismo prévio ou atual: () Sim () Não

DATA DA INTERNAÇÃO __/__/____ DATA DO RECRUTAMENTO __/__/____

CRITÉRIOS PARA SARS-CoV-2

- ☐ Epidemiologia positiva (contato com caso ou permanência em área endêmica)
☐ Febre
☐ Sintomas respiratórios (tosse seca, dor em orofaringe, expectoração, respiração curta, dispneia)
☐ Alterações tomográficas
☐ RT-PCR viral

Definição de caso – epidemiologia positiva em indivíduo com febre e sintomas respiratórios e comprovação por exame de imagem ou detecção do RNA viral

OUTRAS MANIFESTAÇÕES DA DOENÇA PELO COVID-19

- ☐ fadiga ☐ artralgia ☐ mialgia ☐ cefaleia ☐ diarreia

CLASSIFICAÇÃO da SARS-CoV-2: ☐ Moderada ☐ Grave

DOENÇAS PRÉ-EXISTENTES/FATORES DE RISCO

- ☐ DPOC ☐ Asma ☐ HAS ☐ DM ☐ Insuf cardíaca ☐ Uso de imunossupressor
☐ Outras doenças respiratórias ☐ DAC ☐ Calvície ☐ Outras doenças _____

MEDICAÇÕES EM USO ATÉ A INTERNAÇÃO: _____

EXAME FÍSICO: **Peso:** _____

Admissão __/__/____	Admissão	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
Púrpura								
Livedo reticular								
Petéquias								
Conjuntivite								
Ausulta pulmonar								
Freq resp								
SatO ₂								
Ausulta cardíaca								
FC								

PA								
Abdome								
Escala de Glasgow								
Outros								
	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	
Púrpura								
Livedo reticular								
Petéquias								
Conjuntivite								
Ausculat pulmonar								
Freq resp								
SatO ₂								
Ausculat cardíaca								
FC								
PA								
Abdome								
Escala de Glasgow								
Outros								

TRATAMENTO DE SUPORTE: Admissão na UTI: ___/___/___ saída da UTI: ___/___/___

	Admissão	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
O ₂ nasal								
O ₂ másc c/ reserv								
Amina vasoativa								
Bloq neuromusc								
Ventilação invasiva (Data de início: ___/___/___)								
Modo								
PEEP								
Driving pressure								
PSuporte								
Freq								
FiO ₂								
Vol. Cor.								
	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	
O ₂ nasal								
O ₂ másc c/ reserv								
Amina vasoativa								
Bloq neuromusc								
Ventilação invasiva (Data de início: ___/___/___)								
Modo								
PEEP								
Driving pressure								
PSuporte								
Freq								
FiO ₂								
Vol. Cor.								

EXAMES LABORATORIAIS

	Admissão	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
Hb/Ht								
GB (N;L;M)								
Plq								
Ur/Cr								

Glic jejum								
AST/ALT								
DHL								
CPK								
Prot C-reativa								
Triglicérides								
Ferritina								
Fibrinogênio								
Bilirrubinas								
INR								
TTPa								
Dímeros-D								
C3								
C4								
	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	
Hb/Ht								
GB (N;L;M;)								
Plq								
Ur/Cr								
Glic jejum								
AST/ALT								
DHL								
CPK								
Prot C-reativa								
Triglicérides								
Ferritina								
Fibrinogênio								
Bilirrubinas								
INR								
TTPa								
Dímeros-D								
C3								
C4								

EVENTOS ADVERSOS:

	Dia1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
Diarreia							
Náuseas/vômitos							
Dor abdominal							
Alergia							
Cefaléia							
Alt. AST/ALT							
Alt. hemograma							
Alteração ECG							
Outros							
	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14
Diarreia							
Náuseas/vômitos							
Dor abdominal							
Alergia							
Cefaléia							
Alt. AST/ALT							

Alt. hemograma							
Alteração ECG							
Outros							

(Responsáveis pelo preenchimento – Favor rubricar ou por iniciais a cada dia de preenchimento)

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da pesquisa: “Ensaio clínico randomizado para o tratamento de casos moderados a graves da doença causada pelo novo coronavírus-2019 (COVID19) com cloroquina e colchicina”

Pesquisadores responsáveis: Dr. **Renê Donizeti Ribeiro de Oliveira**, Dep. de Clínica Médica, Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Telefone de contato: (RUAN *et al.*, 2020) 3602-2717 E Dr. **Rodrigo de Carvalho Santana**, Dep. de Clínica Médica, Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Telefone de contato: (RUAN *et al.*, 2020) 3602-2468

O(A) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte deste estudo, assine ao final deste documento em duas vias. Caso o(a) senhor(a) não aceite participar da pesquisa, não será penalizado(a) de forma alguma e seu atendimento não será prejudicado na Instituição.

