



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA

ARTUR FONTENELLE LIMA MONTENEGRO

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E SOCIODEMOGRÁFICA DE PACIENTES COM
COVID-19 E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NO GENE
IFNAR2 NA GRAVIDADE E NO DESFECHO CLÍNICO DA DOENÇA**

FORTALEZA

2023

ARTUR FONTENELLE LIMA MONTENEGRO

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E SOCIODEMOGRÁFICA DE PACIENTES COM
COVID-19 E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NO GENE
IFNAR2 NA GRAVIDADE E NO DESFECHO CLÍNICO DA DOENÇA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Médica e Animal.

Orientador: Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yachite.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M783c Montenegro, Artur Fontenelle Lima.

Caracterização clínica e sociodemográfica de pacientes com COVID-19 e avaliação da influência de polimorfismos no gene IFNAR2 na gravidade e no desfecho clínico da doença / Artur Fontenelle Lima Montenegro. – 2023.

87 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yachite.

1. COVID-19. 2. Interferon Tipo I. 3. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. I. Título.

CDD 616.9

ARTUR FONTENELLE LIMA MONTENEGRO

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E SOCIODEMOGRÁFICA DE PACIENTES COM
COVID-19 E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NO GENE
IFNAR2 NA GRAVIDADE E NO DESFECHO CLÍNICO DA DOENÇA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Médica e Animal.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dra. Juliana Navarro Ueda Yaochite (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.ª Dra. Cynthia Chester Cardoso
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Prof. Dr. Marco Antonio de Freitas Clementino
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.ª Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes
Centro Universitário Christus (UNICRHISTUS)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À empresa JBS, pelo financiamento da pesquisa.

À Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yaochite por me acolher no Laboratório de Imunologia Celular e Molecular quando eu não tinha quem me orientasse e pelo excelente trabalho como orientadora.

A todos que ajudaram na realização deste trabalho, como a Dra. Polianna Albuquerque e a Dra. Sandra Mara Brasileiro, as quais nos deram acesso às amostras hospitalares e às informações clínicas dos pacientes, o Dr. Fábio Miyajima e a Dra. Veridiana Pessoa Miyajima, os quais forneceram equipamentos e acolhimento para realização de extração automatizada, o Dr. Raphael de Oliveira Rodrigues, que esteve sempre presente no auxílio na validação, na realização e na interpretação de resultados dos testes de genotipagem e principalmente na análise estatística, o Dr. Tiago Lima Sampaio, que disponibilizou o uso de amostras de pacientes de COVID-19 leve/moderado coletadas no mesmo período e seu aluno Mac Dionys Rodrigues da Costa que nos ajudou disponibilizando as informações sobre as amostras, transporte ao laboratório e afins. Meus agradecimentos também aos profissionais Ms. Matheus de Souza Santos, Dr. Carlos Leonardo de Aragão Araújo, Joaquim Cesar do Nascimento Sousa Júnior, Arlene Almeida Lima que se disponibilizaram e auxiliaram no processo de extração de DNA das amostras de sangue total dos pacientes pelo tempo concedido nas entrevistas. Também agradeço aos trabalhadores da FIOCRUZ pelo acolhimento e auxílio em alguns testes de genotipagem, destacando a Bruna, a qual esteve presente de maneira mais próxima na realização desses testes. Da mesma forma, agradeço aos trabalhadores do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) que se disponibilizaram para auxílio do recrutamento de novas amostras para inclusão no estudo, assim como aos participantes do Laboratório de Bioquímica da Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins que ajudaram na organização e na procura das amostras guardadas.

Aos colegas de laboratório: Ms. Mariella Sousa Coelho Maciel, Ms. Wilker José Perez Gotay e Andressa Almeida Albuquerque, pela introdução ao método e explicação dos protocolos de extração manual e de genotipagem; Caroline Nobre Oliveira, que entrou simultaneamente comigo no programa e dividiu comigo a experiência das disciplinas de diversas disciplinas disponibilizadas pelo programa, além dos momentos de discussão de experimentos e conteúdos sobre COVID-19; e Otávio Brito Domingues, o qual se fez disponível

e presente no auxílio para realização dos testes de genotipagem e organização de amostras. Agradeço também aos alunos de iniciação científica, Alan Gleison Moreira dos Santos, Catharina Diniz de Brito Martins, Bianca Ferreira Moura Girão e Lucas Kayque Carvalho Furtado, que se disponibilizaram a ajudar em coletas para aumentar o número de amostras do estudo e a acompanhar os testes realizados em laboratório.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação de Microbiologia Médica que adicionaram conhecimento e forneceram uma nova visão sobre assuntos já conhecidos, assim como a todos os colegas de pós-graduação com quem dividi sala, seja virtual ou presencialmente, para conclusão dessas disciplinas.

Agradeço especialmente aos meus amigos do curso de graduação em Biomedicina na Unichristus: Ms. Beatriz Maria Dias Nogueira e Marcus Lins Queiroga, por me ajudarem na revisão do projeto montado para aprovação, ingresso no mestrado e na finalização de alguns experimentos, e principalmente ao Ms. Thiago Mesquita Cândido, por me sugerir a entrada no programa, acreditar na minha capacidade de realizar pesquisa, além de dividir algumas experiências como aluno do mesmo programa. Meus agradecimentos também à Dra. Caroline Aquino Moreira-Nunes, coordenadora do curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular aplicados a Saúde fornecido pela Unichristus, por discutir e esclarecer alguns conceitos e técnicas de biologia molecular que facilitaram o meu entendimento para aplicação na pesquisa.

Aos meus familiares e amigos de infância que estiveram presentes durante a realização desse mestrado, fornecendo apoio e disponibilidade para um momento de descontração ou para conversar em momentos de estresse e de sofrimento. Dentre esses, agradeço especialmente ao meu irmão mais velho, Ms. Yuri Fontenelle Lima Montenegro, por me ajudar na preparação de trabalhos, devido a sua experiência no meio acadêmico.

RESUMO

A doença do coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença infecciosa causada pelo SARS-CoV-2, contabilizando mais de 750 milhões de casos confirmados e mais de 6 milhões de mortes mundialmente, desde seu aparecimento. Os interferons do tipo I (IFN-I) são moléculas produzidas por células infectadas por vírus e tem como função alertar às células vizinhas sobre a presença do patógeno para ativação de resposta antiviral. Portanto, a via do IFN-I possui grande importância na resposta antiviral e alterações nessa via podem estar relacionadas ao agravamento de doenças virais. Com o avanço das técnicas de biologia molecular, começou-se a investigar a importância da variabilidade genética para o desenvolvimento de doenças infecciosas. Os genes que podem apresentar relação a uma doença são inferidos pela identificação de variações na sua sequência entre uma população. Essas variações são denominadas de polimorfismos genéticos, geralmente ocorrendo diferença de um único nucleotídeo, conhecidos como polimorfismos de nucleotídeo único (SNP). Portanto, esse estudo teve como finalidade analisar diferentes características sociodemográficas, clínicas e genéticas de pacientes com COVID-19 da cidade de Fortaleza/CE. Para isso, foram coletadas amostras de sangue total desses pacientes, entre o período de janeiro a maio do ano de 2021, resultando em 122 amostras. Os pacientes foram separados segundo gravidade (40 pacientes leve/moderado e 82 graves) e entre os pacientes graves, segundo desfecho (49 altas e 33 óbitos). Foram considerados como graves os pacientes internados em UTI que apresentaram dessaturação ou desenvolvimento de Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo. As informações como sexo e idade estiveram disponíveis para todos os pacientes, portanto foram analisadas segundo gravidade e segundo desfecho, enquanto a presença de comorbidades e os sintomas só foram disponíveis para os pacientes em UTI, sendo elas analisadas apenas segundo desfecho. As amostras foram submetidas a processo de extração de DNA, quantificação e normalização e por fim genotipagem dos polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650 e rs2284551, no gene *IFNAR2*. Foi realizada a distribuição de frequência relativa das características seguido por aplicação do teste exato de Fisher para investigar relevância entre as diferenças entre os grupos ou teste chi-quadrado de Pearson. Ambas as categorias de idade e de sexo apresentaram diferenças significantes relativas a gravidade da doença, enquanto nenhuma das características sociodemográficas e clínicas apresentaram diferenças significantes, apesar da diferença de proporção relativa. Apesar de algumas aparentes diferenças nas porcentagens de distribuição dos genótipos entre os grupos, nenhuma das variantes apresentou valor

significativo no teste chi-quadrado. Portanto, esses dados indicam maior risco de gravidade para indivíduos do sexo masculino e com idade maior ou igual a 60 anos, mas não indicam maior risco de óbito para nenhuma característica ou genótipo dos polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650, rs2284551.

Palavras-chave: COVID-19. Interferon Tipo I. Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an infectious disease caused by SARS-CoV-2. Over 750 million cases and over 6 million deaths caused by this disease worldwide have been reported. Type I interferons (IFN-I) are molecules produced by virus-infected cells to alert neighboring cells of a virus infection. The IFN-I pathway plays a crucial role in the antiviral immune response and modifications in this pathway may affect disease severity. The advance in molecular biology techniques allows further investigation about the importance of host genetic variability for infectious diseases. The identification of sequence variation among populations can infer the association between genes and diseases. These genetic variations are denominated as genetic polymorphisms, which generally are the result of changes in a single nucleotide, known as single nucleotide polymorphisms (SNP). This study aims to analyze sociodemographic, clinical and genetic characteristics among COVID-19 patients. These patients were divided into groups according to disease severity (40 mild/moderate and 82 severe patients) and according to clinical outcome (49 survivors and 33 non-survivors). Whole blood samples were collected from these patients for laboratory tests between January and May 2021, resulting in 122 samples. ICU patients with desaturation or Acute Respiratory Distress Syndrome were considered severely ill. Information such as sex and age from the patients were available for all patients, therefore were submitted for data analysis, according to disease severity and clinical outcome. On the other hand, the comorbidities and symptoms were available only for severe patients, only being analyzed according to clinical outcome. To perform the genotyping assays the samples went through DNA extraction, purified DNA quantification and normalization of DNA concentration. The polymorphisms in the *IFNAR2* gene, identified as rs2250226, rs2236757, rs2252650 and rs2284551, were genotyped. The relative frequency distribution of the sociodemographic, clinical or genetic characteristics was verified and then Fisher's exact test was applied to seek for significant difference between groups. When Fisher's exact test could not be performed, Pearson's chi-squared was used instead. Statistical analysis showed that patient sex and age were significantly different between disease severity groups. On the other hand, none of the sociodemographic, clinical or genetic characteristics showed significant difference between clinical outcome groups, although some of their relative frequency distribution were different. There were no significant genotype difference between severity or clinical outcome groups for the variants studied. Therefore, these data indicate a higher disease severity risk for male patients and patients with age greater than

or equal to 60, but no higher death risk was associated with the characteristics analyzed or genotypes of the rs2250226, rs2236757, rs2252650 and rs2284551 polymorphisms.

Keywords: COVID-19. Type I interferon. Single Nucleotide Polymorphisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Proteínas estruturais do SARS-CoV-2 e suas funções.....	20
Figura 2 –	Subunidades contidas na proteína <i>spike</i> , assim como sua organização de domínios.....	21
Figura 3 –	Mecanismos de entrada celular do SARS-CoV-2.....	22
Figura 4 –	Número de casos informados de COVID-19 por semana epidemiológica.....	29
Figura 5 –	Número de óbitos por COVID-19 informados por semana epidemiológica...	30
Figura 6 –	Número de casos de COVID-19 registrados no Ceará entre 2020 e 2023.....	31
Figura 7 –	Número de óbitos por COVID-19 registrados no Ceará entre 2020 e 2023...	32
Figura 8 –	Ativação da via do IFN-I pela infecção por SARS-CoV-2.....	35
Figura 9 –	Polimorfismos dentro de uma sequência genética.....	38
Figura 10 –	Diferença entre uma associação alélica em equilíbrio e em desequilíbrio.....	39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Frequência de pacientes por sexo, segundo gravidade.....	55
Gráfico 2 –	Frequência das faixas etárias dos pacientes, segundo gravidade.....	55
Gráfico 3 –	Frequência de pacientes por sexo, segundo desfecho.....	57
Gráfico 4 –	Frequência das faixas etárias dos pacientes, segundo desfecho.....	57
Gráfico 5 –	Frequência de pacientes entre comorbidades.....	58
Gráfico 6 –	Frequência de comorbidades dos pacientes do grupo A.....	59
Gráfico 7 –	Frequência de comorbidades dos pacientes do grupo O.....	59
Gráfico 8 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2250226 em todos os pacientes.....	62
Gráfico 9 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2250226, segundo desfecho.....	62
Gráfico 10 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2236757 em todos os pacientes.....	63
Gráfico 11 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2236757, segundo desfecho.....	63
Gráfico 12 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2252650 em todos os pacientes.....	64
Gráfico 13 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2252650, segundo desfecho.....	64
Gráfico 14 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2284551 em todos os pacientes.....	65
Gráfico 15 –	Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2284551, segundo desfecho.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Espectros clínicos da COVID-19, segundo as diretrizes do NIH.....	26
Tabela 2 –	Estados brasileiros com maior número de casos e de óbitos totais até março de 2023.....	30
Tabela 3 –	Variantes estudadas nos genes sem relação com a via do IFN-I para o melhor entendimento sobre o impacto da genética do hospedeiro na COVID-19.....	43
Tabela 4 –	Descrição das proteínas codificadas pelos genes descritos anteriormente, assim como sua função e sua ligação com a COVID-19.....	44
Tabela 5 –	Variantes estudadas nos genes da via do IFN-I no contexto da COVID-19.....	47
Tabela 6 –	Descrição das proteínas codificadas pelos genes da via do IFN-I, assim como sua função e sua ligação com a COVID-19.....	48
Tabela 7 –	Proporção de reagentes para realização da qPCR.....	52
Tabela 8 –	Frequência de características sociodemográficas, segundo gravidade.....	56
Tabela 9 –	Frequência de características sociodemográficas e clínicas, segundo desfecho.....	60
Tabela 10 –	Frequência de pacientes por sintomas, segundo desfecho.....	61
Tabela 11 –	Variáveis determinantes do desequilíbrio de ligação.....	66
Tabela 12 –	Frequência genotípica e modelos codominante, dominante e recessivo dos polimorfismos, segundo gravidade.....	67
Tabela 13 –	Frequência genotípica e modelos codominante, dominante e recessivo dos polimorfismos, segundo desfecho.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ARDS	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
B0AT1	Transportador de aminoácidos dependente de sódio
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CCR5	Receptor de quimiocinas C-C tipo 5
CEP/UFC/PROPESQ	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará
CIAGES	Centro de Informações Estratégicas para a Gestão Estadual do SUS
CONASS	Conselho Nacional de Secretários de Saúde
COVID-19	Doença do coronavírus 2019
DAMPs	Padrões moleculares associados a danos
DM	Diabetes mellitus
EBV	Vírus Epstein-Barr
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
ECD	Domínio extracelular
eQTL	<i>loci</i> de traço quantitativo de expressão
FP	Peptídeo de fusão
GWAS	Estudos de associação ampla do genoma
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HCV	vírus da hepatite C
HGI	COVID-19 <i>Host Genetics Initiative</i>
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
HR	Repetições heptadas
ICD	Domínio intracelular
IFIH1	Interferon induzido com o Domínio C da Helicase 1
IFN	Interferon
IFNAR	Receptor de interferon do tipo I
IFNAR1	Subunidade 1 do receptor de interferon do tipo I
IFNAR2	Subunidade 2 do receptor de interferon do tipo I
IFN-I	Interferon do tipo I
IJF	Instituto José Fronta
IL-10	Interleucina 10

IRF	Fatores de Regulação de Interferon
ISGs	Genes estimulados por interferon
JAK	Proteínas da família Janus kinase
LD	Desequilíbrio de Ligação
LIMCEMO	Laboratório de Imunologia Celular e Molecular
MasterMix	<i>TaqPath™ ProAmp™ Master Mix</i>
MDA5	Proteína 5 associada à diferenciação de melanoma
MERS	Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
NF-κB	Fator Nuclear <i>kappa</i> -B
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NK	Células <i>Natural Killers</i>
NLR	Receptores <i>NOD-like</i>
NRP1	Neuropilina 1
nsp	Proteínas não estruturais
NTD	Domínio N-terminal
ORF1a/b	Origem de leitura 1a/b
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PaO ₂ /FiO ₂	Relação entre a pressão arterial de oxigênio e a fração inspirada de oxigênio
Proteína E	Proteína do envelope
Proteína M	Proteína de membrana
Proteína N	Proteína do nucleocapsídeo
Proteína S	Proteína <i>spike</i>
PRR	Receptores de Reconhecimento de Padrões
qPCR	PCR em tempo real
QTL	<i>loci</i> de traço quantitativo
RBD	Domínio de ligação ao receptor
RLR	Receptores <i>RIG-I-like</i>
RNA _m	RNA mensageiro
S0	Proteína <i>spike</i> imatura
S1	Subunidade 1 da proteína <i>spike</i>
S2	Subunidade 2 da proteína <i>spike</i>

SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-related CoVs	Coronavírus relacionados à SARS
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único
SpO2	Saturação de oxigênio
sQTL	<i>loci</i> de traço quantitativo de <i>splicing</i>
STAT	Proteínas da família de transdutores de sinal e ativadores da transcrição
TLR	Receptores Toll- <i>like</i>
TMPRSS2	Enzima Serinoprotease Transmembrana II humana
UFC	Universidade Federal do Ceará
UTI-COVID	UTI para isolamento de pacientes acometidos por COVID-19

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
™	Marca Comercial
μL	Microlitros
ng	Nanogramas
nm	Nanômetros
α	Alfa
β	Beta
κ	Kappa
ω	Omega
ε	Epsilon
λ	Gamma
°C	Graus Celsius
s	Segundos
~	Aproximadamente
kb	Quilobases
<	Menor que
>	Maior que
≥	Maior ou igual
Δ	Delta
*	Asterísco
D	Coefficiente de desequilíbrio de ligação
D'	Valor normalizado de D
r ²	Quadrado do coeficiente de correlação entre duas variáveis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	A RELAÇÃO ENTRE COVID-19 E A VIA DO INTERFERO DO TIPO I – REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	SARS-CoV-2	19
2.1.1	<i>A proteína spike (S)</i>	20
2.2	Ciclo de replicação viral	21
2.3	Espectros clínicos da COVID-19	24
2.4	Epidemiologia	27
2.4.1	<i>Contexto histórico</i>	27
2.4.2	<i>COVID-19 no Brasil</i>	28
2.4.3	<i>COVID-19 no Ceará</i>	31
2.5	Resposta imune inata ao vírus	32
2.5.1	<i>Características gerais dos IFN-I</i>	33
2.5.2	<i>Receptor de IFN-I (IFNAR)</i>	34
2.5.3	<i>Mecanismos de escape do vírus</i>	35
2.6	Genética do hospedeiro	37
2.6.1	<i>Genética das populações e Polimorfismos genéticos</i>	37
2.6.2	<i>Traços quantitativos moleculares</i>	40
2.6.3	<i>COVID-19 e a genética do hospedeiro</i>	41
2.6.3.1	<i>Genes relacionados com desenvolvimento da COVID-19</i>	41
2.6.3.2	<i>Genes da via do IFN-I relacionados a COVID-19</i>	45
3	HIPÓTESES	49
4	OBJETIVO GERAL/ OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
5	METODOLOGIA	49
5.1	Desenho do estudo	49
5.2	Aspectos éticos	49
5.3	Coleta de amostras	50
5.4	Análise de prontuários médicos	50
5.5	Extração de DNA	50
5.6	Quantificação de DNA	51
5.7	Normalização da concentração de DNA extraído	51
5.8	Genotipagem	52

5.9	Análise estatística.....	53
5.9.1	<i>Estatística descritiva</i>	54
5.9.2	<i>Estatística inferencial</i>	54
6	RESULTADOS	54
6.1	Análise dos dados sociodemográficos e clínicos	54
6.1.1	<i>Gravidade</i>	54
6.1.2	<i>Desfecho clínico</i>	56
6.2	Genotipagem	62
6.2.1	<i>Variante rs2250226</i>	62
6.2.2	<i>Variante rs2236757</i>	63
6.2.3	<i>Variante rs2252650</i>	64
6.2.4	<i>Variante rs2284551</i>	65
6.2.5	<i>Estatística inferencial das variantes</i>	66
7	DISCUSSÃO	69
8	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	76
	ANEXO A – ARTIGO CIENTÍFICO	82
	ANEXO B - PARECER COMITÊ DE ÉTICA (4.346.280)	83
	ANEXO C - PARECER COMITÊ DE ÉTICA (4.505.911)	87

1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019 ocorreu o primeiro caso de uma infecção causada por um novo coronavírus em Wuhan, na China. Desde então, a Organização Mundial de Saúde declarou, em março de 2020, o estado de pandemia pela doença do coronavírus de 2019 (COVID-19) (AZKUR *et al.*, 2020; DHAMA *et al.*, 2020). Até então, já foram notificados mais de 750 milhões de casos, tendo resultado em mais de 6 milhões de mortes por essa doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023). O agente etiológico dessa doença é considerado um novo coronavírus devido a sua diferença genômica, encontrada em dados sequenciais iniciais, em relação aos outros coronavírus já sequenciados. Dessa forma, denominou-se como coronavirus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), por pertencer a mesma linhagem de coronavírus causadores da síndrome respiratória aguda grave (SARS), como o SARS-CoV (DHAMA *et al.*, 2020). Segundo o *National Institutes of Health - NIH* (2021), a infecção pelo SARS-CoV-2 pode apresentar alta variação nas suas manifestações clínicas, sendo os casos divididos em: assintomáticos; leves; moderados; graves; e críticos.

As partículas virais, ao serem inaladas pelo hospedeiro, percorrem pelo trato respiratório, onde estão presentes as células do epitélio nasal e as células epiteliais brônquicas, as quais apresentam grande expressão da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), a qual age como receptor para o vírus (DHAMA *et al.*, 2020; HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON *et al.*, 2022). A proteína *spike* (S) do SARS-CoV-2 interage com a ECA2 e pode introduzir seu genoma na célula através de dois possíveis mecanismos: entrada pela superfície celular ou entrada mediada por endocitose (HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021; V'KOVSKI *et al.*, 2021).

Ao se encontrar no organismo hospedeiro, o vírus é reconhecido a partir de receptores de reconhecimento de padrões (PRR), os quais podem estar presentes tanto na superfície da membrana quanto de maneira intracelular, possibilitando a detecção antes ou depois da entrada do vírus na célula. Quando esses vírus são reconhecidos pelos PRRs, ocorre a ativação de fatores de regulação de interferon (IRF) e de fator nuclear *kappa*-B (NF- κ B), os quais induzem a produção de diferentes tipos de interferons (IFN) (MATSUYAMA *et al.*, 2020; SHAH *et al.*, 2020). Os interferons do tipo I (IFN-I) são moléculas produzidas por células infectadas pelo vírus e tem como função alertar às células vizinhas sobre a presença do vírus para ativação de resposta antiviral. Esse sinal de alerta só ocorre pela presença de receptores de IFN-I (IFNAR) funcionais na superfície de todas as células. Além disso, em infecção pelo vírus influenza, IFN-I conseguem limitar a lesão decorrente de inflamação no tecido pulmonar através da indução

de interleucina 10 (IL-10) e conseguem regular a expressão de ECA2, em células epiteliais das vias aéreas e em células endoteliais (MATSUYAMA *et al.*, 2020; SOLIMANI; MEIER; GHORESCHI, 2021).

Diversas outras doenças infecciosas, como a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), já foram associadas a uma maior susceptibilidade ou resistência por conta da presença de variantes gênicas no hospedeiro, muitas vezes resultantes de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), cujo resultado pode ser a perda ou não da função proteica através da alteração de um único par de bases (ELHABYAN *et al.*, 2020; MURRAY *et al.*, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZAZ, 2020). Tendo em vista que a COVID-19 pode se manifestar nos pacientes de diferentes formas, questiona-se a importância das variações genéticas do hospedeiro no desenvolvimento e progressão da doença. Portanto, variantes presentes em genes participantes de vias importantes no ciclo viral ou na resposta imune do hospedeiro contra o vírus podem interferir na instalação e na manifestação da doença (BECK; AKSENTIJEVICH, 2020; ELHABYAN *et al.*, 2020; MURRAY *et al.*, 2020; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZAZ, 2020).