O objetivo da pesquisa é avaliar se duas medicações, chamadas **cloroquina** e **colchicina**, funcionam para o tratamento de pessoas internadas por causa da doença causada pelo novo coronavírus (COVID-19).

Caso concorde em participar, o(a) senhor(a) receberá o tratamento padrão (de rotina) para o coronavírus (tratamento dos sintomas, suporte de oxigênio, cuidados de internação e/ou intensivos) e a medicação **cloroquina**. Além disso, o(a) senhor(a) poderá ou não receber a medicação **colchicina**. Esta definição será feita por um processo que chamamos de randomização. Isso significa que nós definiremos, de uma forma aleatória (ou seja, ao acaso), se você receberá a **cloroquina** e o placebo (comprimido sem qualquer medicação) ou se receberá a **cloroquina** mais a **colchicina**. Com isso, haverá 2 possibilidades:

- Grupo 1: receber o tratamento padrão + **cloroquina** + placebo
- Grupo 2: receber o tratamento padrão + **cloroquina** + **colchicina**

Além disso, teremos acesso às informações sobre seu estado de saúde todos os dias. Para isso, consultaremos as anotações feitas pela equipe médica que avalia o(a) senhor(a) todos os dias.

Também faremos a coleta de sangue para alguns exames específicos desta pesquisa. Com a sua permissão, colheremos cerca de 12 mL de sangue (equivalente a uma colher de sopa) agora, daqui a 3, daqui a 7 e daqui a 14 dias. Além do sangue, serão colhidas amostras da sua nasofaringe (cavidade que fica no fundo do nariz) através de swab (um cotonete especial) agora, daqui a 3, daqui a 7 e daqui a 14 dias para verificarmos se há a presença do coronavírus.

A coleta de sangue poderá causar algum desconforto, sangramento ou ferimento onde a agulha entrar no corpo. Um pequeno coágulo poderá se formar no local onde o sangue tenha sido

coletado, ou poderá haver inchaço na área. Se ocorrerem hematomas, estes são temporários. Funcionários experientes do local (técnicos de pesquisa, laboratório e enfermeiras) realizarão coletas de sangue para diminuir este risco. Durante a coleta das amostras da orofaringe com o swab (cotonete) você poderá sentir leve dor ou desconforto, mas isso não representa qualquer risco para você.

Esta pesquisa termina no momento em que o(a) senhor(a) tiver alta hospitalar, não sendo necessário comparecer nenhum dia a mais no hospital. Se aceitar participar desta pesquisa o(a) senhor(a) não receberá qualquer valor em dinheiro.

O uso das duas medicações pode acarretar alguns riscos para sua saúde, que chamamos de eventos adversos.

Os riscos associados com o uso da **cloroquina** são: perda da vontade de comer, dor no estômago, vontade de vomitar, vômitos, diarreia e dor na barriga. Muito raramente, essa medicação pode levar a alterações de exames do fígado e dos músculos, e a arritmia (batedeira) no coração, em especial se usada junto com outras medicações (digoxina, amiodarona, verapamil e metoprolol).

Os riscos associados com o uso da **colchicina** são: dor no estômago, vontade de vomitar, vômitos e diarreia.

As medicações serão dadas ao(à) senhor(a) em quantidade adequada ao seu peso. Isso diminui os riscos relatados acima. Se alguma das alterações descritas acima acontecer, o tratamento com as duas medicações será interrompido e esperamos recuperação completa após alguns dias. No caso de o(a) senhor(a) ter arritmia no coração, faremos medicação para tratar a arritmia. Caso o(a) senhor(a) venha a ter algum dano decorrente da participação na pesquisa, será garantida a você a assistência médica integral e gratuita, pelo tempo que for necessário.

As medicações usadas no estudo podem trazer ao(à) senhor(a) os seguintes benefícios: diminuir a inflamação nos pulmões, e com isso diminuir a falta de ar; diminuir o número de dias de internação; diminuir a necessidade de ajuda para respiração (máscara ou aparelho para respirar).

Sua participação nesta pesquisa é voluntária e o(a) senhor(a) tem a liberdade de deixar de participar a qualquer momento. Basta avisar algum dos pesquisadores. Caso não aceite participar o seu tratamento no Hospital será o mesmo. Todas as despesas tidas com a pesquisa serão de responsabilidade dos pesquisadores, isto é, o(a) senhor(a) e seu acompanhante não arcarão com nenhum custo referente a procedimentos e/ou exames do estudo.

Será mantido sigilo absoluto dos dados obtidos individualmente neste estudo, para assegurar a privacidade dos participantes. Caso o(a) senhor(a) se sinta prejudicado em participar desta pesquisa, o(a) senhor(a) poderá buscar indenização de acordo com as normas vigentes no

país.