A variabilidade genética na população pode ser estudada a partir de estudos de associação ampla do genoma (GWAS), os quais podem ajudar na compreensão da patofisiologia do SARS-CoV-2, assim como na compreensão de susceptibilidade genética a infecções, a partir da identificação de *locus* gênicos e de polimorfismos alélicos determinantes dessas características (DEHGHAN, 2018; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). Além disso, Beck e Aksentijevich (2020) observaram em estudos denominados de baixa escala pelos autores que a via do IFN-I pode ser considerada protetora contra o SARS-CoV-2, incluindo genes relacionados ao funcionamento dessa via como potencialmente promissores na determinação de marcadores genéticos de proteção contra o vírus. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo analisar as características sociodemográficas, clínicas, como os sintomas e as comorbidades, e genéticas apresentadas por pacientes diagnosticados com COVID-19, sendo esses divididos de acordo com a gravidade da doença (leve/moderado e grave) e de acordo com o desfecho clínico dos pacientes internados em UTI (alta e óbito), focando na pesquisa e na influência dos polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650, rs2284551 no gene *IFNAR2*.

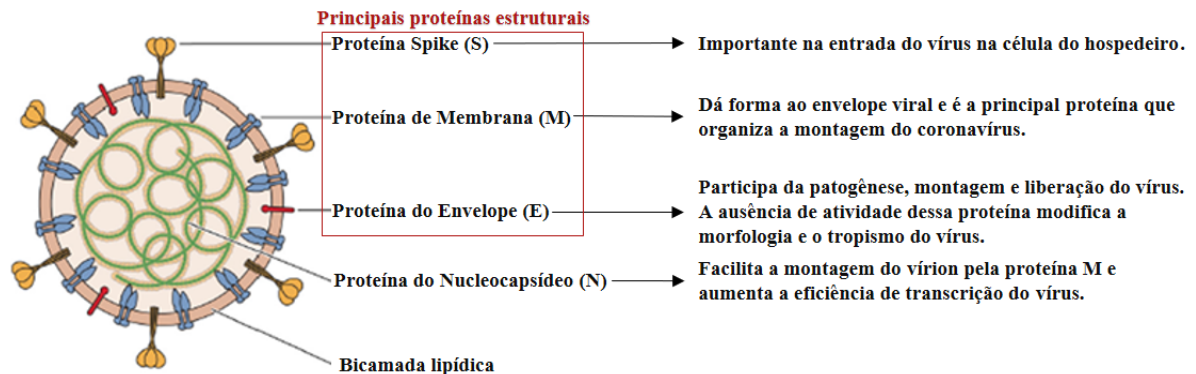
2 A RELAÇÃO ENTRE COVID-19 E A VIA DO INTERFERON DO TIPO I – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2, pertencente à ordem *Nidovirales* e à família *Coronaviridae*, faz parte da subfamília *Orthocoronavirinae*, a qual se ramifica em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. As espécies que causam doença no ser humano se encontram nos gêneros *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus*, os quais se originaram de morcegos (DHAMA *et al.*, 2020; SHAH *et al.*, 2020). O SARS-CoV-2 possui um genoma de RNA de fita simples, de sentido positivo e não-segmentado, apresentando por volta de 30 kb (DHAMA *et al.*, 2020; KAUR; GUPTA, 2020; SHAH *et al.*, 2020). Esse vírus é classificado como um *Betacoronavirus* devido a sua classificação molecular, porém foi observada uma conservação menor que 90% na origem de leitura 1a/b (ORF1a/b) em relação a outros vírus desse gênero, considerando-o um novo coronavírus. Análises filogenéticas demonstraram uma proximidade desse vírus aos coronavírus relacionados à SARS (SARS-related CoVs), apesar de apresentar uma maior similaridade aos SARS-related CoVs de morcegos que ao SARS-CoV, que infecta humanos (DHAMA *et al.*, 2020; SHAH *et al.*, 2020).

O genoma do SARS-CoV-2 é capaz de produzir proteínas estruturais e não estruturais, sendo menos de um terço do genoma responsável pela produção das proteínas estruturais. Essas são, portanto, denominadas: proteína de membrana (M); proteína do nucleocapsídeo (N); proteína do envelope (E); e proteína *spike* (S) (DHAMA *et al.*, 2020; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; KAUR; GUPTA, 2020; SARIOL; PERLMAN, 2020; SHAH *et al.*, 2020). A proteína M é mais abundante na partícula viral e dá forma ao envelope viral, agindo como organizador central para a montagem do vírus (DHAMA *et al.*, 2020; KAUR; GUPTA, 2020). A proteína N apresenta diversas funções, como: participação na formação do complexo com o genoma viral; facilita a interação da proteína M para montagem do vírion; e aumenta a eficiência transcricional do vírus (DHAMA *et al.*, 2020; KAUR; GUPTA, 2020). A proteína E tem relação com a patogênese, a montagem e a liberação do vírus, sendo sua ausência ou inativação relacionada a mudanças na morfologia viral e no tropismo celular, resultando em alteração de virulência (DHAMA *et al.*, 2020; KAUR; GUPTA, 2020). Já a proteína S, categorizada como proteína transmembrana, é responsável pela entrada das partículas virais nas células do hospedeiro, assim como pela sua característica visual de coroa (DHAMA *et al.*, 2020; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; KAUR; GUPTA, 2020; SHAH *et al.*, 2020). As proteínas estruturais e suas funções estão ilustradas na Figura 1.

Figura 1 – Proteínas estruturais do SARS-CoV-2 e suas funções.



Fonte: DHAMA (2020, p. 7) – modificado.

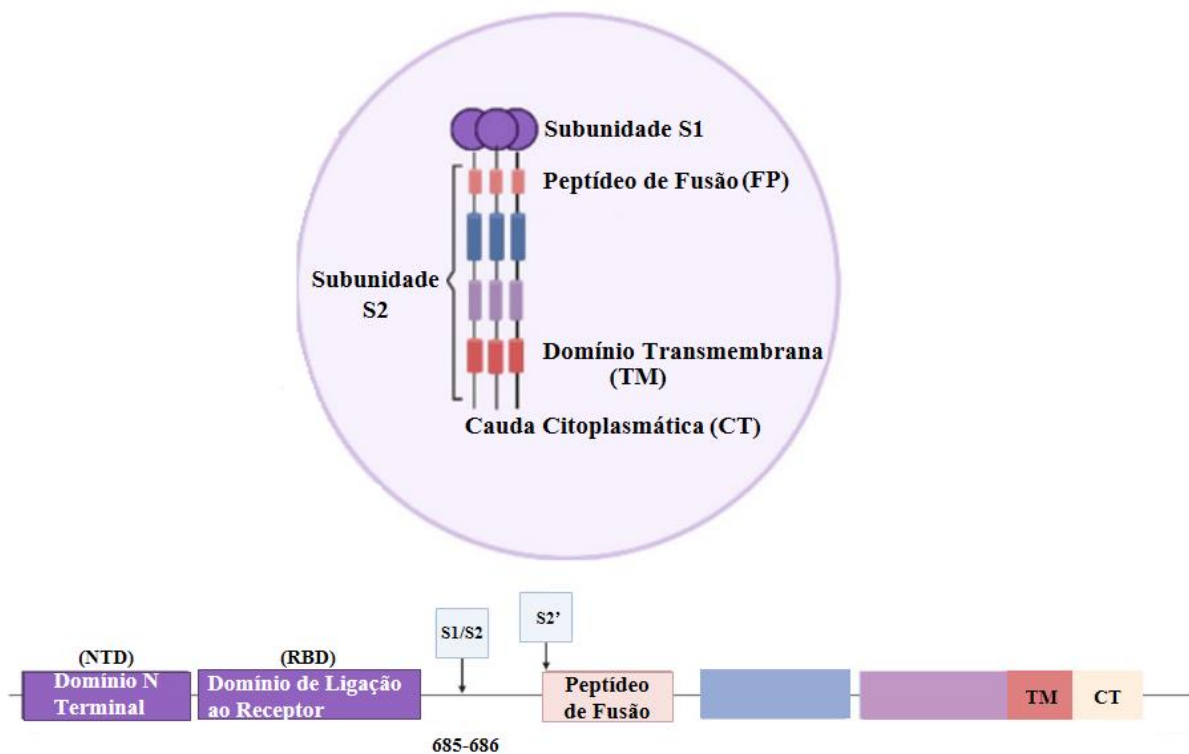
2.1.1 A proteína spike (S)

Muito estudada devido ao seu grande potencial imunogênico, como alvo para desenvolvimento das vacinas contra o vírus, e devido a sua grande importância no ciclo viral, a proteína S é uma glicoproteína pertencente à classe I de proteínas de fusão viral, compartilhando semelhanças estruturais e conformacionais à hemaglutinina, presente no vírus influenza (ALMEHDI *et al.*, 2021; BALKHI, 2021; DHAMA *et al.*, 2020; JACKSON *et al.*, 2022; KAUR; GUPTA, 2020; PENG *et al.*, 2021; SHAH *et al.*, 2020). Essa proteína está presente como um homotrímero, sendo constituída de três porções idênticas, o qual apresenta por volta de 1273 a 1300 aminoácidos (ALMEHDI *et al.*, 2021; JACKSON *et al.*, 2022).

Para que essa glicoproteína seja funcional, são necessários dois processos de clivagem, portanto, quando o vírus é montado na célula do hospedeiro, essa proteína é encontrada em seu estado imaturo (S₀), necessitando passar por um processo de maturação através da ação de furinas ou de pró-proteínas convertases semelhantes à furina, proteases presentes no organismo hospedeiro (JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021). Essas enzimas do hospedeiro clivam a proteína S no sítio de clivagem para furinas, conhecido como S₁/S₂, separando-a em duas subunidades com diferentes funções para garantir a entrada do vírus na célula do hospedeiro: a subunidade 1 (S₁), composta por um domínio N-terminal (NTD) e pelo domínio de ligação ao receptor (RBD); e a subunidade 2 (S₂), composta pelo peptídeo de fusão (FP), duas repetições heptadas (HR1 e HR2), um domínio transmembrana e uma cauda citoplasmática (ALMEHDI *et al.*, 2021; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021). Dessa forma, a S₁ possui a função de ligação ao receptor presente na célula do hospedeiro, já que contém o RBD, enquanto a S₂ é responsável pela formação do poro para fusão membranar entre o envelope viral e a membrana

celular. Apesar de separadas pela clivagem do sítio S1/S2, as duas subunidades proteicas continuam associadas de maneira não covalente (ALMEHDI *et al.*, 2021; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021). A proteína S do vírus está ilustrada mais detalhadamente na Figura 2.

Figura 2 – Subunidades contidas na proteína *spike*, assim como sua organização de domínios.



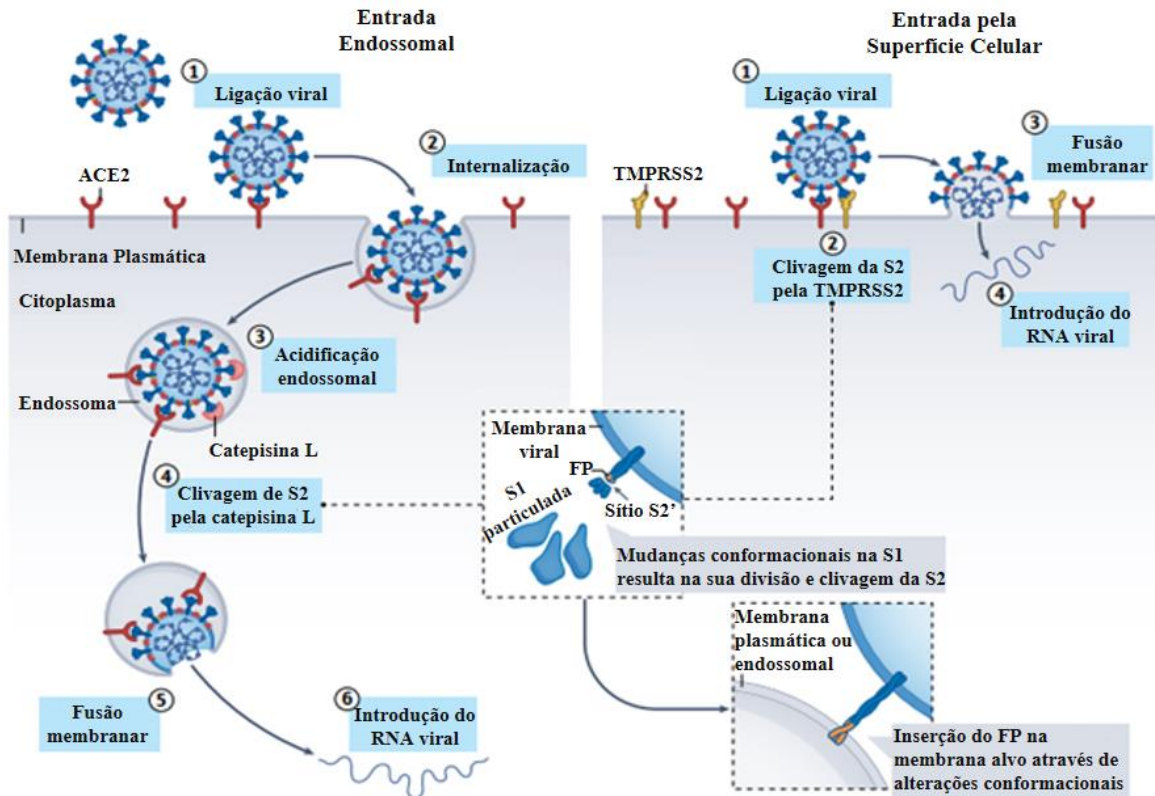
Fonte: ALMEHDI *et al.* (2021, p. 2) – modificado.

2.2 Ciclo de replicação viral

As partículas virais, ao serem inaladas pelo hospedeiro, percorrem pelo trato respiratório, onde estão presentes as células do epitélio nasal e as células epiteliais brônquicas, as quais apresentam grande expressão da ECA2 (DHAMA *et al.*, 2020; HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON *et al.*, 2022). Ao encontrar a ECA2, a porção S1 da glicoproteína S sofre mudanças conformacionais para atingir um estado energético estável, obtendo energia o suficiente para evitar o afastamento natural da célula do hospedeiro, o que garante a interação entre a proteína viral e o receptor (JACKSON *et al.*, 2022). Após interagir com o receptor, o material genético viral pode ser introduzido na célula através de dois possíveis mecanismos: 1)

entrada pela superfície celular; ou 2) entrada mediada por endocitose (Figura 3) (HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021; V'KOVSKI *et al.*, 2021).

Figura 3 – Mecanismos de entrada celular do SARS-CoV-2.



Fonte: JACKSON (2020, p. 11) – modificado.

Para que a entrada pela superfície celular seja possível, é necessário que a célula do hospedeiro tenha expressa em sua superfície a enzima serinoprotease transmembrana II humana (TMPRSS2) (ALMEHDI *et al.*, 2021; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021). Essa enzima se faz necessária pois, ao interagir com o receptor, S1 se desassocia da S2, expondo o sítio de clivagem S2' presente nessa subunidade, caracterizando o processo de entrada do vírus como dependente de protease, uma vez que é necessária a ação de uma enzima proteolítica presente no hospedeiro para clivagem desse sítio e ativação da porção S2 (ALMEHDI *et al.*, 2021; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021). Portanto, a TMPRSS2 cliva o sítio S2', expondo o FP e desencadeando alterações conformacionais nas HR1 e HR2. A partir dessas alterações em HR1 e HR2, o FP é aproximado da membrana celular, unindo-a ao envelope viral para introdução do material genético do vírus no citoplasma da célula (JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021).

Caso o vírus não detecte a presença de TMPRSS2 após se ligar ao seu receptor, o complexo ECA2-vírus é internalizado via endocitose mediada por clatrina. O endolisossomo é caracterizado por um ambiente ácido, necessário para ação das catepsinas, as quais realizam função semelhante à TMPRSS2, clivando o sítio S2' para exposição do FP e consequente fusão entre a membrana do endossomo e o envelope viral para que o genoma viral seja introduzido no citoplasma celular (JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021).

Ao alcançar o citoplasma celular, o genoma viral é traduzido utilizando a maquinaria molecular do hospedeiro, resultando na produção das proteínas da replicase, responsáveis pela construção do complexo de replicação viral (HARRISON; LIN; WANG, 2020; V'KOVSKI *et al.*, 2021). Esse complexo é originado a partir de membranas provenientes do retículo endoplasmático e protege os ácidos nucleicos virais de moléculas do sistema imune (HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021; V'KOVSKI *et al.*, 2021). Enquanto isso, o genoma viral, de sentido positivo, é transcrito em um RNA de fita simples de sentido negativo a fim de servir como molde para a replicação do material genético viral. Durante esse processo, pode ocorrer a formação de fitas menores de RNA, chamadas de RNA subgenômico. Algumas das novas fitas de RNA de sentido positivo serão utilizadas para a montagem dos vírions e algumas serão utilizadas para a produção das proteínas virais (HARRISON; LIN; WANG, 2020; V'KOVSKI *et al.*, 2021).

Após a formação dos complexos de replicação, as fitas de RNA virais são transportadas para esses complexos, onde é continuado o processo de replicação viral. A tradução dos RNAs mensageiros (RNAm) subgenômicos ocorre nos ribossomos presentes no retículo endoplasmático, pois essas fitas são responsáveis pela produção das proteínas estruturais do vírus, geralmente encontradas na membrana viral (HARRISON; LIN; WANG, 2020; V'KOVSKI *et al.*, 2021). A construção do vírion se dá a partir da inserção das proteínas estruturais no compartimento intermediário de Golgi do retículo endoplasmático, com exceção da proteína N, a qual envolve o genoma viral. Como foi dito anteriormente, após biossíntese da proteína S é necessário um processo de maturação dessa proteína, separando-a em S1 e S2 (HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021; V'KOVSKI *et al.*, 2021). Por meio do transporte de novos RNA genômicos às membranas que contém as proteínas estruturais virais, são produzidos novos vírions envoltos por uma vesícula, a qual participa na saída do vírus por exocitose. Imagina-se que o SARS-CoV-2 também pode sair da célula por meio de lisossomos (V'KOVSKI *et al.*, 2021).

Estudos anteriores utilizando modelagem computacional e medições biofísicas detectaram uma ligação de maior afinidade da proteína S do SARS-CoV-2, em relação a proteína S do SARS-CoV, à ECA2 (ALMEHDI *et al.*, 2021; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZ, 2020; PENG *et al.*, 2021; TAY *et al.*, 2020). Existem hipóteses de que essa maior afinidade poderia conferir ao novo vírus uma maior facilidade de infecção em relação ao de 2002, porém alguns estudos mostram que a eficiência de ligação entre o trímero da proteína S do SARS-CoV-2 é menor do que a eficiência de ligação entre o trímero da proteína S do SARS-CoV, à ECA2 (JACKSON *et al.*, 2022).

A ECA2 é considerada um receptor obrigatório para a entrada desse vírus na célula do hospedeiro, fazendo com que o vírus seja atraído pelas células que o expressam (JACKSON *et al.*, 2022). Apesar disso, já foram relatados outros receptores, como a neuropilina 1 (NRP1) e o transportador de aminoácidos dependente de sódio (B0AT1), que quando presentes podem intensificar a entrada celular do vírus, podendo até compensar uma baixa expressão de ECA2 na célula alvo. NRP1 está expresso em células do epitélio olfatório e respiratório, enquanto B0AT1 está expresso no trato gastrointestinal e nos rins, mas não nos pulmões (JACKSON *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2021; ZHANG; WANG; CHENG, 2022). Além disso, outras regiões apresentam maior expressão da ECA2, como o intestino delgado, os testículos, os rins, o tecido muscular do coração, o cólon e a glândula tireóide, ainda que a via respiratória seja a mais dominante em infecções causadas pelo SARS-CoV-2. (JACKSON *et al.*, 2022). Já foram observadas complicações gastrointestinais e renais em decorrência da infecção causada pelo vírus e até mesmo a infecção de tecido cardíaco pelo vírus, em autópsias, possivelmente explicadas por essa grande presença do receptor nas células constituintes desses tecidos (BALKHI, 2021; JACKSON *et al.*, 2022).

2.3 Espectros clínicos da COVID-19

A COVID-19 pode se apresentar de diversas maneiras dependendo das características do indivíduo infectado e da sua resposta imune contra o vírus. Os sintomas comuns associados a essa doença são: febre; tosse; congestão nasal; dor de cabeça; mialgia; cansaço e dispneia (BOBAN, 2021; CARFÌ; BERNABEI; LANDI, 2020; DHAMA *et al.*, 2020; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; KAUR; GUPTA, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZ, 2020; SHAH *et al.*, 2020). Apesar disso, sintomas como anosmia, disgeusia, perda de apetite, desconforto intestinal, diarreia, dor articular, tontura ou desmaios e calafrios também podem

ocorrer devido a essa doença (BOBAN, 2021; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020; TAY *et al.*, 2020).

O NIH caracteriza o espectro clínico da infecção causada pelo SARS-CoV-2 a partir da divisão em doença assintomática, doença leve, doença moderada, doença grave e doença crítica. A porcentagem de progressão da doença assintomática para doença clínica é incerta, pois a permanência assintomática do paciente é variável e indefinida durante o seguimento da infecção. Apesar disso, alguns pacientes podem apresentar achados radiográficos consistentes com pneumonia decorrente de COVID-19 mesmo quando assintomáticos (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2021).

Já a forma leve da doença se apresenta por meio de sintomas inespecíficos, como febre, tosse, cansaço e dor de cabeça, que podem ser administrados em ambiente ambulatorial ou na própria residência, sem a necessidade de avaliação laboratorial ou por imagem. Como pacientes idosos e pacientes que apresentam comorbidades exibem maior risco de progressão da doença, eles devem ser mantidos em observação médica até a completa recuperação. A forma moderada da doença é determinada a partir da diminuição da saturação de oxigênio ($SpO_2 \geq 94\%$) e pela evidência, em avaliação clínica ou por imagem, da doença no trato respiratório inferior. Esses pacientes devem ser monitorados e acompanhados diariamente devido ao risco de progressão rápida da doença, tendo cuidado com sepse e infecções oportunistas (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2021).

A doença começa a ser definida como grave com base na diminuição da saturação de oxigênio ($SpO_2 < 94\%$), da relação entre a pressão arterial de oxigênio e a fração inspirada de oxigênio ($PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg), do aumento da taxa de respiração (> 30 respirações/min) ou taxa de infiltração pulmonar $> 50\%$. Pacientes com COVID-19 grave podem passar por deterioração clínica rápida, sendo necessário uso imediato de terapia de oxigênio e reavaliações diárias para não ocorrer sepse ou infecções oportunistas. Por fim, a doença crítica pode se manifestar através da síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS), choque séptico, disfunção cardíaca, resposta inflamatória exacerbada e piora das comorbidades apresentadas pelo paciente. Além disso, o paciente com doença crítica ainda pode apresentar acometimento em outros órgãos, no sistema nervoso central e na circulação (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2021). Os critérios para caracterização do espectro clínico de COVID-19, descritos pelo NIH, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Espectros clínicos da COVID-19, segundo as diretrizes do NIH.

<i>Gravidade da Doença</i>	<i>Sintomas</i>	<i>Observações</i>
<i>Assintomático ou Pré-sintomático</i>	Sem sintomas consistentes com COVID-19.	Testes virológicos positivos (pesquisa de antígeno ou testes moleculares).
<i>Doença leve</i>	Febre, tosse, garganta seca, cansaço, dor de cabeça, mialgia, náusea, vômito, diarreia, anosmia e ageusia.	Não é indicado testes de imagem nem avaliações laboratoriais específicas em pacientes aparentemente saudáveis. Pacientes com comorbidades apresentam maior risco e devem ser monitorados diariamente até recuperação.
<i>Doença Moderada</i>	Saturação de oxigênio reduzida ($SpO_2 \geq 94\%$) em ar ambiente ao nível do mar. Pode demonstrar dificuldade respiratória ou dispneia.	Evidência de infecção do trato respiratório inferior através de exames de imagem.
<i>Doença Grave</i>	$SpO_2 < 94\%$ em ar ambiente ao nível do mar, $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg, taxa de respiração > 30 respirações/min. ou taxa de infiltração pulmonar $> 50\%$.	Pacientes podem apresentar rápida deterioração clínica. Administração imediata de oxigenoterapia através de cânula nasal ou de dispositivo de alto fluxo de oxigênio.
<i>Doença Crítica</i>	Insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção múltipla de órgãos.	Pacientes podem apresentar doenças cardíacas, hepáticas, renais, trombóticas ou do Sistema nervoso central em adição à doença pulmonar.