Os pesquisadores estarão disponíveis para qualquer dúvida a qualquer momento durante o estudo e o(a) senhor(a) tem a garantia de acesso aos resultados da pesquisa. O pesquisador responsável dará acesso aos resultados de exames e do tratamento realizados durante a pesquisa à equipe médica que cuida do(a) senhor(a) ou diretamente ao(à) senhor(a) sempre que for solicitado.

Caso tenha dúvidas sobre aspectos éticos desta pesquisa, o(a) senhor(a) também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é composto por um grupo de pessoas que são responsáveis por supervisionar pesquisas em seres humanos que são realizadas na instituição e tem a função de proteger e garantir os direitos, a segurança e o bem-estar de todos os participantes de pesquisa que se voluntariam a participar da mesma. O CEP do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto é localizado no subsolo do hospital e funciona de segunda a sexta-feira, das 8:00 às 17:00hs, telefone de contato (016) 3602-2228.

Esta pesquisa está vinculada ao biorrepositório (Estudo SARS-CoV-2) criado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto ou na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP com o objetivo de guardar amostras de soro, plasma e secreção das vias aéreas para realização de outros exames que possam ser importantes durante a internação ou para realização de outras pesquisas no futuro sobre o coronavírus. Gostaríamos de convidá-lo(a) a autorizar a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico humano de sangue e secreção das vias aéreas para fins de pesquisa e análise científica.

Este material será coletado durante a coleta de sangue para os exames de rotina definidos pela equipe médica que avalia o(a) senhor(a) diariamente, ou seja, não haverá necessidade de tomar picadas de agulha a mais. A coleta de sangue será feita a partir de uma veia do seu braço. A coleta da secreção da via aérea será através do swab (cotonete) colocado no fundo da sua boca. Os dois materiais, sangue e secreção da boca, serão coletados no momento da internação, depois de 3 dias, depois de 7 dias e depois de 14 dias. O propósito dessas coletas é termos armazenados esses materiais para podermos realizar exames e termos uma ideia da evolução da sua doença. Após coletados e processados, esses materiais serão guardados em biorrepositório no Laboratório de Imunologia Clínica, que fica neste endereço: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, 2º andar, Bloco G, Subsolo 2, Campus Universitário - Monte Alegre Ribeirão Preto – SP/CEP: 14048-900. Telefone: (16) 3602-2154. O horário de funcionamento do Laboratório é de segunda a sexta-feira, das 07:00 às 16:00h. As amostras serão armazenadas por cinco anos. Os pesquisadores responsáveis pela equipe se comprometem a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso as suas

amostras de sangue (soro, plasma) e de secreção da via aérea serão identificadas por meio de códigos com números e letras.

Quanto ao material, serão coletados 12 mL de sangue (a mesma quantidade de uma colher de sopa). Como relatado acima, em decorrência da coleta, poderá haver algum desconforto, sangramento ou ferimento onde a agulha entrar no corpo. Um pequeno coágulo poderá se formar no local de onde o sangue tenha sido coletado, ou poderá haver inchaço na área. Se ocorrerem hematomas, estes são temporários. Uma pomada cicatrizante será aplicada ao local se isso ocorrer. Durante a coleta das amostras da orofaringe com o swab (cotonete) você poderá sentir leve dor ou desconforto, mas isso não representa qualquer risco para você.

Sua participação é voluntária, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. O(A) senhor(a) também tem o direito de retirar seu consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado a qualquer momento.

Solicitamos também os dados de contato do(a) senhor(a), para que seja possível encontrá-lo(a) posteriormente. Através dos contatos, garantimos fornecer as informações de seu interesse, além de receber eventuais benefícios provenientes do estudo com seu material biológico. Também solicitaremos sua autorização, se necessário, para o descarte do material armazenado, caso o interesse pela pesquisa nessa área tenha se esgotado ou tenhamos feito todas as pesquisas em tempo menor que cinco anos.

Declaramos para os devidos fins que a cada a nova pesquisa o(a) senhor(a) será contatado(a) para a utilização do seu material biológico armazenado neste biorrepositório, e também a nova pesquisa será submetida à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Solicitamos seus dados de contato e sua assinatura, tendo recebido as informações acima, para confirmação de aceitação de participação. Também afirmamos que uma via deste documento, devidamente assinada e rubricada, será entregue ao(à) senhor(a).

Dados do participante:

Nome: _____ RG: _____,

Endereço: _____, nº _____, Bairro
_____, cidade _____, telefone _____

Abaixo também seguem os dados de contato do pesquisador responsável, caso o(a) senhor(a) tenha alguma dúvida posteriormente.

Nome do participante: _____

Assinatura: _____ data: _____

Nome do pesquisador: _____

Assinatura: _____ data: _____

Dados do responsável legal ou testemunha (caso aplicável):

Nome legível: _____

Assinatura: _____ data: _____