Fonte: NIH (2021).

Mesmo após recuperação da COVID-19 já foram observados pacientes que exibem a persistência de alguns sintomas da doença (RIO; COLLINS; MALANI, 2020). A persistência dos sintomas por mais de 3 semanas após início dos sintomas é determinada de COVID-19 pós-aguda, sendo essa considerada doença crônica quando permanece até mais de 12 semanas. Foram reportados comumente cansaço, dispneia, dor articular e dor torácica como sintomas persistentes dessa doença (AMENTA *et al.*, 2020; RIO; COLLINS; MALANI, 2020). Também já foram descritos outros sintomas como disfunção de órgãos específicos, incluindo principalmente o coração, o pulmão e o cérebro (RIO; COLLINS; MALANI, 2020; WANG;

KREAM; STEFANO, 2020). Mais estudos ainda são necessários para realmente entender o impacto a longo termo dessa doença, já que ainda é uma doença recente e mais casos poderão ser avaliados após recuperação da doença. Para isso é de suma importância o contato com pacientes que apresentaram a doença para verificar a presença de sintomas persistentes ou sequelas (WANG; KREAM; STEFANO, 2020).

2.4 Epidemiologia

2.4.1 Contexto histórico

Como mencionado anteriormente, no fim de 2019 surgiu uma nova doença viral em Wuhan, na China, sendo que já no início no ano de 2020, a OMS declarou um estado de pandemia devido a essa doença. Nas duas últimas décadas, já houve outras doenças virais, causadas por coronavírus, que se originaram no Oriente e tiveram um impacto local suficiente para a ocorrência de uma epidemia. Dentre essas podemos destacar a SARS, originada na China em 2002, e a síndrome respiratória do oriente médio (MERS), originada na Arábia Saudita em 2012 (BOBAN, 2021; DHAMA *et al.*, 2020; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; SARIOL; PERLMAN, 2020; SHAH *et al.*, 2020). A COVID-19 conseguiu ter um maior alcance devido a sua maior capacidade de transmissão, possibilidade de transmissão assintomática e pela sua longa janela de infecção antes da apresentação dos sintomas (AZKUR *et al.*, 2020; DHAMA *et al.*, 2020). Apesar disso, comparado a essas outras doenças, a COVID-19 apresenta um menor índice de letalidade, de ~2%, enquanto a SARS e a MERS tiveram ~10% e ~34%, respectivamente (BOBAN, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; SARIOL; PERLMAN, 2020).

De acordo com diversos estudos, a forma grave da doença acomete mais pessoas do sexo masculino, de tipo sanguíneo A, idosos e que apresentam comorbidades (BOBAN, 2021; DHAMA *et al.*, 2020; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). Dentre as comorbidades mais comuns em pacientes com COVID-19 grave estão: hipertensão, obesidade, diabetes, desordens do metabolismo de lipídeos, aterosclerose coronária e outras doenças cardíacas (KOMPANIYETS *et al.*, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). Outras comorbidades encontradas em pacientes graves foram doença arterial coronariana, doença pulmonar obstrutiva crônica e câncer (BOBAN, 2021). Além disso, a presença de algumas comorbidades, como doenças cardiovasculares, diabetes, doença pulmonar crônica, hipertensão, câncer, ansiedade e transtornos relacionados ao medo, doença renal crônica e transtornos neurocognitivos, podem

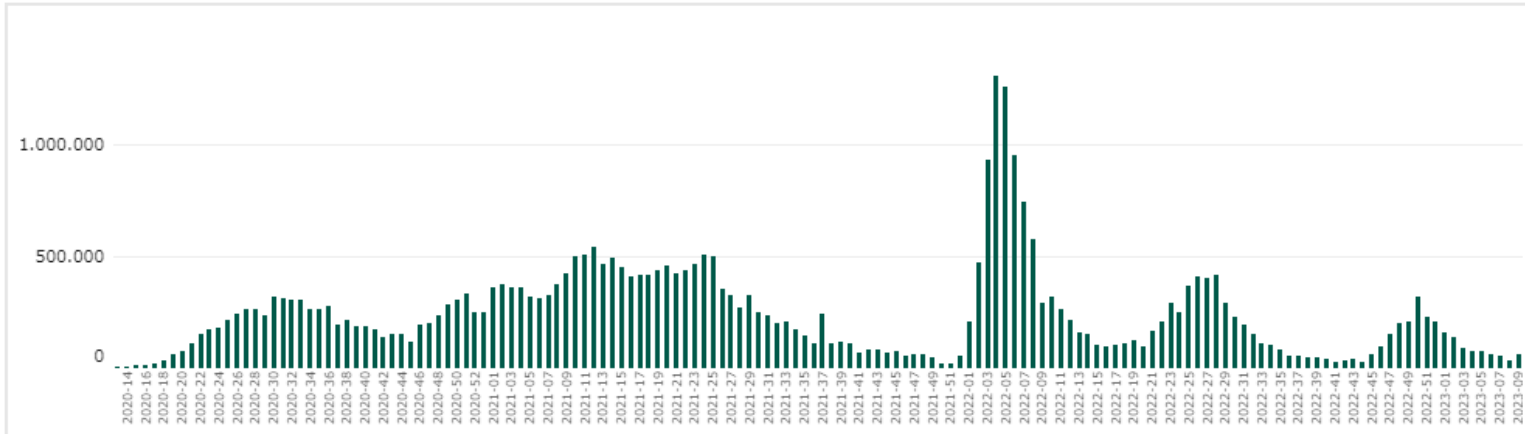
estar ligadas com uma maior taxa de letalidade (KOMPANIYETS *et al.*, 2021; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020). Segundo Öztürk, Taşova e Ayaz (2020), pacientes críticos possuem uma alta taxa de letalidade, aproximando-se a 49% em geral, e pacientes sem comorbidades apresentam uma baixa taxa de letalidade, próxima de 0.9%.

Em estudo prévio foi reportado que alguns fatores de risco de pacientes com pneumonia causada por COVID-19 podem contribuir para a progressão em ARDS ou morte. Idade avançada, presença de comorbidades, febre alta, neutrofilia, linfopenia, elevada proteína c-reativa de alta sensibilidade e indicadores de coagulação, como tempo de protrombina e D-dímero, foram associados com maior risco de desenvolvimento de ARDS (AZKUR *et al.*, 2020).

2.4.2 COVID-19 no Brasil

Segundo dados do Painel Nacional de COVID-19, emitido pelo Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASS), por meio do seu Centro de Informações Estratégicas para a Gestão Estadual do SUS (CIEGES), até o dia 10 de março de 2023 o Brasil possuía mais de 37 milhões de casos confirmados da doença e mais de 699 mil óbitos confirmados, resultando em uma taxa de letalidade de 1,9%. Podemos observar que a partir desses dados, desde a chegada da COVID-19 no país, são observados alguns picos de casos, destacando-se a 12ª semana do ano de 2021 (21/03 a 27/03), a qual registrou-se mais 539 mil casos, e as 8 primeiras semanas do ano de 2022 (02/01 a 26/02), período em que foram documentados mais de 6 milhões e 450 mil casos. Dentro dessas primeiras semanas de 2022, as semanas 4 (23/01 a 29/01) e 5 (30/01 a 05/02) se sobressaíram, já que em cada uma dessas registraram-se mais de 1 milhão de casos, sendo de longe as semanas em que mais casos foram identificados durante todo o período de pandemia (CONASS, 2022a). Segundo Menezes *et al.* (2022) a onda de casos do início do ano de 2022 coincidiu com a circulação de uma nova variante do vírus no país, chamada omicron. Essa maior ocorrência de casos coincidente com a circulação dessa variante pode estar ligado ao maior potencial de transmissão, em relação as variantes virais anteriores, sendo esse estimado em 3 a 6 vezes maior que a variante delta, caracterizando-a como a variante com maior potencial de transmissão identificada até então (WOLF *et al.*, 2023). Esses dados podem ser observados na Figura 4 a seguir.

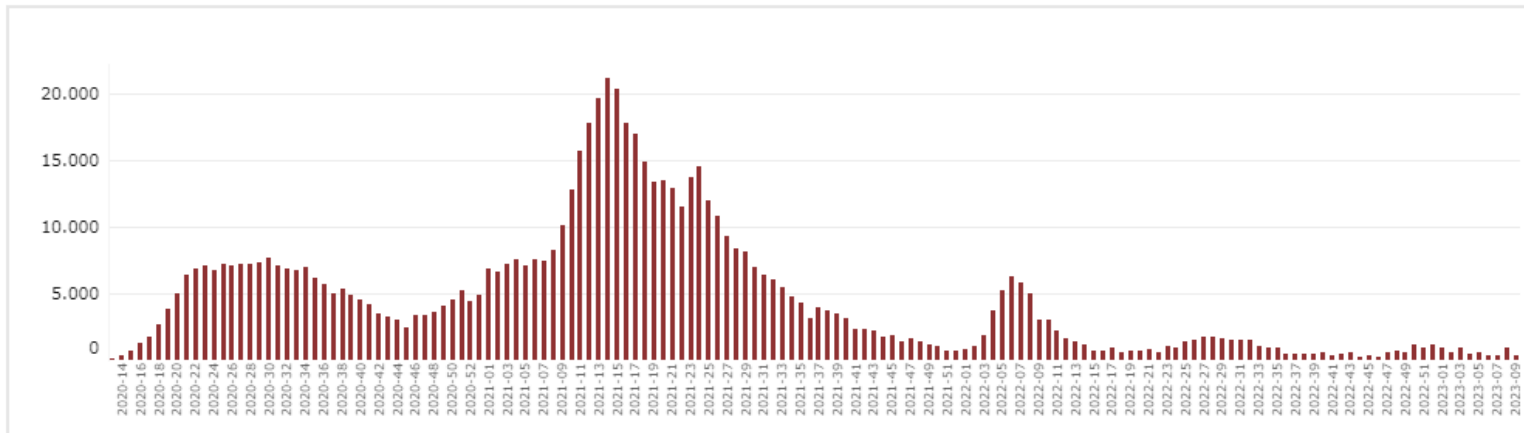
Figura 4 – Número de casos informados de COVID-19 por semana epidemiológica.



Fonte: CONASS (2022a).

Em relação ao número de óbitos, desde a chegada da doença, o país apresenta um pico semelhante no ano de 2021, estando localizado na 14ª semana (21.141 óbitos), bem próximo ao pico de casos na 12ª semana mencionado anteriormente. Segundo Menezes *et al.* (2022) o aumento no número de óbitos no primeiro semestre de 2021 está associada ao aparecimento da variante gamma, a qual possui mutações impactantes na transmissão, escape do sistema imune e virulência, no país. Apesar disso, não se foi demonstrado que essa variante aumenta o risco de gravidade da doença, sendo observado um maior número de hospitalizações na Europa, mas não de mortes, como no Brasil. Sendo assim, é proposto que esse aumento no número de óbitos no Brasil esteja associado a limitações socioeconômicas e de saúde pública (WOLF *et al.*, 2023). As primeiras semanas do ano de 2022, porém, demonstraram um comportamento diferente, sendo documentados um total de 24.775 óbitos no mesmo intervalo de tempo, em que se notificou mais de 6 milhões e 450 mil casos. Esses números se contrastam quando comparamos os picos de casos (2021 – 539.903; 2022 – 1.305.447) e os picos de óbitos (2021 – 21.141; 2022 – 6.246) (CONASS, 2022a). A diferença entre esses períodos pode estar relacionada ao menor potencial de gravidade da variante omicron, circulante durante esse período, quanto ao número de pessoas vacinadas (71,8% da população parcialmente vacinada, com pelo menos uma dose, e 22% completamente vacinada), já que as vacinas contra o SARS-CoV-2 podem reduzir o risco de gravidade da doença causada por esse vírus (GIOVANETTI *et al.*, 2022; MENEZES *et al.*, 2022; WOLF *et al.*, 2023). Os dados sobre o número de óbitos estão ilustrados na Figura 5 a seguir.

Figura 5 – Número de óbitos por COVID-19 informados por semana epidemiológica.



Fonte: CONASS (2022a).

Observando os estados brasileiros individualmente, São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul obtiveram os três maiores números de casos totais até março de 2023, apresentando respectivamente: 6.469.442; 4.189.760; 2.962.414 casos. Os estados de São Paulo e Minas Gerais também se incluíram entre os estados com maiores números de óbitos, sendo o primeiro e o terceiro, respectivamente. Segundo Giovanetti *et al.* (2022) a região sudeste, a qual contém a maior densidade populacional do país, apresentou o maior número de casos até setembro de 2021, sendo liderada pelo estado de São Paulo. Apesar disso, a região centro-oeste, região menos populosa do país, possuiu a maior incidência. Apesar do estado do Rio de Janeiro ser o quinto estado com mais casos notificados de COVID-19, com 2.754.359 casos totais, ele apresenta o segundo maior número de óbitos confirmados (76.852), superando estados onde foram notificados mais casos, como Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul, como pode ser observado na Tabela 2 abaixo (CONASS, 2022a).

Tabela 2 – Estados brasileiros com maior número de casos e de óbitos totais até março de 2023.

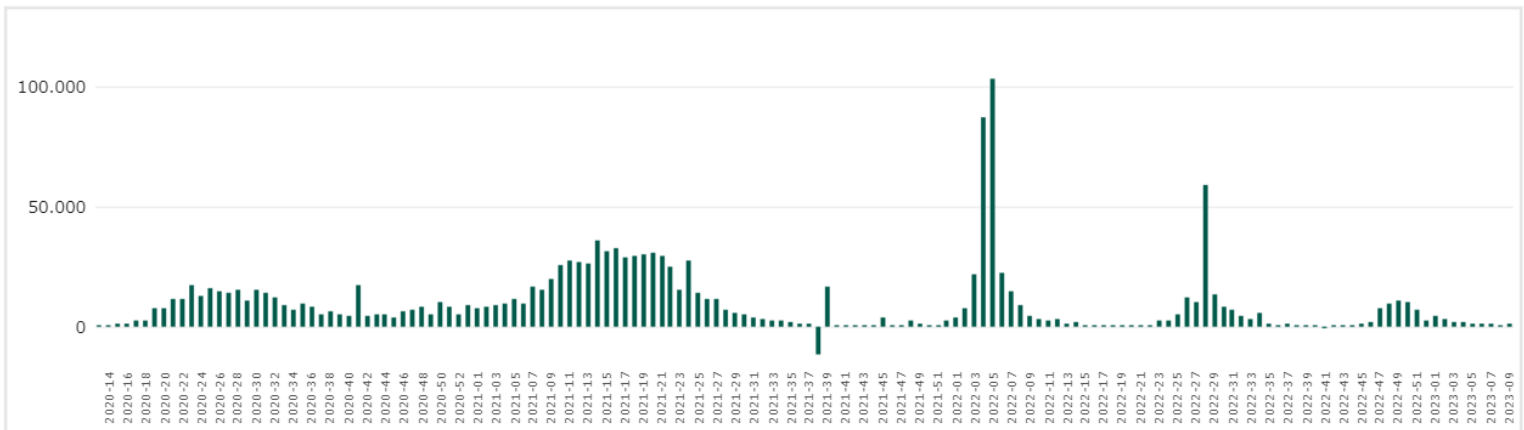
ESTADO	Nº DE CASOS	ESTADO	Nº DE ÓBITOS
1º São Paulo	6.469.442	1º São Paulo	179.039
2º Minas Gerais	4.189.760	2º Rio de Janeiro	76.852
3º Rio Grande do Sul	2.962.414	3º Minas Gerais	65.507
4º Paraná	2.920.177	4º Paraná	46.022
5º Rio de Janeiro	2.754.359	5º Rio Grande do Sul	41.921
Total - Brasil	34.850.373	Total - Brasil	699.310

Fonte: CONASS (2022a).

2.4.3 COVID-19 no Ceará

Individualmente, o estado do Ceará possui mais de 1 milhão e 450 mil casos totais confirmados e mais de 28 mil óbitos confirmados devido a COVID-19 até março de 2023, resultando na mesma taxa de letalidade de 1,9%. Sendo assim, entre os estados brasileiros, o Ceará apresenta o 9º maior número de casos e o 7º maior número de óbitos confirmados por essa doença. De maneira similar ao observado no país, o Ceará apresentou picos de casos em março de 2021 e em janeiro de 2022, com a adição de mais um pico em julho de 2022, onde foram registrados 35.783, 100.719 e 58.562 casos da doença, respectivamente (CONASS, 2022a) (Figura 6). Segundo Giovanetti *et al.* (2022) os casos da doença no começo do ano de 2021 foram decorrentes das variantes zeta, durante o mês de janeiro e fevereiro, e gamma, em março, portanto, o pico de casos ocorrido no mês de março desse ano pode ser devido a circulação da nova variante, gamma, no estado devido ao seu maior potencial de transmissão, assim como foi mencionado em relação ao país de maneira geral. A variante zeta, assim como a gamma, possui algumas mutações responsáveis pela melhor capacidade de evasão do sistema imune e maior potencial de transmissão, em relação às variantes virais anteriores (GHOSH; NANDI; SAHA, 2022).

Figura 6 – Número de casos de COVID-19 registrados no Ceará entre 2020 e 2023.

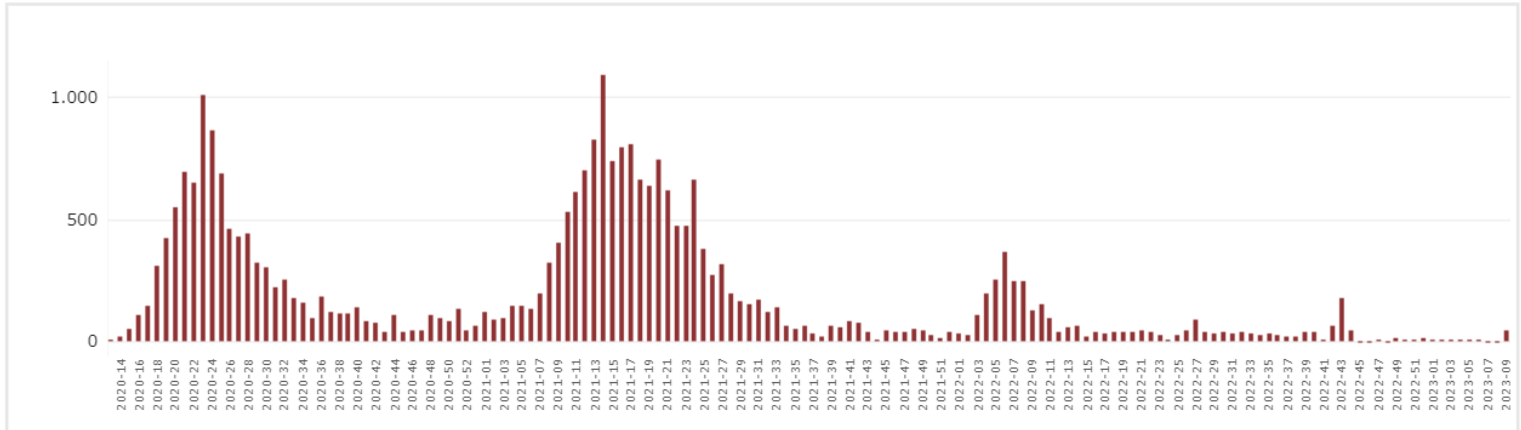


Fonte: CONASS (2022a).

Em relação aos picos de óbito, destacam-se principalmente os picos ocorridos em maio de 2020, em março de 2021 e um menor em fevereiro de 2022, onde foram notificados 1.009, 1.093 e 366 óbitos devido a essa doença, respectivamente (Figura 7). Novamente, se observa o grande número de casos no início de 2022, apesar do baixo número de óbitos, enquanto em

maio de 2020 registrou 15.354 casos e 1.009 óbitos e em março de 2021 100.719 casos e 1.093 óbitos foram notificados (CONASS, 2022a).

Figura 7 – Número de óbitos por COVID-19 registrados no Ceará entre 2020 e 2023.



Fonte: CONASS (2022a).

Entre as regiões do Ceará, a cidade de Fortaleza se destaca pelo elevado número de casos totais (426.090), número de óbitos (11.812) e alta taxa de letalidade (2,8%) até novembro de 2022, sendo seguida por Sobral em número de casos (112.918) e Caucaia em número de óbitos (1.897) e taxa de letalidade (2,6%) (CONASS, 2022b).

2.5 Resposta imune inata ao vírus

Uma vez que o vírus entra em uma célula do hospedeiro ele é reconhecido por PRRs. Esses receptores conseguem identificar padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou a danos (DAMPs). A ativação intracelular do sistema imune inato pode ocorrer principalmente por meio de 3 famílias dentre esses receptores: os receptores Toll-like (TLR); os receptores RIG-I-like (RLR); ou os receptores NOD-like (NLR) (CARTER-TIMOFTE *et al.*, 2020; RAMASAMY; SUBBIAN, 2021; SCHREIBER, 2020). Devido às suas características, o SARS-CoV-2 pode ser reconhecido pelos receptores TLR-3, TLR-7, TLR-8, RIG-1 e MDA5, ativando conseqüentemente a produção de IFN-I por meio da fosforilação dos fatores de regulação de interferon (IRF3/IRF7) (BALKHI, 2021; CARTER-TIMOFTE *et al.*, 2020; RAMASAMY; SUBBIAN, 2021). A primeira linha de defesa contra patógenos são as células epiteliais, assim como as células do sistema imune inato, e portanto, expressam esses receptores (BALKHI, 2021; RAMASAMY; SUBBIAN, 2021).

A partir da liberação de IFN-I por células infectadas, as células adjacentes são sinalizadas da presença de uma infecção viral e são estimuladas a expressarem proteínas de atividade antiviral, como as oligoadenilato sintetases (OAS) 1 e 3 (MAZEWSKI *et al.*, 2020; SCHREIBER, 2020). Isso ocorre pela detecção da molécula de IFN-I pelas células, por meio do IFNAR em sua superfície. O IFNAR está presente em todas as células e ao interagir com IFN-I ocasiona a fosforilação cruzada por aproximação das suas proteínas sinalizadoras associadas da família Janus kinase (JAK1 e TYK2) (BAGHERI *et al.*, 2021; MAZEWSKI *et al.*, 2020; SCHREIBER, 2020). Consequentemente, proteínas da família de transdutores de sinal e ativadores da transcrição (STAT) são fosforilados e dissociados do receptor, transportando-se para o núcleo da célula, onde atuam como fatores de transcrição para diversos genes, como *IFITM3*, *OAS1* e *OAS3* (BAGHERI *et al.*, 2021; MATSUYAMA *et al.*, 2020; MAZEWSKI *et al.*, 2020; SCHREIBER, 2020).

2.5.1 Características gerais dos IFN-I

IFN-I são moléculas altamente ativas que possuem três principais funções: 1) ativar um estado antiviral em células adjacentes, limitando a disseminação da infecção; 2) modular respostas do sistema imune inato, incluindo funções de células *natural killers* (NK) e apresentação de antígeno, enquanto restringe vias pró-inflamatórias; 3) ativar o sistema imune adaptativo para gerar respostas de células B e T antígeno específicas de alta afinidade (SCHREIBER, 2020). Os IFNs-I constituem um grupo composto por 13 tipos de IFN α de alta homologia entre si e 01 tipo de IFN ω , κ , ϵ e β de menor homologia (DA SILVA *et al.*, 2021; MAZEWSKI *et al.*, 2020; SCHREIBER, 2017, 2020). Os diferentes tipos de funções ativadas pelos IFNs vão depender do seu subtipo e das células que vão detectá-los (SCHREIBER, 2017, 2020).

Os diferentes subtipos de IFNs possuem diferentes graus de afinidade de ligação ao seu receptor, IFNAR, onde o IFN- β possui a ligação mais firme e o IFN- ϵ possui a ligação mais fraca (MAZEWSKI *et al.*, 2020; SCHREIBER, 2020). Sugere-se que esses diferentes graus de afinidade de ligação podem estar relacionados com a intensidade de sinalização, resultando em grande diferença de atividade biológica, pois algumas respostas necessitam de uma maior sinalização por parte da molécula para serem geradas (SCHREIBER, 2017, 2020). Apesar disso, já foi observado que até fracas ligações de IFN-I são capazes de produzir uma resposta antiviral celular, mesmo que em concentrações muito baixas (SCHREIBER, 2020).

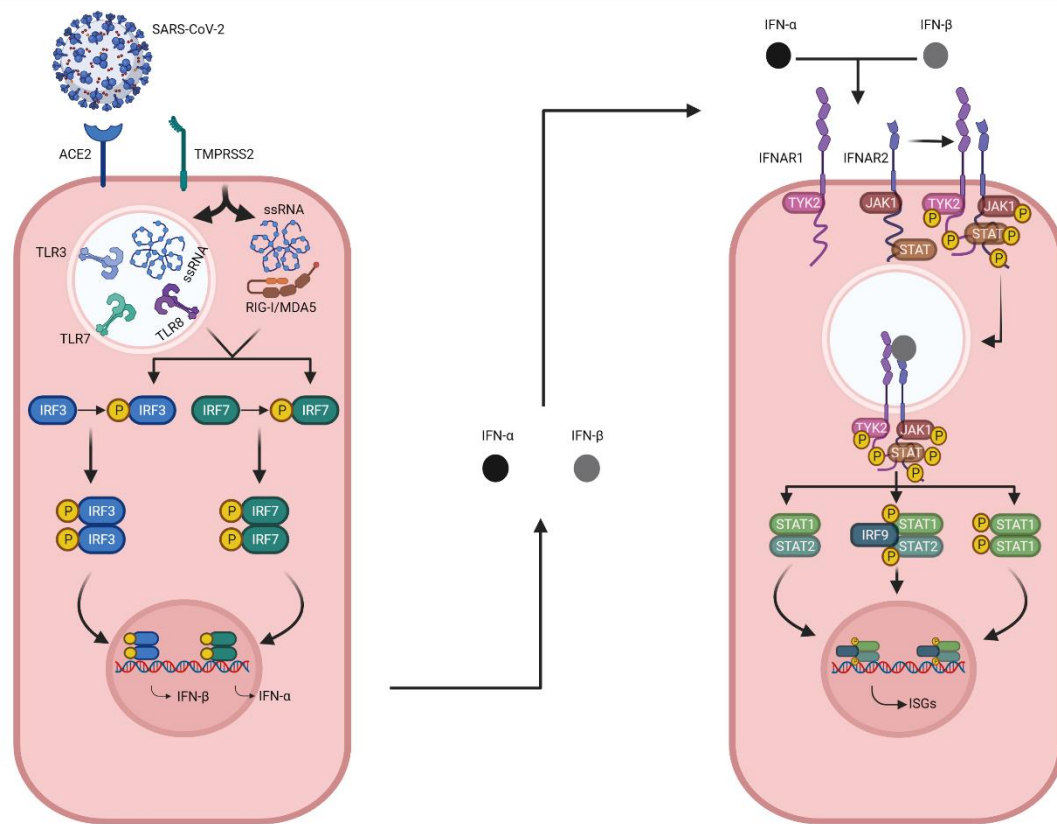
Atividades antiproliferativas, por exemplo, parecem precisar de uma sinalização mais potente para serem ativadas, assim como processos de imunomodulação precisam de uma maior concentração de IFN-I para serem ativadas (SCHREIBER, 2017, 2020). Sendo assim, a ativação das funções mais comuns dos IFN-I, como a resposta antiviral, foi chamada de “*robust*”, enquanto a ativação de funções mais complexas, como atividades antiproliferativas e de imunomodulação, por IFN-I foi chamada de “*tunable*” (SCHREIBER, 2020). Apesar do conhecimento de que todas as células têm acesso às funções “*robust*”, mas apenas alguns tipos de células podem acessar as funções “*tunable*”, ainda há muito a se descobrir sobre essas funções, fazendo-se necessário a realização de mais estudos sobre o assunto (MAZEWSKI *et al.*, 2020).

2.5.2 Receptor de IFN-I (IFNAR)

O IFNAR é constituído por duas subunidades transmembranares conhecidas como IFNAR1 e IFNAR2 (AKTER *et al.*, 2021; SCHREIBER, 2020). Além disso, este receptor possui dois domínios, um extracelular (ECD), o qual se liga com IFN-I, e um intracelular (ICD), no qual estão ligadas as proteínas JAK e STAT (AKTER *et al.*, 2021; SCHREIBER, 2020; THOMAS *et al.*, 2012). Enquanto o IFNAR2 possui as proteínas JAK1, STAT1, STAT2 e talvez outras proteínas da família STAT ligadas ao seu ICD, o IFNAR1 possui apenas a proteína TYK2 (AKTER *et al.*, 2021; SCHREIBER, 2020; THOMAS *et al.*, 2012).

A subunidade IFNAR2 pode ser considerada a cadeia de alta afinidade, enquanto a subunidade IFNAR1 pode ser considerada a cadeia de baixa afinidade. Isso se dá devido as mudanças conformacionais necessárias para que aconteçam as fosforilações cruzadas das proteínas presentes no ICD. Sendo assim, a estrutura protéica da subunidade 1 é muito mais otimizada para plasticidade, o que diminui a sua afinidade de ligação ao IFN-I, por conta de perda energética associada às suas mudanças estruturais, enquanto a subunidade 2 não necessita realizar essas mudanças conformacionais e por isso possui uma maior reserva energética para a ligação à molécula de IFN-I (SCHREIBER, 2020; THOMAS *et al.*, 2012). Podemos visualizar a ativação dessa via ilustrada na Figura 8.

Figura 8 - Ativação da via do IFN-I pela infecção por SARS-CoV-2.



O vírus penetra nas células epiteliais alveolares do hospedeiro através da proteína de membrana ECA2 com auxílio da proteína TMPRSS2, presentes na superfície celular. A membrana celular se funde com o envelope viral, permitindo a entrada do material genético do vírus (RNA de fita simples) por meio de endossomo. Os receptores TLR3, TLR7 e TLR8 são expressos no endossomo e podem detectar RNAs virais. Outros receptores, como RIG-I e MDA5, estão localizados no citoplasma da célula e também podem detectar esses materiais genéticos caso presentes. Após a detecção do vírus por meio desses receptores, a expressão de fatores reguladores de interferon (IRF3 e IRF7) é estimulada. Esses fatores, IRF3 e IRF7, atuam como fatores de transcrição para a produção de moléculas de interferon do tipo I (IFN- α e IFN- β) quando fosforilados, por meio da formação de homodímeros. Essas moléculas, IFN- α e IFN- β , são detectadas por receptores de interferon do tipo I, o qual é composto por duas subunidades (IFNAR1 e IFNAR2) que possuem proteínas de transdução de sinal (JAK e STAT) ligadas aos seus domínios intracelulares (ICD). A subunidade 1, IFNAR1, possui TYK2, pertencente à família JAK, ligada ao seu ICD, enquanto a subunidade 2, IFNAR2, possui JAK1 e STAT1 ligadas ao seu ICD. Quando as subunidades do receptor interagem com as moléculas de IFN-I, essas proteínas de transdução de sinal realizam fosforilação cruzada para internalização do receptor por meio da formação de endossomo. Em seguida, as proteínas STAT formam homo ou heterodímeros, como na formação do complexo IRF9/STAT1/STAT2, os quais servem de fatores de transcrição para genes estimulados por interferon (ISGs) que possuem diversas funções antivirais. (Figura criada através do Biorender, adaptada de Schreiber 2020; Carter-Timofte *et al.*, 2020)

2.5.3 Mecanismos de escape do vírus

Os quadros clínicos graves que ocorrem na COVID-19 muitas vezes são consequência de um sistema imune desbalanceado, assim como de respostas inflamatórias exacerbadas. Isso ocorre devido a capacidade do vírus de evadir alguns mecanismos imunes do hospedeiro, além da modulação da produção de moléculas sinalizadoras para ativar a resposta antiviral, como os IFN-I (ZHANG; WANG; CHENG, 2022). Dessa forma, foram descritas sete estratégias que o

SARS-CoV-2 pode se utilizar para evadir a resposta imune do hospedeiro: 1) Camuflagem da proteína S, mascarando seu epítipo; 2) Diminuição da expressão de moléculas de MHC-I na superfície celular; 3) Inibição da síntese de IFNs; 4) Inibição da apoptose de algumas células infectadas a fim de potencializar a replicação viral; 5) Infecção via conexão célula-célula através de nanotubos citoplasmáticos; 6) Infecção via conexão célula-célula através da formação de sincícios, ou seja fusões celulares, principalmente atingindo linfócitos, causando linfopenia; e 7) Evasão através de liberação celular via exossoma (RUBIO-CASILLAS; REDWAN; UVERSKY, 2022).

Em geral, as estratégias utilizadas pelo vírus têm o objetivo de evitar um estado celular antiviral, seja direta ou indiretamente. Sendo assim, assume-se que o alvo do SARS-CoV-2 seja prioritariamente a indução de IFNs e da sua cascata de sinalização. Para isso, esse vírus pode evadir da detecção pelos PRRs através da mimetização do seu genoma a um RNAm do hospedeiro. Esse processo é realizado a partir da atividade de proteínas não estruturais (nsp), como a nsp16 e a nsp10, as quais metilam a porção 5' do material genético viral, quando agem juntas (ZHANG; WANG; CHENG, 2022). Outra possibilidade é a inibição da cascata de sinalização, após detecção pelos PRRs, impedindo a formação de fatores de transcrição necessários para a produção de IFNs, como os IRFs. Nessa atividade as proteínas estruturais também podem ser atuantes, com destaque para as proteínas N e M, as quais podem interferir na cascata de sinalização do receptor RIG-I (RUBIO-CASILLAS; REDWAN; UVERSKY, 2022; ZHANG; WANG; CHENG, 2022).

Assim como o SARS-CoV-2 pode escapar da detecção ou restringir a produção de moléculas pelos PRRs, ele também pode interferir na sinalização após interação entre a molécula de IFN ao seu receptor. Isso se dá de duas formas: pela inibição da fosforilação das proteínas transdutoras de sinais presentes no ICD das subunidades do receptor (STAT1/STAT2); ou pela inibição do transporte dos fatores de transcrição produzidos para o núcleo da célula, impedindo a sua atuação na expressão de proteínas com ação antiviral (ZHANG; WANG; CHENG, 2022).

Como o desenvolvimento de mecanismos de escape viral da resposta imune é necessário apenas na presença de pressão imunológica pelo hospedeiro, imagina-se que as moléculas de IFN-I possuam uma contribuição essencial na defesa contra infecção causada pelo SARS-CoV-2, uma vez que houve o desenvolvimento de diversos mecanismos para a evasão dessa via (JACKSON *et al.*, 2022; RUBIO-CASILLAS; REDWAN; UVERSKY, 2022).

2.6 Genética do hospedeiro

Além dos mecanismos desenvolvidos pelos microrganismos para escape da resposta imune a fim de favorecer a sua replicação e permanência no organismo hospedeiro, existem fatores do hospedeiro que podem facilitar também a ocorrência de infecção pelos microrganismos (CASANOVA; ABEL, 2018; YILDIRIM *et al.*, 2021). Com a realização do Projeto Genoma Humano em 2003 e desenvolvimento de técnicas avançadas de biologia molecular, muitos estudos têm sido conduzidos para avaliar a relação dos genes e da variabilidade genética com a ocorrência de doenças (SMITH; FLODMAN, 2018).

Dessa forma, estudos já demonstraram que a variabilidade genética entre indivíduos pode se relacionar com a predisposição ou resposta à infecção (CASANOVA; ABEL, 2018; YILDIRIM *et al.*, 2021). Entre essas, podemos citar a participação do gene codificante do receptor de quimiocinas C-C tipo 5 (CCR5) na resistência contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV), assim como a participação de variações das moléculas do antígeno leucocitário humano (HLA) na modulação da carga viral nas infecções pelo vírus do Epstein-Barr (EBV), pelo HIV e pelo vírus da hepatite C (HCV) (DEBNATH; BANERJEE; BERK, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020; YILDIRIM *et al.*, 2021).

2.6.1 Genética das populações e Polimorfismos genéticos

A descoberta de gene como fator hereditário veio com o estudo de ervilhas de jardim, por Gregor Mendel, na década de 1860, devido ao seu interesse em entender o processo hereditário de características apresentadas nessa planta. Sendo assim, Mendel observou que os genes estavam presentes como um par e que cada gene possui duas formas diferentes, chamadas alelos, as quais podem se misturar de maneira aleatória por cruzamento. Além disso, a combinação de alelos foi nomeada de genótipo e as diferentes apresentações de um mesmo traço, como a variação da cor da semente da ervilha, foram nomeadas como fenótipo (GRIFFITHS *et al.*, 2013; PIERCE, 2013).

No início do século 20 começaram a ser realizados estudos em populações inteiras de organismos para o melhor entendimento sobre a sua variação genética, dando origem ao termo genética de populações (GRIFFITHS *et al.*, 2013; PIERCE, 2013). Nesse contexto, uma população é definida como um conjunto de diferentes indivíduos pertencentes a uma mesma espécie. Ao serem desenvolvidas tecnologias baseadas em DNA, como o sequenciamento genômico, as diferenças entre as sequências genéticas dos indivíduos puderam ser observadas através dos seus genomas, já que as leis estabelecidas por Mendel não se mostraram

representativas para o entendimento da transmissão genética em populações naturais. Essas diferenças encontradas nas sequências genéticas foram chamadas de polimorfismos (GRIFFITHS *et al.*, 2013).

Sendo assim, o estudo da relação de genes a traços pode ser iniciado através da identificação de *locus* polimórfico na sequência de DNA de uma população de organismos. Primeiramente, *locus* nesse contexto é definido como uma localização no genoma, a qual pode conter um só ou vários nucleotídeos (GRIFFITHS *et al.*, 2013; PIERCE, 2013). A forma mais simples de variação dentro de um *locus* é a diferença de nucleotídeo presente em um sítio de nucleotídeo único, denominando-se um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), responsável pelo desenvolvimento das variantes mais estudadas na população humana (Figura 9) (GRIFFITHS *et al.*, 2013; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020).

Figura 9 – Polimorfismos dentro de uma sequência genética.

Indivíduo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1	G	G	C	A	T	C	G	C	G	C	C	G	T	T	A	C	G	T	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	G	T	G	A	A	T	C
2	G	G	C	A	A	C	G	C	G	C	C	G	T	T	A	C	G	T	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	G	T	G	A	A	T	C
3	G	G	G	A	T	C	G	C	G	C	C	G	T	T	A	C	G	T	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	G	T	G	A	A	T	C
4	G	C	C	A	T	C	G	C	T	C	C	G	T	T	A	C	T	T	A	G	A	G	A	G	-	-	-	-	G	T	T	A	G	T	C
5	G	C	C	A	T	C	G	C	T	C	-	-	-	T	A	C	T	T	A	G	A	G	A	G	-	-	-	-	G	T	T	A	G	T	C
6	G	C	C	A	T	C	G	C	T	C	-	-	-	T	A	C	T	T	A	G	A	G	A	G	-	-	-	-	G	T	T	A	G	T	C
7	G	C	C	A	T	C	G	C	T	C	C	G	T	T	A	C	T	T	A	G	A	G	A	G	-	-	-	-	C	T	T	A	G	T	C

Fonte: GRIFFITHS *et al.* (2013, p. 555) – modificado.

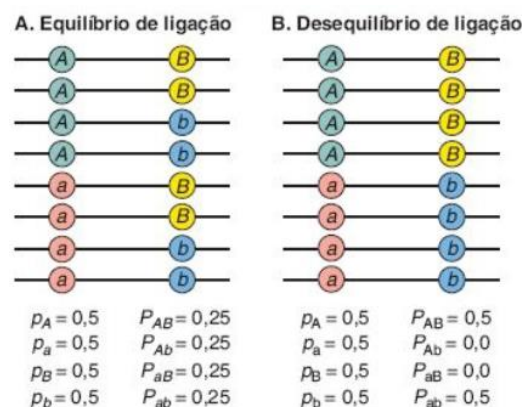
Sendo assim, os SNPs são os polimorfismos mais prevalentes na maioria dos genomas e possuem geralmente dois alelos, podendo estar presentes em diversas regiões gênicas, ou seja, em éxons, íntrons ou regiões reguladoras (DEHGHAN, 2018; GRIFFITHS *et al.*, 2013). Quando presentes em regiões codificantes, podem ser denominados como: 1) sinônimos, caso a codificação de aminoácidos a partir do gene não seja alterada, gerando uma proteína funcional, mesmo com a diferença de alelo; 2) não sinônimos, caso a codificação de aminoácidos seja alterada, gerando uma proteína alterada, devido a mudança de alelo; e 3) sem sentido, caso haja alteração, pela adição ou pela perda, da sinalização de parada, gerando uma proteína não funcional, pela diferença dos alelos (GRIFFITHS *et al.*, 2013). Alguns desses polimorfismos podem estar presentes fora de sequências codificantes, nomeando-os de SNPs silenciosos, os quais também podem ser usados como marcadores de processos quando se estuda a genética de uma população (GRIFFITHS *et al.*, 2013; NICA; DERMITZAKIS, 2013).

Como dito anteriormente, o desenvolvimento de traços está atrelado ao genótipo do indivíduo. Porém, alguns traços são regulados por diversos fatores genéticos e ambientais,

sendo chamados de traços complexos ou quantitativos (GRIFFITHS *et al.*, 2013; MAJUMDER; GHOSH, 2005). Por conta disso, em alguns casos, a percepção individual de alelos não é suficiente para o entendimento da sua função, necessitando que seja feita a combinação de alelos contidos em múltiplos *loci* no mesmo cromossomo homólogo. O nome que descreve essa combinação é *haplótipo*. Os *haplótipos* são importantes pois o processo que molda os padrões de variação genética, chamado de *recombinação*, cria novos *haplótipos*, podendo esses conferir propriedades únicas capazes de alterar a função da proteína sintetizada (GRIFFITHS *et al.*, 2013).

Normalmente, a associação entre os alelos ocorre de maneira aleatória, mantendo um equilíbrio nas suas frequências, ou seja, possuem a mesma probabilidade de ocorrência, constituindo um equilíbrio de ligação entre os dois *loci*. Porém, é possível que no processo de *recombinação* ocorra uma associação não aleatória entre os alelos presentes em dois *loci*, definido como *desequilíbrio de ligação* (LD). Sendo assim, o LD é representado quando um alelo específico no primeiro *locus* está associado a presença de um alelo específico no segundo *locus* mais frequentemente do que se espera, como consequência de nova mutação em um *locus* de um único cromossomo específico (DEGHAN, 2018; GRIFFITHS *et al.*, 2013; NEUMEYER; HEMANI; ZEGGINI, 2020) (Figura 10).

Figura 10 – Diferença entre uma associação alélica em equilíbrio e em *desequilíbrio*.



Fonte: GRIFFITHS *et al.* (2013, p. 570).

Portanto, a genética das populações é utilizada para analisar a quantidade e a distribuição da variabilidade genética, assim como para analisar as forças que controlam essa variação (GRIFFITHS *et al.*, 2013). São chamados de GWAS as pesquisas que identificam a presença dos polimorfismos, em *loci* polimórficos previamente sequenciados, através da comparação

entre diferentes grupos em uma mesma população. Por exemplo, comparando-se o genótipo entre indivíduos acometidos por uma doença e indivíduos não acometidos pela mesma doença, pode-se inferir que certa variante possui alguma relação com o desenvolvimento da doença em questão (DEHGHAN, 2018).

2.6.2 Traços quantitativos moleculares

O desenvolvimento de doenças passa por uma grande perturbação de múltiplos processos biológicos, cada um desses funcionando como uma variável de diferente impacto para o estabelecimento da doença. Essas variáveis são consideradas como traços quantitativos, os quais possuem fortes determinantes genéticos majoritariamente (MAJUMDER; GHOSH, 2005; NEUMEYER; HEMANI; ZEGGINI, 2020). Sendo assim, a localização das regiões genômicas que atuam como fatores de regulação para o fenótipo observado devem ser identificadas. Essas regiões recebem o nome de *loci* de traço quantitativo (QTL). O valor do QTL para observação de um fenótipo não é distribuído igualmente, havendo QTLs com maior e com menor efeito regulador no traço. Portanto, a análise desses *loci* é importante para mensurar as contribuições dos alelos para o desenvolvimento do traço (MAJUMDER; GHOSH, 2005).

Apesar da importância dos GWAS na identificação de SNPs que agem como *loci* marcadores para a apresentação de um fenótipo, esses estudos não conseguem explicar como essas variantes contribuem para o desenvolvimento de doenças (NEUMEYER; HEMANI; ZEGGINI, 2020; NICA; DERMITZAKIS, 2013; SMITH; FLODMAN, 2018). Isso se dá ao fato de que a maioria dos polimorfismos genéticos identificados estão presentes em regiões genômicas não-codificantes, ou seja, não são sequências de nucleotídeos que codificam uma proteína, mas podem estar envolvidos em processos de regulação gênica (NICA; DERMITZAKIS, 2013).

Denominam-se como QTL de expressão (eQTL) os *loci* envolvidos aos mecanismos de controle da expressão gênica. Estima-se que aproximadamente 88% dos genes possuem pelo menos um eQTL, os quais podem ser identificados a partir da análise quantitativa de RNAm combinada com a informação de genótipos gerados por GWAS (NEUMEYER; HEMANI; ZEGGINI, 2020; NICA; DERMITZAKIS, 2013). Estudos populacionais comparativos ao redor mundo já mostraram que por volta de 23% de *loci* possuem um nível de expressão média significativamente diferente em populações distintas. Além disso, grande parte das variações de expressão gênica entre populações tem sido explicadas pela diferença nas frequências

alélicas, sugerindo que os mecanismos que regulam essa expressão provavelmente possuem o mesmo fundamento, mesmo em populações distintas (NICA; DERMITZAKIS, 2013).

Outro processo de regulação gênica é o *splicing* alternativo, definido pela produção de múltiplas isoformas de transcritos a partir de um só gene. O desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento de RNA permitiu a observação do perfil do transcricional, resultando na identificação de variações genéticas que afetam o processo de *splicing* alternativo. Portanto, os QTLs envolvidos a esse processo são denominados de QTL de *splicing* (sQTL) (GARRIDO-MARTÍN *et al.*, 2021; PARK *et al.*, 2018; SMITH; FLODMAN, 2018). As análises desses *loci* ajudaram a esclarecer mecanismos envolvidos na ocorrência de múltiplas doenças, como a esquizofrenia, o câncer de mama e a doença de Alzheimer (GARRIDO-MARTÍN *et al.*, 2021; SMITH; FLODMAN, 2018). O processo de *splicing* possui uma relação íntima ao processo de transcrição, o que possibilita aos sQTLs ter efeito também na expressão gênica. Conseqüentemente, essas regiões genômicas podem contribuir tanto quanto ou até mais que as variantes que afetam a expressão gênica para a determinação de um traço complexo (GARRIDO-MARTÍN *et al.*, 2021).

2.6.3 COVID-19 e a genética do hospedeiro

Tendo em vista os diferentes quadros clínicos apresentados pelos indivíduos acometidos pela COVID-19, acredita-se que a variação genética apresentada pelos pacientes possa ter relação às diferentes formas da doença (OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). Sendo assim, a identificação de polimorfismos com efeito de interferir em importantes vias de ligação de células ou moléculas do hospedeiro ao microrganismo podem resultar em diferentes capacidades de resposta imune contra o vírus, modificando o potencial de progressão da doença (CASANOVA; ABEL, 2018; ELHABYAN *et al.*, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZAZ, 2020). Podemos citar como exemplo a variante $\Delta 32$ do gene *CCR5*, a qual pode conferir ao hospedeiro resistência ao vírus HIV ou atraso na progressão da doença quando presente (ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZAZ, 2020).

2.6.3.1 Genes relacionados com desenvolvimento da COVID-19

Tendo em vista a importância, já apresentada anteriormente, de algumas proteínas do hospedeiro para o ciclo viral e para a resposta imune do hospedeiro ao vírus, alterações nos genes responsáveis por codificar essas proteínas podem resultar em diferentes progressões da doença. Apesar disso, os estudos são inicialmente realizados em diversas regiões genômicas,

identificando as possíveis variantes em genes que podem estar associadas a doença, depois progredindo para estudos focados nesses genes candidatos. Variantes que afetam genes como *ECA2* e *TMPRSS2* são importantes nos mecanismos de entrada do vírus na célula do hospedeiro, pois uma proteína *ECA2* alterada pode resultar na resistência contra o vírus ou uma maior expressão dessa proteína pode favorecer a infecção viral (ANASTASSOPOULOU *et al.*, 2020; DEBNATH; BANERJEE; BERK, 2020; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020). Sendo assim, o gene *ECA1*, o qual tem função na regulação da expressão do gene *ECA2*, pode também ser um alvo promissor na associação com a progressão à doença grave (JACOBS *et al.*, 2021; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020). Como a proteína *TMPRSS2* é um facilitador da entrada viral na célula hospedeira, um aumento da sua expressão pode estar relacionado à susceptibilidade ao vírus (OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020).

Além disso, a regulação desses genes pode estar relacionada ao sexo, uma vez que o gene *ECA2* está localizado no cromossomo X e o gene *TMPRSS2* tem sua expressão regulada por hormônios andrógenos (BALKHI, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; TAY *et al.*, 2020). Essa hipótese é levantada devido a taxa de fatalidade de COVID-19 ser maior em homens (2,8%) do que em mulheres (1,7%), destacando a importância do esclarecimento dessa possível relação (BALKHI, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; TAY *et al.*, 2020).

Outra importante via é a de apresentação de antígenos virais, intermediadas pelas moléculas do sistema antígeno leucocitário humano (HLA), codificadas pelos genes do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (DEBNATH; BANERJEE; BERK, 2020). A variante HLA-B*46:01, por exemplo, demonstra uma menor ligação aos peptídeos virais, podendo significar em uma maior vulnerabilidade do hospedeiro ao vírus (ANASTASSOPOULOU *et al.*, 2020; DEBNATH; BANERJEE; BERK, 2020; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). Por outro lado, a variante HLA-B*15:03 exibe maior ligação aos peptídeos virais e pode conferir maior proteção ao vírus (ANASTASSOPOULOU *et al.*, 2020; DEBNATH; BANERJEE; BERK, 2020; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020).

De maneira semelhante, outros genes importantes em processos imunológicos podem estar associados ao agravamento da doença, como os genes de receptores de quimiocina *CCR2* e *CCR5* (MEHLOTRA, 2020; SCHMIEDEL *et al.*, 2020). Pacientes graves de COVID-19 apresentam expressão aumentada de *CCR2* em monócitos circulantes, assim como níveis elevados de ligantes de *CCR2* em fluido de lavado broncoalveolar, possivelmente devido a presença de uma variante no promotor do gene *CCR2*. Sendo assim, a inflamação patogênica

pode ser consequência do recrutamento excessivo de monócitos (SCHMIEDEL *et al.*, 2020). De maneira similar, uma inflamação exacerbada pode ser gerada a partir de diferentes expressões do gene *CCR5*, devido a variações nesse gene, podendo causar agravamento da doença. Variantes do gene *CCR5* já foram ligadas a uma maior taxa de mortalidade em pacientes com COVID-19 (MEHLOTRA, 2020). Esses genes estão apresentados na tabela 3 e as funções das suas proteínas codificadas estão apresentadas na tabela 4.

Tabela 3 – Variantes estudadas nos genes sem relação com a via do IFN-I para o melhor entendimento sobre o impacto da genética do hospedeiro na COVID-19.

Genes	Variantes	Referências
<i>ECA2</i>	rs2074192; rs2285666; rs879922; rs4646140; rs2097723; rs5934250; rs143936283; rs73635825; rs769062069; rs776995986	KIM; JEONG, 2021 GÓMEZ <i>et al.</i> , 2020 KHAYAT <i>et al.</i> , 2021 HUSSAIN <i>et al.</i> , 2020 BOSSO <i>et al.</i> , 2020 AL-MULLA <i>et al.</i> , 2020
<i>ECA1</i>	rs1799752	JACOBS <i>et al.</i> , 2021
<i>TMPRSS2</i>	rs2298659	KIM; JEONG, 2021
<i>HLA</i>	HLA-DRB1*08; HLA-C*07:29; HLA-C*08:01G; HLA-B*15:27; HLA-B*40:06; HLA-DRB1*04:06; HLA-B*46:01	NGUYEN <i>et al.</i> , 2020 WANG <i>et al.</i> , 2020 AMOROSO <i>et al.</i> , 2021
<i>ABO</i>	rs8176719; rs657152	MA <i>et al.</i> , 2021 KIM; JEONG, 2021
<i>CCR2</i>	rs6808074	SCHMIEDEL <i>et al.</i> , 2020
<i>CCR5</i>	rs333 rs1799987	MEHLOTRA, 2020
<i>IL6</i>	rs180079 rs1800795 rs1800797	KIM; JEONG, 2021 ULHAQ; SORAYA, 2020

Tabela 4 – Descrição das proteínas codificadas pelos genes descritos anteriormente, assim como sua função e sua ligação com a COVID-19.

Genes	<i>ECA2</i>	<i>ECA1</i>	<i>TMPRSS2</i>	<i>HLA</i>	<i>ABO</i>	<i>CCR2</i>	<i>CCR5</i>	<i>IL6</i>
Proteína	Enzima Conversora da Angiotensina 2	Enzima Conversora da Angiotensina 1	Serino Protease Transmembrana 2	Complexo Principal de Histocompatibilidade.	alpha 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferase	Receptor de quimiocina C-C tipo 2	Receptor de quimiocina C-C tipo 5	Interleucina 6
Função	Catalisa a clivagem da angiotensina II em angiotensina 1-7 vasodilatadora. Regulação das funções renais e cardiovasculares.	Catalisa a conversão da angiotensina I em angiotensina II. Regulação da pressão sanguínea e balanço de eletrólitos.	Envolvida em diversos processos fisiológicos e patológicos.	Apresentação de peptídeos a linfócitos.	Codifica proteínas relacionadas ao grupo ABO de Sistema sanguíneo.	Receptor o qual media a quimiostasia de monócitos.	Receptor de quimiocinas beta.	Citocina pró-inflamatória. Participa da maturação de linfócitos B.
Ação na COVID-19	Entrada viral em células do hospedeiro.	Envolvida na expressão de ECA2.	Facilita a entrada viral em células do hospedeiro através da clivagem da proteína S.	Apresentação de peptídeos virais.	Anticorpos Anti-A têm sido relacionados à prevenção da ligação do vírus ao seu receptor.	Alta expressão pode se associar a maior gravidade.	Expressão alterada pode alterar recrutamento de células inflamatórias.	Alta expressão dessa interleucina está associada a COVID-19 grave.

Fonte: ANASTASSOPOULOU *et al.* (2020); DEBNATH; BANERJEE; BERK (2020); JACOBS *et al.* (2021); MEHLOTRA (2020); OVSYANNIKOVA *et al.* (2020); ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZAZ (2020); SCHMIEDEL *et al.* (2020)

2.6.3.2 Genes da via do IFN-I relacionados a COVID-19

A via do IFN-I é uma importante via protetora contra infecções virais, portanto alterações nos genes que constituem essa via podem gerar modificações no seu funcionamento e causar um melhor ou pior combate ao vírus (BECK; AKSENTIJEVICH, 2020). O gene *IFNAR2* tem sido muito estudado por codificar a parte do receptor que se liga com maior afinidade às moléculas de IFN-I. Dessa forma, vários estudos têm identificado variantes nesse gene que podem ter relação com a forma que a COVID-19 se apresenta no indivíduo (AKTER *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2021; PAIRO-CASTINEIRA *et al.*, 2020; SCHMIEDEL *et al.*, 2020).

Em estudo realizado por Schmiedel *et al.* (2020) diversas variantes de risco para COVID-19 grave foram encontradas no cromossomo 21 sobrepostas ao gene *IFNAR2*, alterando a sua expressão em diversos tipos de células imunes. Os efeitos na expressão desse gene foram maiores em células NK, por meio da variante rs2284551. Além disso, essas variantes de risco podem alterar também a expressão de um gene vizinho, *IL10RB*, por meio da interação com um *enhancer* intrônico do promotor desse gene. Em estudo realizado por Ma *et al.* (2021) foi encontrada uma variante do gene *IFNAR2*, rs9976829, que se mostrou importante para a regulação do *splicing* alternativo tanto do gene *IFNAR2* quanto do gene *IL10RB*, principalmente em tecido pulmonar. Além disso, essa variante também se mostrou importante na diferente expressão desses dois genes em diferentes tipos de tecido, sendo esse um bom alvo de estudo para entender a sua relação com a infecção por SARS-CoV-2.

Em estudo realizado por Pairo-Castineira *et al.* (2020) foi analisada a relação entre diferentes genes para conseguir entender melhor os mecanismos genéticos da COVID-19 crítica. Dessa forma, uma variante no gene *IFNAR2*, rs2236757, destacou-se pela significância estatística demonstrada pela presença dessa variante em pacientes com a doença crítica, indicando ainda que a relação dessa variante com a doença seja através da diferente expressão desse receptor nas células. Além disso, esse estudo esclarece também que uma maior expressão dessa subunidade do IFNAR leva a uma maior proteção contra a doença e que mutações de perda de função nesse gene podem ser associadas tanto a COVID-19 grave quanto a maior gravidade a outras infecções virais.

Akter *et al.* (2021) realizou em seu estudo diversas análises comparativas *in silico* com diferentes apresentações da subunidade 2 do receptor de IFN-I, analisando também a diferença entre suas afinidades pela molécula de IFN. As formas proteicas P136R e P136S, variantes identificadas como rs768348126 e rs746695388 respectivamente, demonstraram a menor afinidade pela molécula de IFN. Através da utilização de mais ferramentas de análise *in silico*,

a variante P136R se demonstrou altamente patogênica, sendo um bom alvo a ser estudado em pacientes que apresentam a forma grave da doença. Além disso, nesse mesmo estudo foram feitas análises *in silico* de variantes intrônicas as quais podem alterar a expressão de IFNAR2 no indivíduo caso presentes. Dessas variantes, rs2250226, rs2300371 e rs6517156 mostraram uma menor expressão dessa subunidade do receptor, enquanto as variantes rs2252650, rs2284550, rs2834158, rs2834164 e rs2834165 mostraram afetar os mecanismos de *splicing* desse gene podendo deixar o indivíduo com maior risco de desenvolvimento da COVID-19 grave.

O gene *IFNAR1*, apesar de ser mencionado como uma possível causa de interferência na via quando modificado, suas variantes não têm sido muito utilizadas para estudos na COVID-19 (ZHANG *et al.*, 2020). Por outro lado, as variantes desse gene têm importância em outras doenças virais, como a variante rs2257167, e podem ser pesquisadas em indivíduos que desenvolveram a doença grave para verificar uma possível correlação (DE WEERD *et al.*, 2020). Estudo realizado por Pairo-Castineira *et al.* (2020) aponta que a variante rs74956615, próximo a região codificante do gene *TYK2*, o qual codifica uma proteína transdutora de sinal que fica ligada ao ICD da *IFNAR2*. Alterações nesse gene podem interferir na captação do sinal do receptor quando identifica a molécula de IFN-I, associando-se ao desenvolvimento da doença grave.

Os genes estimulados por interferon (ISGs) induzidos por IFN-I também são importantes para a resposta antiviral (SCHOGGINS, 2019). ISGs são definidos como quaisquer genes induzidos durante uma resposta por IFN de qualquer tipo. O gene *IFITM3* é um ISG antiviral que inibe a entrada de vírus nas células do hospedeiro (ALGHAMDI *et al.*, 2020; KIM; JEONG, 2021; SCHOGGINS, 2019). Em estudos realizados por Alghamdi *et al.* (2020) e Kim, Jeong (2021) foram encontradas variantes desse gene, rs12252 e rs6598045, as quais foram relacionadas ao desenvolvimento de doença grave, ou seja, a um maior risco ao indivíduo quando entra em contato com a doença, nas populações Chinesa e Árabe. Outros ISGs importantes são os genes *OAS*, responsáveis por ativarem RNase L latente e resultar na degradação do material genético do vírus, impedindo assim a sua replicação (SCHMIEDEL *et al.*, 2020; SCHOGGINS, 2019). Em estudo realizado por Schmiedel *et al.* (2020) foi encontrada uma variante no gene *OAS1*, rs2057778, e uma variante no gene *OAS3*, rs2010604, as quais apresentaram a expressão alterada dos seus respectivos genes em pacientes com COVID-19 grave.

Por fim, PRRs são essenciais para a identificação do vírus causador da doença e para o início de resposta contra esse vírus, como já foi explicado anteriormente. O gene *IFIH1* é responsável pela codificação de um receptor RIG-1-like, conhecido como MDA5, o qual tem a função de identificar RNA intracelulares e ativar a resposta imune inata e ajudar na imunidade humoral e na imunidade mediada por células (MAITI, 2020). Maiti (2020) encontrou uma variante deste gene, rs1990760, na população afro-americana que diminui a expressão de IFN- β e, portanto, tem o potencial de deixar o indivíduo mais vulnerável à infecção pelo SARS-CoV-2. Os genes participantes da via do IFN-I estão apresentados abaixo na Tabela 5 e a função das suas proteínas codificadas estão descritas na Tabela 6.

Tabela 5 – Variantes estudadas nos genes da via do IFN-I no contexto da COVID-19.

Genes	Variantes	Referência
<i>IFNAR2</i>	rs9976829; rs1332014803; rs751841284; rs1568885326; rs1190725243; rs758825586; rs1286287301; rs147496374; rs773793948; rs772583115; rs1265189745; rs768348126; rs746695388; rs2250226; rs2300371; rs6517156; rs2252650; rs2284550; rs2834158; rs2834164; rs2834165; rs2236757; rs2284551.	MA <i>et al.</i> , 2021 AKTER <i>et al.</i> , 2021 PAIRO-CASTINEIRA <i>et al.</i> , 2020 SCHMIEDEL <i>et al.</i> , 2020
<i>IFIH1</i>	rs1990760.	MAITI, 2020
<i>IFITM3</i>	rs12252; rs6598045	ALGHAMDI <i>et al.</i> , 2020 KIM; JEONG, 2021
<i>OAS1</i>	rs2057778	SCHMIEDEL <i>et al.</i> , 2020
<i>OAS3</i>	rs2010604	
<i>TYK2</i>	rs74956615	PAIRO-CASTINEIRA <i>et al.</i> , 2020 SOLIMANI; MEIER; GHORESCHI, 2021

IFIH1: Interferon induzido com o Domínio C da Helicase 1.

Tabela 6 – Descrição das proteínas codificadas pelos genes da via do IFN-I, assim como sua função e sua ligação com a COVID-19.

Genes	<i>IFNAR2</i>	<i>IFIH1</i>	<i>IFITM3</i>	<i>OAS1</i>	<i>OAS3</i>	<i>TYK2</i>
Proteína	Subunidade 2 do receptor de interferon do tipo I.	Proteína 5 associada à diferenciação de melanoma (MDA5), um receptor RIG-1- <i>like</i> .	Proteína transmembrana 3 induzida por interferon.	2'-5'-oligoadenilato sintetase 1.	2'-5'-oligoadenilato sintetase 3.	Tirosina quinase 2
Função	Ligação de alta afinidade aos IFN-I.	Detecção de RNAs e estruturas secundárias, ativando resposta pró-inflamatória.	Restringe a entrada de diversos vírus em células do hospedeiro.	Degrada RNA viral pela ativação de RNase L latente.		Associa-se ao ICD do IFNAR1 e transduz o sinal por fosforilação das subunidades do receptor.
Ação na COVID-19	Detecção de moléculas de IFN-I para ativar resposta antiviral.	Detecção de RNA viral intracelular e ativa resposta imune inata.	Pode inibir a formação de poros para fusão membranar entre o vírus e a célula do hospedeiro.	Inibe a replicação viral.		Transdução de sinal para ativação da resposta antiviral.

IFIH1: Interferon induzido com o Domínio C da Helicase 1. Fonte: AKTER *et al.* (2021); PAIRO-CASTINEIRA *et al.* (2020); SCHMIEDEL *et al.* (2020); SCHOGGINS (2019); ZHANG *et al.* (2020)

Portanto, tendo em vista o possível papel da genética do hospedeiro na evolução clínica de doenças infecciosas e do papel protetor da via do IFN-I contra a infecção pelo SARS-CoV-2, faz-se importante a pesquisa de polimorfismos, os quais podem interferir no funcionamento da via do IFN-I, no gene *IFNAR2*. As alterações identificadas pelos códigos rs2250226 (T>A/T>C), rs2236757 (A>G), rs2252650 (A>T), rs2284551 (A>G) demonstraram possuir uma importância na evolução da COVID-19 grave em estudos anteriores (AKTER *et al.*, 2021; PAIRO-CASTINEIRA *et al.*, 2020; SCHMIEDEL *et al.*, 2020).

3 HIPÓTESES

- A ocorrência da COVID-19 grave pode estar associada a fatores como sexo e idade.
- O desfecho clínico dos pacientes com COVID-19 grave pode ser influenciado por fatores como sexo, idade e presença de comorbidades.
- Os polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650, rs2284551 no gene *IFNAR2* em pacientes com COVID-19 influenciam na gravidade da doença.
- Os polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650, rs2284551 no gene *IFNAR2* influenciam o desfecho clínico de pacientes com COVID-19 grave.

4 OBJETIVO GERAL/ OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar nos grupos leve/moderado e grave:
 - Frequência de pacientes do sexo masculino e feminino e suas idades.
 - Avaliar o efeito de variáveis sociodemográficas sobre a gravidade da doença.
 - Associar a frequência alélica dos polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650, rs2284551 no gene *IFNAR2* em pacientes diagnosticados com COVID-19 com o desenvolvimento da doença grave.
- Avaliar nos grupos de alta hospitalar e óbito:
 - Frequência de pacientes do sexo masculino e feminino e suas idades.
 - Avaliar o efeito de variáveis sociodemográficas sobre o desfecho clínico.
 - Presença de comorbidades.
 - Investigar a influência das comorbidades sobre o desfecho clínico.
 - Associar a frequência alélica dos polimorfismos rs2250226, rs2236757, rs2252650, rs2284551 no gene *IFNAR2* em pacientes diagnosticados com COVID-19 com os diferentes desfechos clínicos.

5 METODOLOGIA

5.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo e analítico.

5.2 Aspectos éticos

Este trabalho foi submetido e aceito no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (CEP/UFC/PROPESQ) por meio da Plataforma Brasil, recebendo os números 36139220.6.0000.5054 e 40615320.9.0000.5054 como Certificado de Apresentação de

Apreciação Ética (CAAE) e 4.346.280 e 4.505.911 como números dos pareceres. Os pareceres do CEP estão disponíveis na seção de anexos (ANEXOS B e C). O estudo foi realizado conforme as premissas da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

5.3 Coleta de amostras

Foram coletadas amostras de sangue total de pacientes (idade maior ou igual a 18 anos) diagnosticados com COVID-19 não vacinados, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), entre os meses de janeiro e maio de 2021. As amostras dos pacientes com a doença grave foram provenientes do Hospital Instituto José Frota (IJF, Fortaleza, Ceará), onde os pacientes encontravam-se internados em UTI específica para esta doença (UTI-COVID). Já as amostras dos pacientes com a doença leve/moderada foram provenientes do Posto de Saúde Anastácio Magalhães (Fortaleza, Ceará).

Foram considerados como leves/moderados os pacientes que não necessitaram de internação e graves os pacientes internados em UTI que apresentaram dessaturação ($SpO_2 < 94\%$) ou desenvolvimento de ARDS, resultando no total de 122 pacientes (40 leves/moderados e 82 graves). Essas amostras foram, então, enviadas ao Laboratório de Imunologia Celular e Molecular (LIMCEMO), localizado na Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará (UFC) onde foram aliquotadas e armazenadas em freezer, na temperatura de -20°C .

5.4 Análise de prontuários médicos

A análise de prontuários só esteve disponível para os pacientes graves, pelo sistema ARS vitae, sendo incluídos 82 pacientes graves no estudo, de acordo com os resultados dos testes diagnósticos e sintomas apresentados.

5.5 Extração de DNA

Para realização dos testes de genotipagem, foi realizada a extração do DNA, por meio de *beads* magnéticas, utilizando as alíquotas de sangue total coletadas dos pacientes. Esse método foi executado de forma automatizada, utilizando o equipamento KingFisher em conjunto com o kit *MagMax DNA Multi-Sample Ultra 2.0*, ambos fornecidos pela empresa Applied Biosystems. Sendo assim, primeiramente foram preparadas uma placa contendo 500 μL de solução de lavagem I, duas placas contendo 500 μL de solução de lavagem II e uma placa contendo 70 μL de solução de eluição. Em seguida, foi preparada a placa de amostras, onde

foram adicionados em ordem: 30 μL de solução *Enhancer*; 200 μL da amostra de sangue total de cada paciente, em diferentes poços; e 30 μL de solução contendo proteinase K, para remoção de proteínas, como nucleases, presentes na amostra. As placas foram adicionadas ao equipamento, na devida ordem, para início da atividade da proteinase K. Enquanto isso, preparou-se o mix de *DNA Binding Bead*, para que o material genético fosse isolado por meio da ligação às beads, utilizando 200 μL de solução de ligação e 20 μL de solução contendo as beads magnéticas para cada poço. Ao fim da atividade da proteinase K, a placa de amostras foi retirada do equipamento e se adicionou 220 μL do mix de *DNA Binding Bead* a cada poço. A placa foi novamente inserida no equipamento, prosseguindo às etapas de lavagem, para isolamento e purificação do DNA através de magnetismo, e de eluição, onde o material genético é desassociado das beads para ser recuperado em solução.

5.6 Quantificação de DNA

Após obter o DNA das amostras dos pacientes foi realizada a quantificação desse ácido nucleico para descobrir a concentração de DNA contida em cada eluição. Esse método foi realizado por meio de um espectrofotômetro para microvolumes do tipo NanoDrop™ Lite, fornecido pela empresa Applied Biosystems. Sendo assim, como os ácidos nucleicos absorvem a luz no comprimento de onda de 260 nm e a sua concentração é medida baseada na quantidade de luz absorvida. Além disso, também foi avaliada a pureza deste material, devido a capacidade do equipamento de detectar contaminantes, como proteínas, no comprimento de onda de 280nm. Fazendo-se uma relação entre 260/280 foram aceitas as amostras de DNA que apresentaram um valor entre 1.8 e 2.0, aproximadamente.

5.7 Normalização da concentração de DNA extraído

Conhecendo-se a concentração de DNA presente nas eluições resultantes do processo de extração, foi-se estabelecido uma concentração padrão para utilização das amostras nos testes de genotipagem. A partir disso, garante-se que nenhum resultado obtido pelos testes foi decorrente de diferentes concentrações do material genético presente na solução. Dessa forma, definiu-se 20 ng/ μL como padrão para os testes de genotipagem, sendo necessário a diluição das eluições as quais apresentaram um valor maior em relação ao padrão. As soluções que demonstraram valores inferiores a 20 ng/ μL foram utilizadas no teste com leves alterações de protocolo.

5.8 Genotipagem

Obtendo-se as amostras de DNA em concentração padronizada, iniciaram-se os testes de genotipagem para os polimorfismos rs2250226 (GRCh38.p14 chr21 NC_000021.9:g.33260011T>A/T>C; variante intrônica), rs2236757 (GRCh38.p14 chr21 NC_000021.9:g.33252612A>G; variante intrônica), rs2252650 (GRCh38.p14 chr21 NC_000021.9:g.33245645A>T; variante intrônica), rs2284551 (GRCh38.p14 chr21 NC_000021.9:g.33246008A>G; variante intrônica) no gene *IFNAR2* (GRCh38.p14 NC_000021.9; codificante da subunidade 2 do receptor de interferon alfa e beta). Esse método foi realizado a partir da técnica de PCR em tempo real (qPCR), utilizando-se o equipamento *CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System*, fabricado pela empresa Bio-Rad. Para a execução dos testes foi preparada uma mistura a partir de água para infusão, *TaqPath™ ProAmp™ Master Mix* (MasterMix) e sondas *TaqMan™*, sendo os dois últimos reagentes fabricados pela empresa Applied Biosystems™.

A reação para uma única amostra necessitou de um volume final de 10 µL, sendo 9 µL da mistura preparada e 1 µL de DNA a ser testado. Essa proporção é necessária para que no volume final da reação esteja contido uma concentração de 2 ng/µL do material genético do paciente. Sendo assim, o volume necessário de cada componente da mistura, para uma reação, consistiu em: 3,75 µL de água para infusão; 5 µL de MasterMix; e 0,25 µL da sonda *TaqMan™*. Em amostras com a concentração entre 10 e 20 ng/µL, utilizou-se 8 µL da mistura e 2 µL de DNA, a fim de manter a concentração próxima a 2 ng/µL do material genético em 10 µL de solução (Tabela 7).

Tabela 7 - Proporção de reagentes para realização da qPCR.

COMPONENTES	VOLUME 1 POÇO	N (NÚMERO DE AMOSTRAS)	N (NÚMERO DE AMOSTRAS)
1º Master Mix	5 µL	$(5 \mu\text{L} \times n) + 10\%$	$(5 \mu\text{L} \times n) + 10\%$
2º Sonda	0,25 µL	$(0,25 \mu\text{L} \times n) + 10\%$	$(0,25 \mu\text{L} \times n) + 10\%$
3º Água purificada	2,75 µL	$(3,75 \mu\text{L} \times n) + 10\%$	$(2,75 \mu\text{L} \times n) + 10\%$
4º DNA (apenas na placa)	2 µL	1 µL	2 µL

Fonte: Elaborado pelo autor

Sendo assim, foram usadas placas de 96 poços para PCR para a leitura simultânea de diversas amostras. Ao ser alcançado o volume final de 10 μL , a placa foi selada e levada para um *spin* por 30 segundos antes de ser posta no equipamento para a leitura. No equipamento foram configurados os parâmetros de temperatura: 60°C por 30 segundos para pré-aquecimento; 95°C por 5 minutos para desnaturação inicial das fitas de DNA; 95°C por 15 segundos para desnaturação; e 60°C por 60 segundos para anelamento e extensão da fita. Além disso, determinou-se o uso de 40 ciclos, onde se repetem as temperaturas de desnaturação (95°C/15s) e de anelamento e extensão (60°C/60s).

Para cada polimorfismo pesquisado foi necessário recorrer a diferentes sondas, sendo necessário realizar 4 genotipagens por amostra. A identificação oferecida pela empresa (*Assay ID*) para esse material foi: C__16072720_20 (rs2250226); C__11354003_30 (rs2236757); C__16072673_10 (rs2252650); C__15961380_10 (rs2284551).

5.9 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada a partir da separação dos pacientes segundo gravidade da doença - leve/moderado (L/M) e grave (G) - e segundo desfecho clínico dos pacientes graves – alta (A) e óbito (O). Os dados dos pacientes graves foram apresentados tanto de maneira geral quanto segundo desfecho clínico. O programa Minitab foi usado para análise descritiva dos dados obtidos pelos prontuários virtuais e pelos testes de genotipagem e para gerar gráficos relativos a essa análise. Já o programa GraphPad Prism foi usado para a análise inferencial dos dados obtidos pelos prontuários virtuais e pelos testes de genotipagem. Para todos os alvos foi utilizado teste para verificar equilíbrio de Hardy-Weinberg, assim como seus genótipos passaram por avaliação de desequilíbrio de ligação a partir da frequência alélica observada na população estudada. O desequilíbrio de ligação foi identificado através do cálculo de D e a sua intensidade foi mensurada através da determinação de D' e de r^2 (GOOD, 2022; LEWONTIN, 1964; VANLIERE; ROSENBERG, 2008).

$$D = \hat{P}_{AB} - (p_A p_B)$$

$$D_{max} = \min(p_a q_b, p_b q_a)$$

$$D_{min} = \max(-p_a p_b, -q_a q_b)$$

$$D' = \frac{D}{D_{max}}$$

$$r^2 = \frac{(f_{AB} - f_A f_B)^2}{f_A(1 - f_A)f_B(1 - f_B)}$$

5.9.1 Estatística descritiva

Os dados foram separados de acordo com as seguintes informações do paciente: sexo (masculino e feminino); idade (20 a 39 anos, 40 a 59 anos e ≥ 60 anos); sintomas (dessaturação, dispneia, tosse, febre, entre outros); e comorbidades presentes (hipertensão, diabetes mellitus, obesidade, tabagismo, entre outros). Já os dados de genotipagem foram divididos em três perfis, de acordo com os alelos relacionados a cada polimorfismo: homocigoto para o alelo 1; homocigoto para o alelo 2; e heterocigoto. Todas essas informações foram divididas de acordo com o desfecho clínico do paciente para traçar um comparativo entre as características associadas a cada desfecho, porém apenas as informações de sexo, de idade e de genotipagem puderam ser utilizadas para traçar um comparativo entre as características associadas à gravidade da doença.

5.9.2 Estatística inferencial

Similarmente, para a análise de gravidade, os dados referentes a sexo e idade foram submetidos ao teste exato de Fisher para verificar diferença entre os grupos L/M e G. Já para análise do desfecho entre os pacientes graves, os dados referentes a sexo, idade, sintomas e comorbidades foram contemplados e submetidos ao teste exato de Fisher para verificar diferença entre os grupos A e O. Os dados de genotipagem foram submetidos ao teste chi quadrado de Pearson, tanto na análise de gravidade quanto na análise do desfecho, sendo depois comparados individualmente por teste exato de Fisher para determinação do modelo dominante e recessivo dos polimorfismos. A diferença entre os grupos comparados foi considerada significativa quando o valor de $p < 0,05$.

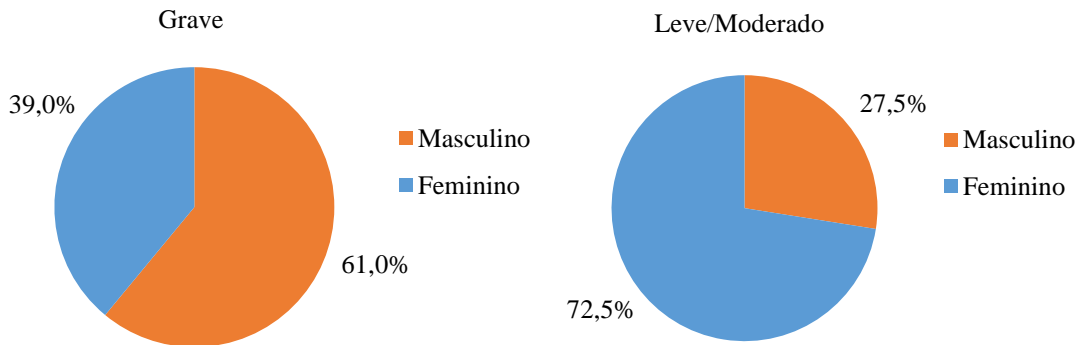
6 RESULTADOS

6.1 Análise dos dados sociodemográficos e clínicos

6.1.1 Gravidade

Dos 122 pacientes incluídos no estudo, 82 foram classificados com a doença grave (G) e 40 foram classificados com a doença leve ou moderada (L/M). Como os dados coletados dos pacientes L/M se restringiram aos dados sociodemográficos, a análise estatística de gravidade só foi realizada segundo idade e sexo. Sendo assim, foi observado que dentre todos pacientes graves incluídos no estudo, os indivíduos do sexo masculino (61%) foram mais prevalentes que do sexo feminino (39%). Já entre os pacientes do grupo L/M, o sexo feminino (72,5%) foi mais presente que o sexo masculino (27,5%) (Gráfico 1).

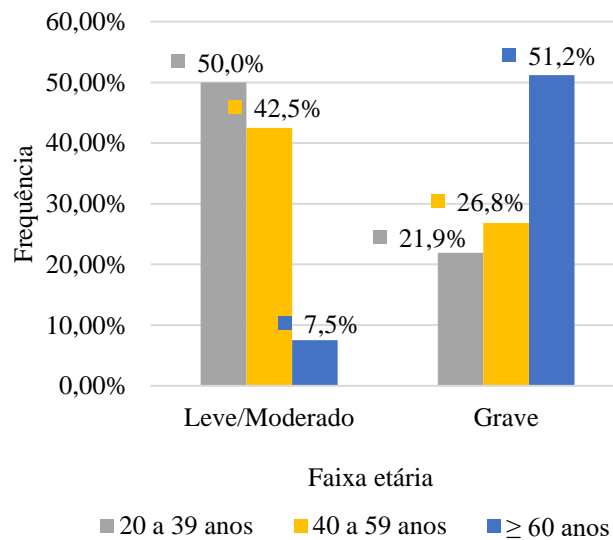
Gráfico 1 - Frequência de pacientes por sexo, segundo gravidade.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Da mesma forma, pacientes com idade acima de 60 anos (51,2%) destacaram-se em frequência no grupo G, sendo seguido por pacientes com idade de 40 a 59 anos (26,8%) e com idade de 20 a 39 anos (21,9%). Já no grupo L/M, a maior prevalência foi de pacientes entre 20 e 39 anos (50%), seguido por pacientes entre 40 e 59 anos (42,5%) e em menor número se encontraram os pacientes acima de 60 anos (7,5%) (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Frequência das faixas etárias dos pacientes, segundo gravidade.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando realizado o teste exato de Fisher para investigar significância entre as diferenças entre os grupos, ambas as categorias de idade e de sexo apresentaram um valor de $p < 0,05$, demonstrando haver diferenças significantes relativas a idade e sexo dos pacientes entre diferentes apresentações de gravidade da doença (Tabela 8).

Tabela 8 – Frequência de características sociodemográficas, segundo gravidade.

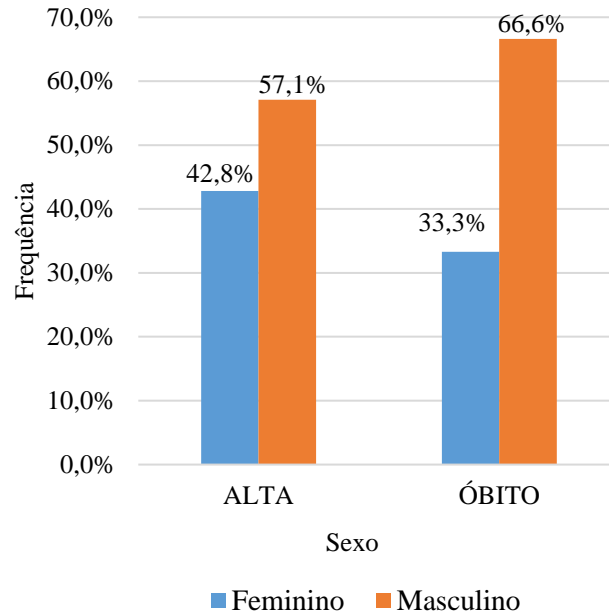
Categoria		Todos os Pacientes	Grave	Leve/Moderado	p
Sexo	Masculino	50	61	11	0,0009
	Feminino	32	61	29	
Idade	20 a 39 anos	18	38	20	< 0,0001
	40 a 59 anos	22	39	17	
	≥ 60 anos	42	45	3	
Total		122	82	40	

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.1.2 Desfecho clínico

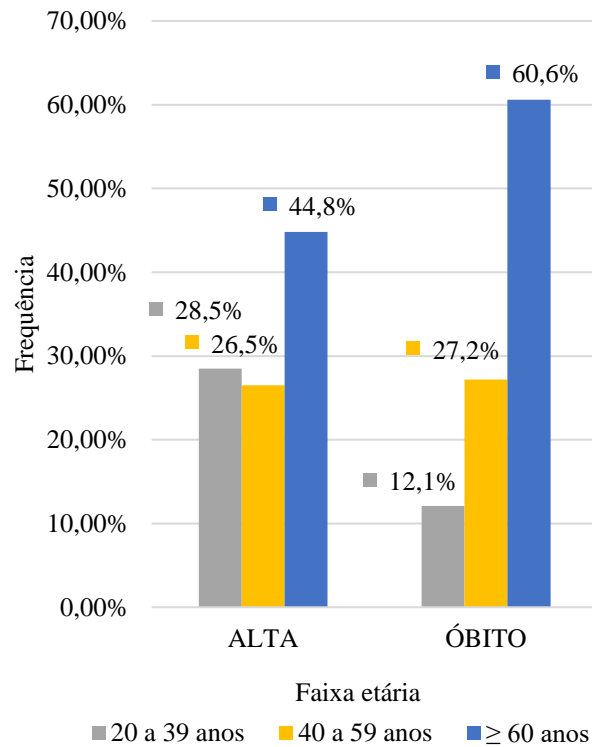
Quanto ao desfecho clínico, dos 82 pacientes graves avaliados, 49 receberam alta hospitalar (59,7%) e 33 foram a óbito (40,3%). Pacientes do sexo masculino foram mais prevalentes que do sexo feminino em ambos os grupos, distribuindo-se da seguinte forma: 1) A – 57,1% e 42,8%; 2) O – 66,6% e 33,3%, para os sexos masculino e feminino respectivamente (Gráfico 3). Da mesma forma, os dois grupos também tiveram maior frequência de pacientes acima de 60 anos, consistindo em 44,8% (A) e 60,6% (O). Entretanto, a faixa etária de 20 a 39 anos foi mais presente no grupo A quando em relação à faixa etária de 40 a 59 anos, representando 28,5% e 26,5% desse grupo respectivamente, enquanto no grupo O a faixa etária de 30 a 59 anos (27,2%) apresentou números superiores aos da faixa etária de 20 a 39 anos (12,1%) (Gráfico 4).

Gráfico 3 - Frequência do sexo dos pacientes, segundo desfecho.



Fonte: Elaborado pelo autor.

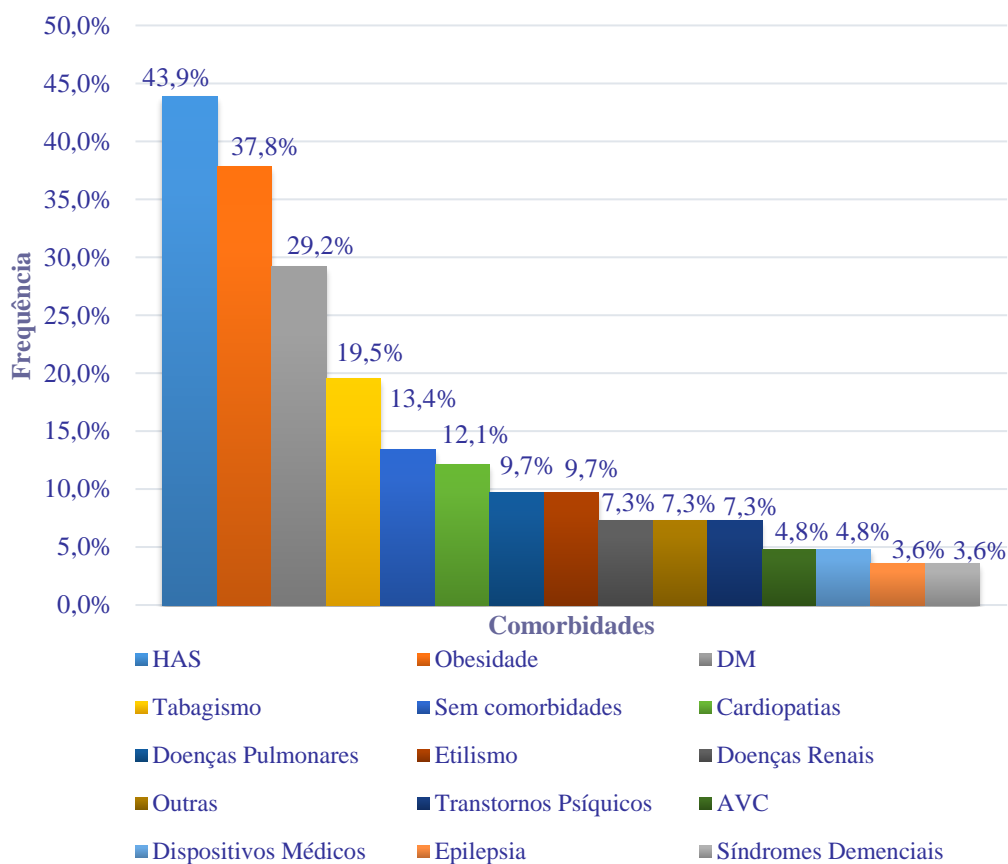
Gráfico 4 - Frequência das faixas etárias dos pacientes, segundo desfecho.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Entre as comorbidades, destacaram-se a hipertensão arterial sistêmica (HAS) presente em 43,9% dos pacientes, a obesidade (37,8%) e a diabetes mellitus (DM) presente em 29,2% dos pacientes (Gráfico 5). A DM não foi subdividida em seus diferentes tipos devido à falta de clareza na informação contida nos prontuários virtuais. Quanto aos sintomas apresentados, o mais frequente entre todos os pacientes foi a dessaturação (51,2%) seguida por dispneia (35,3%), tosse (34,1%), febre (31,7%) e sintomas gástricos (23,1%).

Gráfico 5 - Frequência de pacientes entre comorbidades.

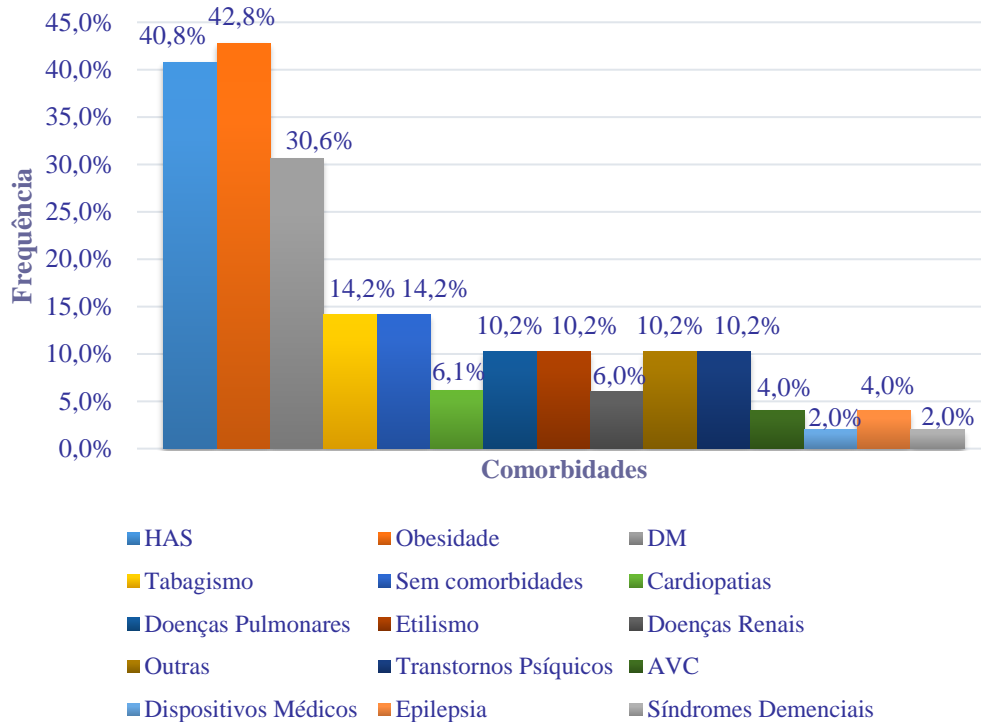


Fonte: Elaborado pelo autor

Tendo em vista as comorbidades, a obesidade, a HAS e a DM se destacaram nos pacientes que receberam alta, assim como na perspectiva geral, porém a obesidade teve uma maior frequência no grupo A, representando: 42,8%; 40,8%; e 30,6%, respectivamente. Já nos pacientes que evoluíram para óbito, a HAS se demonstrou predominante, estando presente em 48,4% dessa população, sendo seguida pela obesidade (30,3%) e pela DM, (27,2%). Nesse grupo, o tabagismo foi tão frequente quanto a DM, presente, igualmente, em 27,2% dessa

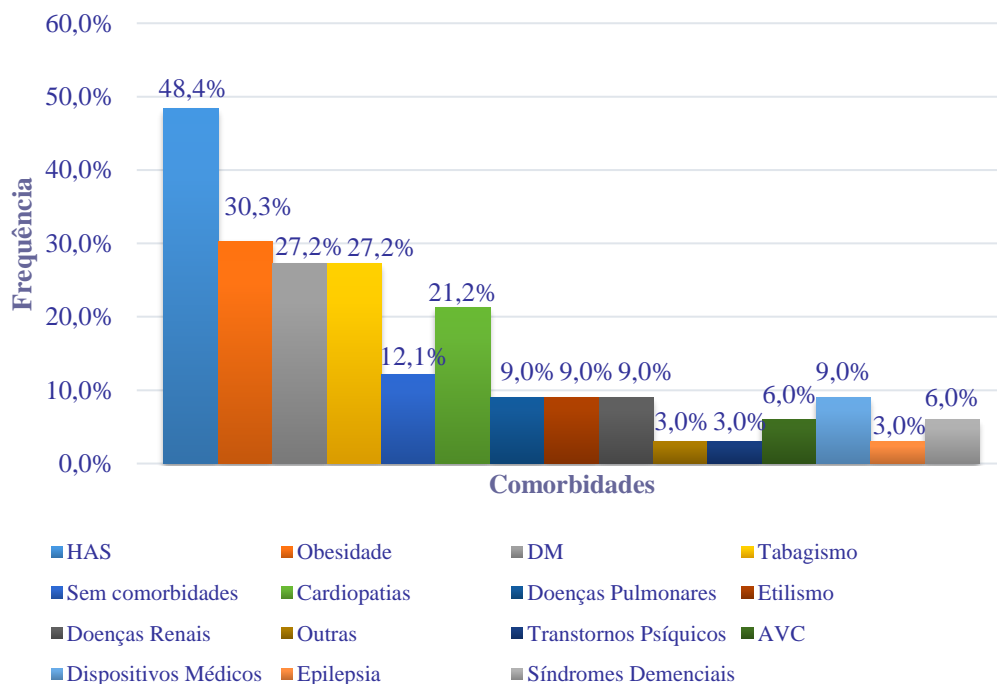
população. Outro destaque foi o alto número de pacientes cardiopatas no grupo O (21,2%) em comparação ao grupo A (6,1%). Esses dados podem ser observados nos Gráficos 6 e 7.

Gráfico 6 - Frequência de comorbidades dos pacientes do grupo A.



Fonte: Elaborado pelo autor

Gráfico 7 - Frequência de comorbidades dos pacientes do grupo O.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após visualização da distribuição de frequência relativa, segundo desfecho, das características sociodemográficas e clínicas, foi aplicado o teste exato de Fisher, para verificar se a distribuição dessas variáveis seria diferente entre os grupos, selecionando apenas algumas comorbidades. A categoria idade foi analisada por teste chi quadrado de Pearson. As comorbidades selecionadas foram: Obesidade; HAS; DM; Tabagismo; Cardiopatias; e Dispositivos Médicos. Apesar da diferença de proporção, nenhuma das características apresentou diferenças significantes, uma vez que os valores de p foram maiores que 0,05 (Tabela 9).

Tabela 9 – Frequência de características sociodemográficas e clínicas, segundo desfecho.

Categoria		Todos os Pacientes	Óbito	Alta	p
Sexo	Masculino	50	22	28	0,4899
	Feminino	32	11	21	
Idade	20 a 39 anos	18	4	14	0,1841
	40 a 59 anos	22	9	13	
	≥ 60 anos	42	20	22	
HAS		36	16	20	0,5064
Obesidade		31	10	21	0,3532
DM		24	9	15	0,8082
Tabagismo		16	9	7	0,1655
Cardiopatias		10	7	3	0,0809
Dispositivos Médicos		4	3	1	0,2974

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os sintomas mais frequentes nos pacientes do grupo A foram: dessaturação (55,1%); tosse (51,0%); e dispneia e febre (48,9% para ambos os sintomas). Um importante detalhe entre os sintomas desse grupo é a relevante presença de sintomas neurológicos, os quais estiveram presentes em 28,5% desses pacientes, enquanto não foram relatados sintomas neurológicos em pacientes que progrediram para óbito. Já no grupo O, os sintomas mais relatados foram: dessaturação (45,4%); sintomas gástricos (27,2%); e dispneia (15,1%). Nesse grupo foram observados sintomas que não estiveram presentes no grupo A, como choque (6,0%) e cianose periférica (6,0%), ainda que em número reduzido, assim como não foram relatados pacientes sem desconforto respiratório. A partir da frequência relativa nenhum sintoma foi selecionado para teste estatístico inferencial. A frequência dos sintomas em cada grupo, assim como no geral, pode ser visualizada na Tabela 10.

Tabela 10 – Frequência de sintomas, segundo desfecho.

SINTOMAS	FREQUÊNCIA ABSOLUTA			PORCENTAGEM		
	Óbito	Alta	Total	Óbito	Alta	Total
Adinamia	4	3	7	12,1%	6,1%	8,5%
Ageusia	1	2	3	3,0%	4,0%	3,6%
Anosmia	1	5	6	3,0%	10,2%	7,3%
Astenia	0	2	2	0%	4,0%	2,4%
Cansaço	0	1	1	0%	2,0%	1,2%
Cefaléia	2	8	10	6,0%	16,3%	12,1%
Choque	2	0	2	6,0%	0%	2,4%
Cianose periféria	2	0	2	6,0%	0%	2,4%
Convulsão	1	2	3	3,0%	4,0%	3,6%
Coriza	2	4	6	6,0%	8,1%	7,3%
Desconforto respiratório	4	6	10	12,1%	12,2%	12,1%
Dessaturação	15	27	42	45,4%	55,1%	51,2%
Disfagia	3	7	10	9,0%	14,2%	12,1%
Dispnéia	5	24	29	15,1%	48,9%	35,3%
Febre	2	24	26	6,0%	48,9%	31,7%
Hipertensão	1	2	3	3,0%	4,0%	3,6%
Hiporexia	1	3	4	3,0%	6,1%	4,8%
Hipotensão	1	2	3	3,0%	4,0%	3,6%
Insuficiência respiratória	4	4	8	12,1%	8,1%	9,7%
Mialgia	1	6	7	3,0%	12,2%	8,5%
Outros	12	7	19	36,3%	14,2%	23,1%
Quadro de síndrome gripal.	5	4	9	15,1%	8,1%	10,9%
Saturação >94%	3	6	9	9,0%	12,2%	10,9%
Sem desconforto respiratório	0	1	1	0%	2,0%	1,2%
Sintomas gástricos	9	10	19	27,2%	20,4%	23,1%
Sintomas neurológicos	0	14	14	0%	28,5%	17,0%
Sintomas pulmonares profundos	2	3	5	6,0%	6,1%	6,1%
Sintomas renais	1	1	2	3,0%	2,0%	2,4%
Taquicardia	2	0	2	6,0%	0%	2,4%
Taquidispneia	2	4	6	6,0%	8,1%	7,3%
Taquipneia	2	4	6	6,0%	8,1%	7,3%
Tosse	3	25	28	9,0%	51,0%	34,1%

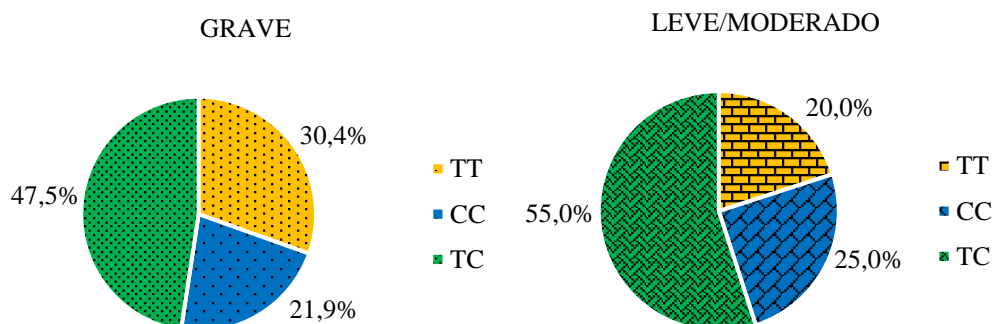
Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2 Genotipagem

6.2.1 Variante rs2250226

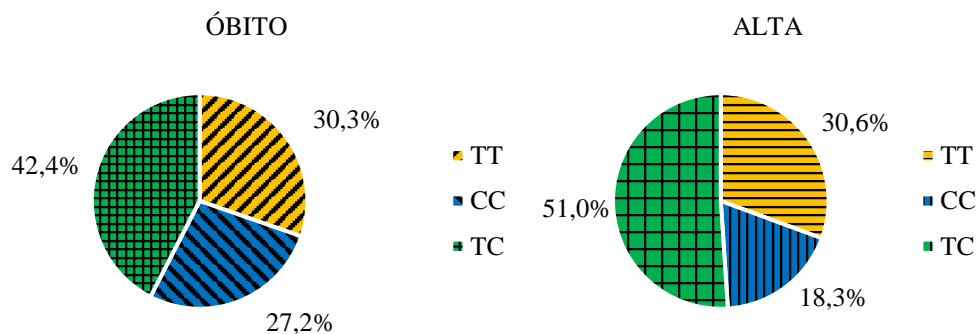
Entre todos os pacientes do grupo G genotipados para esse SNP, a maior parte demonstrou um perfil de heterozigose, estando presente tanto o alelo T quanto o alelo C, representando 47,5% da população total do estudo (Gráfico 8). Quanto aos pacientes do grupo L/M, o perfil de heterozigose ainda foi predominante (55%), mas a homozigose para o alelo C (25%) se mostrou mais presente que para o alelo T (20%). Ao compararmos os pacientes segundo desfecho, observamos que percebemos que no grupo A se mantém um grande número de heterozigotos (TC), equivalente a 51,0% dessa população, seguido por homozigotos do alelo C com 30,6% e do alelo T com 18,4%. Quando observamos o perfil presente no grupo O, percebemos um menor número de heterozigotos (42,4%), com relativo aumento nos homozigotos do alelo C (27,2%) (Gráfico 9).

Gráfico 8 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2250226 em todos os pacientes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 9 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2250226, segundo desfecho.

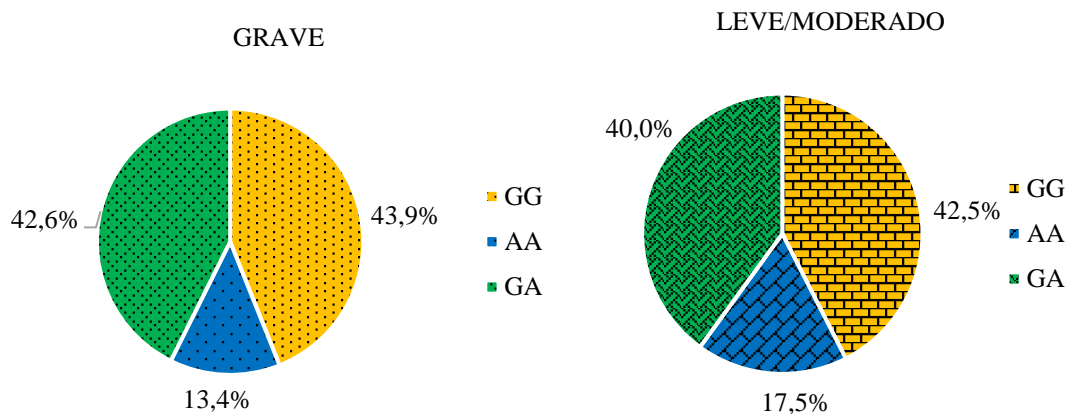


Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.2 Variante rs2236757

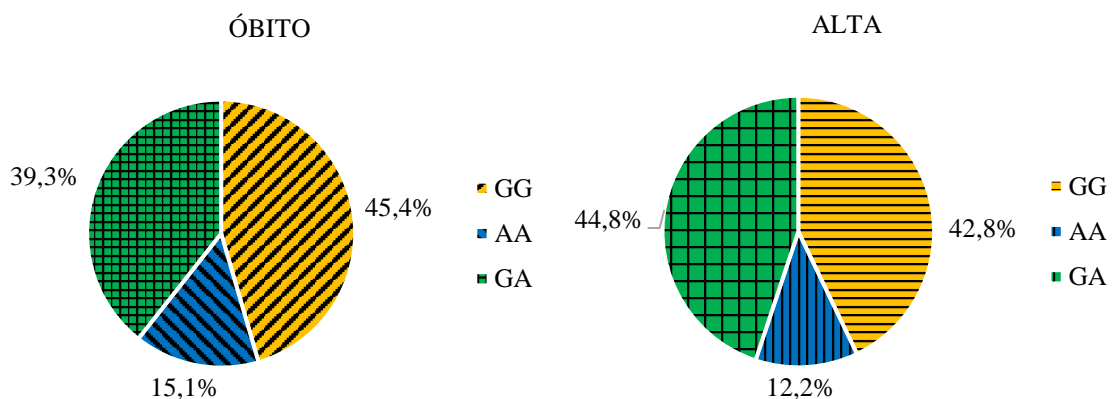
O perfil de homozigose para o alelo G prevaleceu representando 43,9% da população total do estudo, mas com grande proximidade do perfil de heterozigose (GA), estando presente em 42,6% de todos os pacientes. Quanto aos pacientes do grupo L/M, a homozigose para o alelo G foi predominante (42,5%), mas o perfil de heterozigose (40%) ainda se mostrou mais presente que a homozigose para o alelo A (20%) (Gráfico 10). Em relação aos desfechos, no grupo A se manteve uma distribuição similar ao observado no geral: 44,8% GA; 42,8% GG; 12,2% AA. Por outro lado, no grupo O, os homozigotos para o alelo G foram maiores em número (45,4%), com maior número de homozigotos para o alelo A (15,1%) e diminuição nos heterozigotos (39,3%) (Gráfico 11).

Gráfico 10 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2236757 em todos os pacientes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 11 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2236757, segundo desfecho.

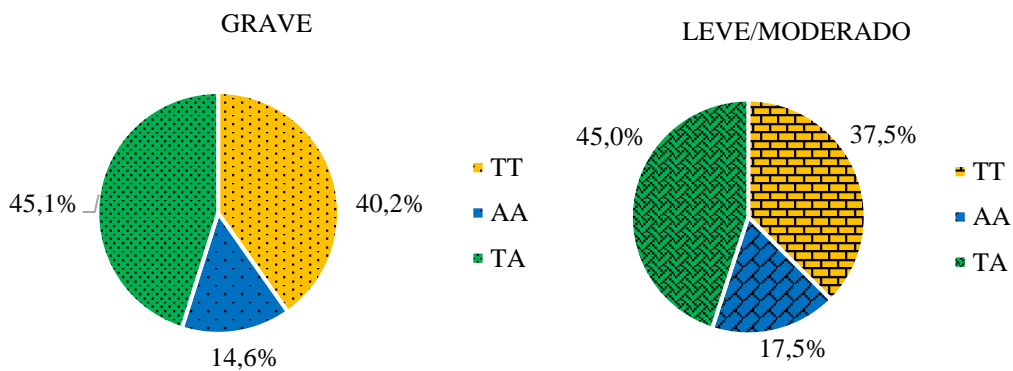


Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.3 Variante rs2252650

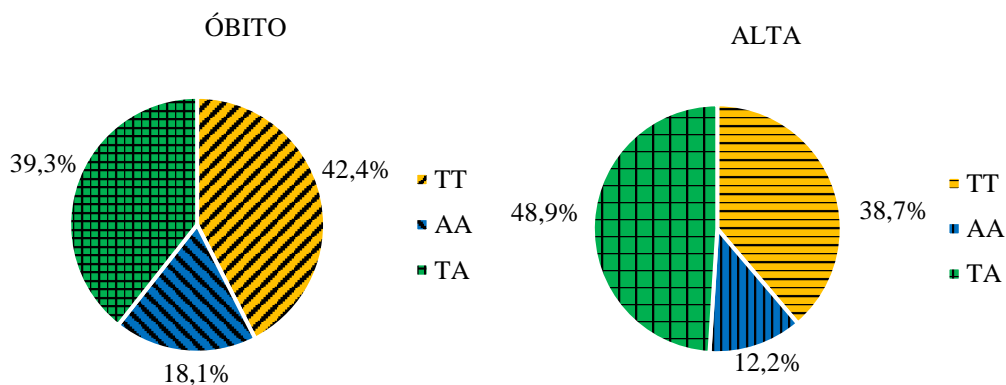
A população do grupo G demonstrou majoritária heterozigose (TA) para esse polimorfismo em relação aos homozigotos para cada alelo (45,1%; 40,2%; 14,6%, respectivamente). Quanto aos pacientes do grupo L/M, o perfil de heterozigose ainda foi predominante (45%), mas a homozigose para o alelo T (37,5%) ainda se mostrou mais presente que para o alelo A (17,5%) (Gráfico 12). Novamente, ao olhar o desfecho, o grupo A teve uma distribuição similar à população geral do grupo G, consistindo de 48,9% de heterozigotos, 38,7% de homozigotos para o alelo T e 12,2% de homozigotos para o alelo A. Já o grupo O apresentou um aumento no número de homozigotos, tanto para o alelo T (42,6%) quanto para o alelo A (18,1%), resultando também em uma redução no número de heterozigotos (39,3%) (Gráfico 13).

Gráfico 12 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2252650 em todos os pacientes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 13 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2252650, segundo desfecho.

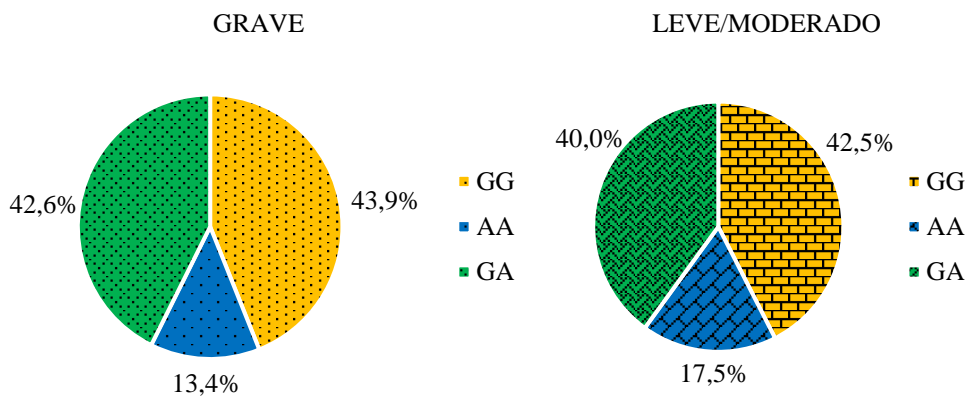


Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.4 Variante rs2284551

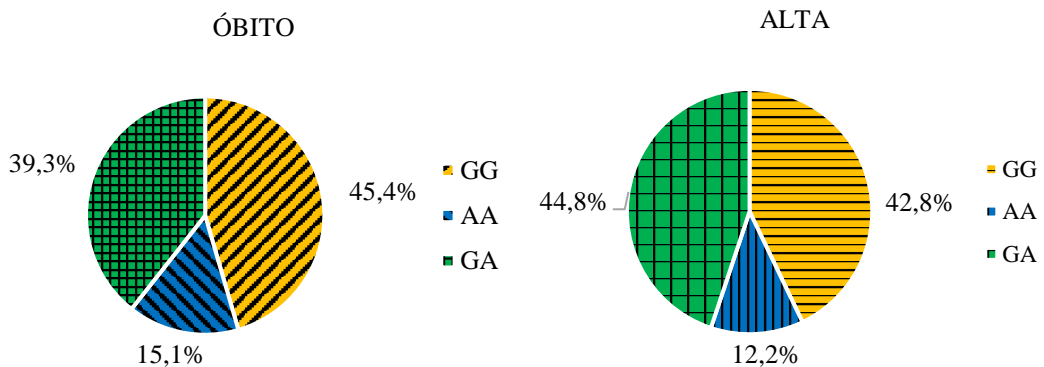
Por fim, esse SNP, de maneira geral, mostrou balanceamento entre o número de heterozigotos (GA) e de homozigotos para o alelo G, assim como o rs2236757, sendo esses perfis presentes em 42,6% e 43,9% dos pacientes respectivamente (Gráfico 14). Da mesma forma, os pacientes do grupo L/M mostraram predominância a homozigose para o alelo G (42,5%), mas o perfil de heterozigose (40%) ainda se mostrou mais presente que a homozigose o alelo A (20%). Observando os grupos de desfecho, percebemos novamente semelhança ao polimorfismo rs2236757, uma vez que o grupo A se dividiu em 44,8% AG, 42,8% GG e 12,2% AA e o grupo O obteve mais homozigotos para o alelo G (45,4%) do que heterozigotos (40,6%), aumentando também o número de homozigotos para o alelo A (15,1%) (Gráfico 15).

Gráfico 14 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2284551 em todos os pacientes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 15 – Distribuição de genótipos para o polimorfismo rs2284551, segundo desfecho.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.5 Estatística inferencial das variantes

Ao verificar a distribuição de frequência dos genótipos, foi realizado um teste chi quadrado de Pearson entre os grupos L/M e G, para verificar se havia diferença significativa entre os grupos de diferente gravidade da doença, e entre os grupos A e O, para verificar a relevância da diferença dos genótipos entre diferentes desfechos clínicos dos pacientes graves. Apesar de algumas diferenças nas porcentagens de distribuição dos genótipos entre os grupos serem aparentes, nenhuma das variantes apresentou valor de p significativo no teste chi quadrado ($p < 0,05$). Ainda assim, realizou-se teste exato de Fisher entre os genótipos para comparação individual entre eles e determinação dos modelos dominantes e recessivos.

Também foi realizado o cálculo de D para verificar desequilíbrio de ligação entre as variantes estudadas. A intensidade do desequilíbrio de ligação foi calculada através da determinação de D' e de r^2 . As variantes no presente estudo encontraram-se em desequilíbrio de ligação entre si, uma vez que os resultados de D entre todas as variantes foram maiores que 0. Por outro lado, as combinações com o polimorfismo rs2250226 demonstraram menor intensidade, na população estudada, do que as demais combinações, indicando que nessa população essa variante já está retornando a uma combinação aleatória entre os alelos, devido ao processo de recombinação (Tabela 11).

Tabela 11 – Variáveis determinantes do desequilíbrio de ligação.

Relação entre SNPs	D	Dmax	Dmin	D'	r ²
rs2250226 x rs2236757	0.182662591	0.185585192	- 0.308536012	0.984251969	0.601502531
rs2250226 x rs2252650	0.196822091	0.198384171	- 0.296744827	0.992125984	0.668534556
rs2250226 x rs2284551	0.182662591	0.185585192	- 0.308536012	0.984251969	0.601502531
rs2236757 x rs2252650	0.22065641	0.22065641	- 0.245246574	1	0.899732895
rs2236757 x rs2284551	0.229424214	0.229424214	- 0.229424214	1	1
rs2252650 x rs2284551	0.22065641	0.22065641	- 0.245246574	1	0.899732895

Fonte: Elaborado pelo autor.

Todos os polimorfismos passaram no teste de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$), mostrando que não há desvios da distribuição genotípica esperada em condições de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os dados de distribuição da frequência dos genótipos e divisão dos modelos dominante e recessivo para gravidade e para desfecho estão exibidos na tabela 12 e 13, respectivamente.

Tabela 12 – Frequência genotípica e modelos codominante, dominante e recessivo dos polimorfismos, segundo gravidade.

SNPs	Modelo	Genótipos	Frequência		OR (95% CI; p)
			Grave	Leve/Moderado	
rs2250226	Codominante	TT	25	8	Referência
		TC	39	22	1.76 (0.68-4.57; p = 0.2587)
		CC	18	10	0.57 (0.78-1.74; p = 0.4031)
		Total	82	40	p = 0.4724
	Dominante	TT	25	8	Referência
		TC + CC	57	32	1.57 (0.23–1.41; p = 0.2798)
	Recessivo	CC	18	10	Referência
		TC + TT	64	30	0.84 (0.34-2.04; p = 0.8191)
rs2236757	Codominante	GG	36	17	Referência
		GA	35	16	0.96 (0.42-2.21; p = 1.0000)
		AA	11	7	0.74 (0.24-2.25; p = 0.7737)
		Total	82	40	p = 0.8342
	Dominante	GG	36	17	Referência
		GA + AA	46	23	0.90 (0.37-2.18; p = 1.0000)
	Recessivo	AA	11	7	Referência
		GA + GG	71	33	0.73 (0.25-2.05; p = 0.5917)
rs2252650	Codominante	TT	33	15	Referência
		TA	37	18	1.70 (0.46-2.45; p = 1.0000)
		AA	12	7	0.77 (0.25-2.37; p = 0.7745)
		Total	82	40	p = 0.9079
	Dominante	TT	33	15	Referência
		TA + AA	37	18	0.88 (0.36-2.18; p = 0.8216)
	Recessivo	AA	12	7	Referência
		TA + TT	70	33	0.80 (0.29-2.24; p = 0.7911)
rs2284551	Codominante	GG	36	17	Referência
		GA	35	16	0.96 (0.42-2.21; p = 1.0000)
		AA	11	7	0.74 (0.24-2.25; p = 0.7737)
		Total	82	40	p = 0.8342
	Dominante	GG	36	17	Referência
		GA + AA	46	23	0.90 (0.37-2.18; p = 1.0000)
	Recessivo	AA	11	7	Referência
		GA + GG	71	33	0.73 (0.25-2.05; p = 0.5917)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 13 – Frequência genotípica e modelos codominante, dominante e recessivo dos polimorfismos, segundo desfecho.

SNPs	Modelo	Genótipos	Frequência		OR (95% CI; p)
			Óbito	Alta	
rs2250226	Codominante	TT	10	15	Referência
		TC	14	25	0.84 (0.29-2.36; p = 0.7951)
		CC	9	9	1.50 (0.44-5.09; p = 0.5496)
		Total	82	40	p = 0.6007
	Dominante	TT	10	15	Referência
		TC + CC	23	34	1.01 (0.38–2.64; p = 1.0000)
	Recessivo	CC	9	9	Referência
		TC + TT	24	40	1.66 (0.58-4.78; p = 0.4177)
rs2236757	Codominante	GG	15	21	Referência
		GA	13	22	0.82 (0.31-2.14; p = 0.8092)
		AA	5	6	1.16 (0.29-4.54; p = 1.0000)
		Total	82	40	p = 0.8631
	Dominante	GG	15	21	Referência
		GA + AA	18	28	0.90 (0.37-2.18; p = 0.8248)
	Recessivo	AA	5	6	Referência
		GA + GG	28	43	1.28 (0.35-4.59; p = 0.7490)
rs2252650	Codominante	TT	14	19	Referência
		TA	13	24	0.76 (0.29-2.02; p = 0.6288)
		AA	6	6	1.35 (0.36-5.11; p = 0.7409)
		Total	82	40	p = 0.9417
	Dominante	TT	14	19	Referência
		TA + AA	19	29	0.88 (0.36-2.18; p = 0.8216)
	Recessivo	AA	6	6	Referência
		TA + TT	27	43	1.59 (0.46-5.44; p = 0.5312)
rs2284551	Codominante	GG	15	21	Referência
		GA	13	22	0.82 (0.31-2.14; p = 0.8092)
		AA	5	6	1.16 (0.29-4.54; p = 1.0000)
		Total	82	40	p = 0.8631
	Dominante	GG	15	21	Referência
		GA + AA	18	28	0.90 (0.37-2.18; p = 0.8248)
	Recessivo	AA	5	6	Referência
		GA + GG	28	43	1.28 (0.35-4.59; p = 0.7490)

Fonte: Elaborado pelo autor.

7 DISCUSSÃO

Como dito anteriormente, a COVID-19 é uma doença com um amplo espectro clínico, podendo incluir a apresentação de sintomas brandos e inespecíficos assim como sintomas mais característicos da doença (BOBAN, 2021; CARFÌ; BERNABEI; LANDI, 2020; DHAMA *et al.*, 2020; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; KAUR; GUPTA, 2020; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYZAZ, 2020; SHAH *et al.*, 2020; TAY *et al.*, 2020). Sendo assim, começou-se a estudar que tipo de fatores poderiam estar associados a evolução à gravidade da doença. A partir disso, relatou-se um maior acometimento da doença grave em indivíduos do sexo masculino, de idade avançada e com presença de comorbidades (BOBAN, 2021; DHAMA *et al.*, 2020; FUNK; LAFERRIÈRE; ARDAKANI, 2020; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020).

No presente estudo, os dados sociodemográficos dos pacientes, quando separados por gravidade da doença, apresentaram diferença aparente. Ao comparar fatores como sexo e idade entre pacientes com a doença leve ou moderada e pacientes com a doença grave, a análise estatística resultou em um valor de $p < 0,05$ demonstrando diferença significativa entre esses fatores, segundo gravidade. Em estudo realizado por Dieter *et al.* (2023) em Porto Alegre, os fatores sexo e idade foram comparados entre pacientes com COVID-19 internados e não internados em UTI, porém apenas o sexo demonstrou diferença significativa entre os grupos. Já em estudo realizado no Paquistão, onde apenas 6% da população possui idade superior a 60 anos, não foi observada diferença entre sexo entre pacientes assintomáticos, sintomáticos e controles saudáveis, porém houve significância na diferença entre idades de pacientes leves e de pacientes graves (MASOOD *et al.*, 2021).

Segundo Bigdelou *et al.* (2022) a relação entre idade e o risco aumentado de infecção e progressão da doença em pessoas idosas pode ocorrer devido a processos imunorreguladores, os quais causam uma resposta imune mais fraca, menor tolerância a sinais inflamatórios e maior produção de citocinas próinflamatórias. Da mesma forma, Chen *et al.* (2021), ao estudar a relação entre envelhecimento e COVID-19, ressaltam a importância da desregulação do sistema imune para a contribuição da patogênese da doença a partir de uma patologia imune. Quando o sistema imune tem a sua atividade desregulada é criado um ambiente próinflamatório desbalanceado, o qual pode potencializar as respostas inflamatórias ao vírus, resultando em elevada liberação de citocinas inflamatórias, podendo contribuir até mesmo com a ocorrência de manifestações sistêmicas, como a neuro-COVID. Além disso, a expressão aumentada de ECA2 pode estar associada ao processo de envelhecimento, independente do sexo, e ao uso de

tratamentos hipertensivos, a qual pode ser considerada uma comorbidade comum entre os idosos. Outro possível fator pode ser um retardo na produção de IFN-I ou na intensidade da resposta gerada, devido ao envelhecimento, resultando em uma função reduzida de células NK e baixa imunidade mediada por células, comprometendo a eliminação do vírus (BIGDELOU *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2021).

Devido a limitações no processo de coleta de informações dos pacientes não internados em UTI, não foi possível comparar a presença de comorbidades segundo gravidade da doença. Porém, na literatura é estabelecido que a hipertensão, a obesidade e a diabetes se encontram entre as comorbidades mais comuns em pacientes com COVID-19 grave (KOMPANIYETS *et al.*, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). De maneira similar, no presente estudo a HAS, a obesidade e a DM estiveram muito presentes entre os pacientes graves, sendo frequentes em 43,9%, 37,8% e 29,2% dessa população respectivamente.

Por outro lado, ao comparar pacientes graves de diferentes desfechos (alta e óbito), os mesmos fatores sociodemográficos como sexo e idade não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos, no presente estudo. Ainda assim, já foi observada na literatura uma relação entre esses fatores com a sobrevivência ou não dos pacientes de COVID-19. No estudo realizado em Porto Alegre, tanto idade ($p < 0,0001$) quanto sexo ($p = 0,004$) apresentaram significância quando comparados entre sobreviventes e não sobreviventes, considerando pacientes críticos, internados em UTI, e pacientes não críticos, sem internação em UTI (DIETER *et al.*, 2023). Já, em estudo realizado no México, pacientes graves foram divididos em grupos de sobreviventes e não sobreviventes, demonstrando diferença significativa tanto para idade ($p < 0,001$) quanto para sexo ($p = 0,018$) quando comparados entre si (FRICKE-GALINDO *et al.*, 2022).

Quanto a relação do sexo do paciente à gravidade e ao desfecho clínico parece ocorrer principalmente através da diferente produção hormonal entre indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino. Já foi demonstrado que os hormônios andrógenos e estrógenos possuem uma atividade imunorreguladora, podendo influenciar a imunidade inata e adaptativa. Sendo assim, existe a hipótese de que as mulheres possuem um favorecimento na resposta a infecções devido à presença de genes importantes na resposta imune no cromossomo X, resultando em um desbalanceamento genético que torna a sua resposta antiviral mais eficiente do que a dos homens (BIGDELOU *et al.*, 2022). Além disso, a regulação da expressão de proteínas importantes no ciclo viral pode ser dependente do sexo. As mulheres possuem mais de uma cópia do gene *ECA2*, já que ele está localizado no cromossomo X, podendo gerar uma vantagem

na regulação da expressão desse gene, além de que os hormônios andrógenos regulam a expressão do gene *TMPRSS2*, possibilitando maior expressão dessa proteína nos homens (BALKHI, 2021; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020; TAY *et al.*, 2020).

Alguns estudos têm estabelecido a ligação entre um aumento na taxa de letalidade da COVID-19 quando há a presença de comorbidades como doenças cardiovasculares, diabetes, doença pulmonar crônica e hipertensão (KOMPANIYETS *et al.*, 2021; ÖZTÜRK; TAŞOVA; AYAZ, 2020). De acordo com os dados analisados nesse estudo, não houve diferença significativa na presença de qualquer comorbidade quando os pacientes graves foram separados por desfecho clínico. Apesar de comorbidades como tabagismo, cardiopatias e uso de dispositivos médicos terem se destacado no grupo O em relação ao grupo A quanto a frequência relativa, nenhuma dessas comorbidades apresentou valor de p significativo quando aplicados testes estatísticos (0,1655; 0,0809; 0,2974, respectivamente).

Em estudo realizado em Porto Alegre, por Dieter *et al.* (2023), hipertensão, diabetes, doença renal crônica, câncer e doença pulmonar obstrutiva crônica demonstraram significância na comparação entre sobreviventes e não sobreviventes. Já no México, a presença de doença respiratória preexistente e a cardiopatia isquêmica se destacaram significativamente, enquanto que o tabagismo, a diabetes do tipo 2 e a hipertensão não apresentaram diferença significativa entre pacientes graves sobreviventes e não sobreviventes (FRICKE-GALINDO *et al.*, 2022). Na Indonésia, as comorbidades encontradas com maior frequência em pacientes com COVID-19 que evoluíram a óbito foram: a hipertensão (42,3%); as doenças cardiovasculares (30,7%); e a diabetes (28,2%). A obesidade esteve presente em 15,3%, destacando-se menos que outras comorbidades nesse estudo (DJAHARUDDIN *et al.*, 2021).

A presença de comorbidades pode resultar numa maior taxa de letalidade devido a diferentes mecanismos, incluindo: a desregulação imunológica, assim como a idade, favorecendo um estado inflamatório (diabetes, obesidade e hipertensão); o fornecimento de um reservatório para a replicação viral e persistência da infecção (obesidade); a desregulação na expressão de ECA2, a qual em diferentes momentos da infecção pode facilitar a instalação da infecção ou causar disfunção cardiovascular (cardiopatia e hipertensão) (BIGDELOU *et al.*, 2022).

A partir dos avanços nas técnicas de biologia molecular diversos estudos passaram a ser conduzidos a fim de avaliar a relação entre os genes e o desenvolvimento de doenças, demonstrando que a variação genética pode estar envolvida a predisposição ou a resposta à infecções (CASANOVA; ABEL, 2018; SMITH; FLODMAN, 2018; YILDIRIM *et al.*, 2021).

Considerando as diferentes apresentações clínicas causadas pela COVID-19 e a importância da via do IFN-I na proteção a infecções virais, as variações nos genes envolvidos nessa via podem estar associadas à progressão da doença (BECK; AKSENTIJEVICH, 2020; OVSYANNIKOVA *et al.*, 2020). Akter *et al.* (2021) utilizaram em seu estudo o banco de dados GTEx portal, relatando que as variantes rs2250226 e rs2252650 possuem relação com a expressão do IFNAR2 no tecido pulmonar por meio da presença de sQTL e de eQTL. Esses SNPs não codificantes foram utilizados no presente estudo para comparação entre gravidade e desfecho de pacientes com COVID-19, não sendo observado um resultado significativo na comparação entre os grupos, tanto em relação a gravidade quanto em relação a desfecho, quando realizada a análise estatística.

Ainda durante o início da pandemia causada pelo SARS-CoV-2, pesquisadores ao redor do mundo decidiram compartilhar informações e resultados parciais de seus estudos populacionais sobre genética do hospedeiro relacionada a COVID-19, criando o *COVID-19 host genetics initiative* (HGI). No site do HGI, em junho de 2021 foram liberados resultados comparando pacientes críticos e pacientes saudáveis, onde os SNPs rs2250226 e rs2252650 apresentaram diferenças significativas, mesmo com o limiar de significância menor ($p < 5 \times 10^{-8}$) (COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE, 2020; THE COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE, 2021a). Por outro lado, a comparação entre pacientes hospitalizados e não hospitalizados por COVID-19, essas variantes não demonstraram significância em resultados de janeiro de 2021 (THE COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE, 2021b).

Com base em alvos de gravidade divulgados pelo HGI, Schmiedel *et al.* (2020) utilizaram o banco de dados DICE para verificar a expressão desses SNPs em diferentes células do sistema imune. Nesse estudo foi identificado que a variante rs2284551 poderia alterar tanto a expressão de IFNAR2 quanto a expressão de ILRB10, principalmente em células NK, podendo ter importância na gravidade de pacientes com COVID-19. Sendo assim, no presente estudo essa variante foi utilizada na comparação entre os grupos de gravidade e de desfecho, mas não demonstrou resultados significativos em ambas comparações. Por outro lado, assim como as variantes anteriores, o SNP rs2284551 demonstrou diferença significativa na comparação entre pacientes críticos e pacientes saudáveis em resultados liberados pelo HGI em junho de 2021, mas não significativa entre pacientes hospitalizados e não hospitalizados por COVID-19 em janeiro de 2021 (THE COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE, 2021a, 2021b).

Païro-Castineira *et al.* (2020) comparou em seu estudo casos críticos de COVID-19 de UTIs do Reino Unido com pacientes hospitalizados, recrutados através do Consórcio Internacional de Infecções Respiratórias Agudas Graves, a fim de identificar variantes genéticas no hospedeiro associadas à doença crítica. Apesar do SNP rs2236757 ter demonstrado diferença significativa na população analisada por Païro-Castineira *et al.* (2020) no presente estudo a diferença entre os grupos estudados não foi significativa. Por outro lado, esse alvo foi utilizado na população mexicana na comparação entre desfecho clínicos de pacientes com COVID-19 grave, onde o seu modelo codominante não apresentou significância, mas o seu modelo dominante demonstrou diferença significativa. Observando os dados desse estudo também é possível ver uma diferença significativa na presença de cada alelo individualmente, inferindo-se uma possível relação entre o alelo A e a ocorrência de óbito na população (FRICKE-GALINDO *et al.*, 2022). Em estudo realizado na população brasileira, esse alvo também foi avaliado na comparação de desfecho entre pacientes com COVID-19, porém a diferença só foi considerada significativa após ajuste para fatores que se mostraram importantes na determinação da gravidade e do desfecho da doença, como sexo, idade e etnia. Dessa forma, a homozigose para o alelo A na variante rs2236757 foi associada tanto ao risco de admissão em UTI quanto ao risco de óbito em pacientes não brancos, após ajuste para sexo e idade (DIETER *et al.*, 2023). Por outro lado, a comparação entre pacientes hospitalizados e não hospitalizados por COVID-19 nos estudos presentes no HGI, não demonstrou significância em resultados de janeiro de 2021 (THE COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE, 2021b).

A partir dos resultados encontrados no estudo realizado por Dieter *et al.* (2022) é possível perceber a importância do tratamento dos dados, principalmente na presença de fatores confundidores, como foi feito pelos pesquisadores, para que se possa chegar a um resultado representativo e significativo. Como o presente estudo foi realizado com pequena amostragem, a remoção desses fatores se mostrou inaplicável para alcançar um resultado representativo, deixando o questionamento se após o tratamento desses dados haveria significância no resultado.

Recentemente, alguns estudos tem analisado a importância da concentração de IFNAR solúvel (sIFNAR) no soro de pacientes para a progressão de gravidade da doença. Yaugel-Nova *et al.* (2023) compararam em seu estudo as concentrações de IFNAR1 e IFNAR2 entre pacientes de COVID-19 com diferentes gravidades na população francesa, sendo observado que as concentrações de IFNAR1 aparentaram ser inversamente proporcionais a gravidade da doença, enquanto as concentrações de IFNAR2 aumentaram em pacientes com COVID-19

grave. Essa maior concentração de IFNAR2 pode estar relacionada a mecanismos de escape do vírus à resposta imune, interferindo na ativação dessa via, o que estimula o organismo a produzir mais receptores para responder à infecção (YAUGEL-NOVOA *et al.*, 2023). De maneira similar, Fricke-Galindo *et al.* (2023) procurou em seu estudo por uma associação entre os níveis plasmáticos de sIFNAR2 e desfecho clínico em pacientes com COVID-19 grave na população mexicana. Pacientes sobreviventes apresentaram maior concentração de sIFNAR2 em relação a pacientes não sobreviventes, sendo um possível marcador de mortalidade entre pacientes graves. Os resultados desses estudos enfatizam a importância da via do IFN-I e principalmente da expressão do IFNAR2 na progressão da doença.

Além disso, outras variantes do gene IFNAR2 (rs3153, rs2834158 e rs1051393) também já foram estudadas e apresentaram possível associação ao risco de mortalidade. As variantes rs3153 e rs2834158 se encontram em regiões intrônicas, assim como a rs2236757. Já a rs1051393 é uma variante missense que muda o décimo aminoácido de fenilalanina para valina, localizado na região do peptídeo de sinal, afetando o tráfego do receptor pela membrana (DIETER *et al.*, 2023).

Após distribuição dos genótipos, o modelo codominante não demonstrou valores estatísticos significantes para associar algum genótipo ao risco de gravidade ou de óbito pela doença. Sendo assim, os modelos dominante e recessivo foram determinados a fim de investigar mais profundamente se a presença do alelo dominante ou recessivo poderia estar associada ao risco de gravidade ou de óbito pela doença. Apesar disso, esses modelos também não demonstraram valores estatísticos significantes para qualquer dessas associações.

A comparação dos genótipos entre os SNPs do gene *IFNAR2* demonstrou desequilíbrio de ligação entre eles, sendo de menor intensidade na variante rs2250226. Similarmente, Fricke-Galindo *et al.* (2022) estudaram diferentes SNPs nesse gene (rs2236757, rs2229207, rs3153, rs1051393 e rs2834158), verificando, a existência de desequilíbrio de ligação entre eles, com exceção do rs2236757 que não obedeceu ao equilíbrio de Hardy-Weidenberg nessa população.

Por fim, Masood *et al.* (2021) fizeram uma análise de transcriptoma em pacientes de COVID-19 sintomáticos e assintomáticos, a fim de identificar biomarcadores precoces no hospedeiro associados a doença. Nos resultados, perceberam que os pacientes assintomáticos apresentavam uma resposta de IFN-I maior que os pacientes sintomáticos, indicando a importância da maior produção dessas moléculas para apresentação mais branda da doença e melhor desfecho clínico, assim como já fora sugerido por estudos anteriores.

Apesar de não ter encontrado significância nos resultados ao comparar a presença dos polimorfismos nos diferentes grupos, houveram dificuldades no andamento do estudo que podem ter limitado a análise de dados, como foi mencionado a correção dos fatores confundidores. Além disso, outras limitações como incapacidade de acessar novos resultados emitidos pelo HGI, deixando a apresentação de dados mais atualizados comprometida na discussão. A principal limitação do estudo foi relativa a captação de amostras, por questões de possíveis vies na população, que se apresentaram durante o período, como a vacinação. Portanto, mesmo que o ideal fosse que o grupo leve/moderado tivesse um número pacientes próximos ao grupo grave e que ambos fossem provenientes do mesmo hospital, essa foi a possibilidade que nos foi apresentada.

8 CONCLUSÃO

- Indivíduos do sexo masculino apresentam maior risco de gravidade para doença.
- Indivíduos com idade maior ou igual a 60 anos apresentam maior risco de gravidade para doença.
- Fatores como sexo e idade não estão associados ao risco de evolução a óbito pela doença na coorte de estudo.
- Nenhuma comorbidade foi associada ao risco de evolução a óbito pela doença na coorte de estudo.
- Nenhum sintoma foi associado ao risco de evolução a óbito pela doença na coorte de estudo.
- Os SNPs rs2250226, rs2236757, rs2252650 e rs2284551 não mostraram associação ao risco de gravidade ou de evolução a óbito pela doença.
- Os SNPs rs2250226, rs2236757, rs2252650 e rs2284551 se encontram em desequilíbrio de ligação na população estudada.
- Os SNP rs2250226 está retornando ao equilíbrio de combinação alélica com os outros polimorfismos na população estudada, devido a menor intensidade do desequilíbrio de ligação.

REFERÊNCIAS

- AKTER, S. et al. Deleterious single nucleotide polymorphisms (SNPs) of human IFNAR2 gene facilitate COVID-19 severity in patients: a comprehensive in silico approach. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 0, n. 0, p. 1–17, 2021.
- AL-MULLA, F. et al. A comprehensive germline variant and expression analyses of ACE2, TMPRSS2 and SARS-CoV-2 activator FURIN genes from the Middle East: Combating SARS-CoV-2 with precision medicine. **bioRxiv**, 2020.
- ALGHAMDI, J. et al. Interferon-induced transmembrane protein-3 genetic variant rs12252 is associated with COVID-19 mortality. **Genomics**, v. 113, p. 1733–1741, 2020.
- ALMEHDI, A. M. et al. SARS-CoV-2 spike protein: pathogenesis, vaccines, and potential therapies. **Infection**, v. 49, n. 5, p. 855–876, 2021.
- AMENTA, E. M. et al. Postacute covid-19: An overview and approach to classification. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 7, n. 12, p. 1–7, 2020.
- AMOROSO, A. et al. HLA and AB0 Polymorphisms May Influence SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 Severity. **Transplantation**, v. 105, n. 1, p. 193–200, 2021.
- ANASTASSOPOULOU, C. et al. Human genetic factors associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease severity. **Human Genomics**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2020.
- AZKUR, A. K. et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 75, n. 7, p. 1564–1581, 2020.
- BAGHERI, A. et al. International Immunopharmacology Interferon-inducer antivirals : Potential candidates to combat COVID-19. **International Immunopharmacology**, v. 91, p. 1–17, 2021.
- BALKHI, M. Y. Mechanistic understanding of innate and adaptive immune responses in SARS-CoV-2 infection. **Molecular Immunology**, v. 135, p. 268–275, 2021.
- BECK, D. B.; AKSENTIJEVICH, I. Susceptibility to severe COVID-19. **Science**, v. 370, n. 6515, p. 404–405, 2020.
- BIGDELOU, B. et al. COVID-19 and Preexisting Comorbidities: Risks, Synergies, and Clinical Outcomes. **Frontiers in Immunology**, v. 13, n. May, p. 1–16, 2022.
- BOBAN, M. Novel coronavirus disease (COVID-19) update on epidemiology, pathogenicity, clinical course and treatments. **International Journal of Clinical Practice**, v. 75, n. 4, p. 1–7, 2021.
- BOSSO, M. et al. The Two Faces of ACE2: The Role of ACE2 Receptor and Its Polymorphisms in Hypertension and COVID-19. **Molecular Therapy - Methods and Clinical Development**, v. 18, n. September, p. 321–327, 2020.

CARFÌ, A.; BERNABEI, R.; LANDI, F. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. **JAMA**, v. 369, n. 6, p. 603–605, 2020.

CARTER-TIMOFTE, M. E. et al. Deciphering the Role of Host Genetics in Susceptibility to Severe COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. April, p. 1–14, 2020.

CASANOVA, J.; ABEL, L. Human genetics of infectious diseases: Unique insights into immunological redundancy. **Seminars in Immunology**, v. 36, n. April, p. 1–12, 2018.

CHEN, Y. et al. Aging in COVID-19 : Vulnerability , immunity and intervention. **Ageing Research Reviews**, v. 65, 2021.

CONASS. **Painel nacional: COVID-19**. Disponível em:
<<https://www.conass.org.br/painelconasscovid19/>>.

CONASS. **Painel Ceará : COVID-19**. Disponível em:
<<https://www.conass.org.br/painelconasscovid19/>>.

COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. **European Journal of Human Genetics**, v. 28, n. 6, p. 715–718, 2020.

DA SILVA, R. P. et al. Circulating Type I Interferon Levels and COVID-19 Severity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. May, p. 1–11, 2021.

DE WEERD, N. A. et al. Structural integrity with functional plasticity: what type I IFN receptor polymorphisms reveal. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 108, n. 3, p. 909–924, 2020.

DEBNATH, M.; BANERJEE, M.; BERK, M. Genetic gateways to COVID-19 infection: Implications for risk, severity, and outcomes. **FASEB Journal**, v. 34, n. 7, p. 8787–8795, 2020.

DEGHAN, A. Genome-Wide Association Studies. In: **Genetic Epidemiology: Methods and Protocols**. [s.l.] Evangelos Evangelou, 2018. v. 1793p. 37–48.

DHAMA, K. et al. Coronavirus Disease 2019–COVID-19. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 4, p. 1–48, 2020.

DIETER, C. et al. Polymorphisms in ACE1 , TMPRSS2 , IFIH1 , IFNAR2 , and TYK2 Genes Are Associated with Worse Clinical Outcomes in COVID-19. **Genes**, v. 14, n. 1, p. 29, 2023.

DJAHARUDDIN, I. et al. Comorbidities and mortality in COVID-19 patients. **Gaceta sanitaria**, v. 35 (S2), p. S530–S532, 2021.

ELHABYAN, A. et al. The role of host genetics in susceptibility to severe viral infections in humans and insights into host genetics of severe COVID-19 : A systematic review. **Virus Research**, n. January, 2020.

FRICKE-GALINDO, I. et al. IFNAR2 relevance in the clinical outcome of individuals with severe COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 13, n. July, p. 1–9, 2022.

FUNK, C. D.; LAFERRIÈRE, C.; ARDAKANI, A. A Snapshot of the Global Race for Vaccines Targeting SARS-CoV-2 and the COVID-19 Pandemic. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. June, p. 1–17, 2020.

GARRIDO-MARTÍN, D. et al. Identification and analysis of splicing quantitative trait loci across multiple tissues in the human genome. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, 2021.

GHOSH, N.; NANDI, S.; SAHA, I. A review on evolution of emerging SARS-CoV-2 variants based on spike glycoprotein. **International Immunopharmacology**, 2022.

GIOVANETTI, M. et al. Genomic epidemiology of the SARS-CoV-2 epidemic in Brazil. **Nature Microbiology**, v. 7, n. 9, p. 1490–1500, 2022.

GÓMEZ, J. et al. Angiotensin-converting enzymes (ACE, ACE2) gene variants and COVID-19 outcome. **Gene**, n. 762, p. 1–5, 2020.

GOOD, B. H. Linkage disequilibrium between rare mutations. **Genetics**, v. 220, n. 4, 2022.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução à Genética**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

HARRISON, A. G.; LIN, T.; WANG, P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. **Trends in Immunology**, v. 41, n. 12, p. 1100–1115, 2020.

HUSSAIN, M. et al. Structural variations in human ACE2 may influence its binding with SARS-CoV-2 spike protein. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 9, p. 1580–1586, 2020.

JACKSON, C. B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 1, p. 3–20, 2022.

JACOBS, M. et al. Effect of ACE1 polymorphism rs1799752 on protein levels of ACE2, the SARS-CoV-2 entry receptor, in alveolar lung epithelium. **ERJ Open Research**, v. 7, n. 2, p. 00940–02020, 2021.

KAUR, S. P.; GUPTA, V. COVID-19 Vaccine : A comprehensive status report. **Virus Research**, v. 288, p. 1–12, 2020.

KHAYAT, A. S. et al. ACE2 polymorphisms as potential players in COVID-19 outcome. **PLoS ONE**, v. 15, n. 12 December, p. 1–13, 2021.

KIM, Y. C.; JEONG, B. H. Strong correlation between the case fatality rate of covid-19 and the rs6598045 single nucleotide polymorphism (Snp) of the interferon-induced transmembrane protein 3 (ifitm3) gene at the population-level. **Genes**, v. 12, n. 1, p. 1–9, 2021.

KOMPANIYETS, L. et al. Underlying Medical Conditions and Severe Illness Among 540,667 Adults Hospitalized Underlying Medical Conditions and Severe With COVID-19,

March 2020–March 2021. **Preventing Chronic Disease**, v. 18, n. July, p. 1–13, 2021.

LEWONTIN, R. C. The Interaction of Selection and Linkage. I. General Considerations; Heterotic Models. **Genetics**, v. 49, n. 1, p. 49–67, 1964.

MA, Y. et al. Integrative genomics analysis reveals a 21q22.11 locus contributing risk to COVID-19. **Human Molecular Genetics**, v. 30, n. 13, p. 1247–1258, 2021.

MAITI, A. K. The African-American population with a low allele frequency of SNP rs1990760 (T allele) in IFIH1 predicts less IFN-beta expression and potential vulnerability to COVID-19 infection. **Immunogenetics**, v. 72, n. 6–7, p. 387–391, 2020.

MAJUMDER, P. P.; GHOSH, S. Mapping quantitative trait loci in humans: Achievements and limitations. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 6, p. 1419–1424, 2005.

MASOOD, K. I. et al. Upregulated type I interferon responses in asymptomatic COVID-19 infection are associated with improved clinical outcome. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021.

MATSUYAMA, T. et al. An aberrant STAT pathway is central to COVID-19. **Cell Death and Differentiation**, v. 27, n. 12, p. 3209–3225, 2020.

MAZEWSKI, C. et al. Type I Interferon (IFN)-Regulated Activation of Canonical and Non-Canonical Signaling Pathways. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. November, p. 1–13, 2020.

MEHLOTRA, R. K. Chemokine receptor gene polymorphisms and COVID-19 : Could knowledge gained from HIV / AIDS be important? **Infections, Genetics and Evolution**, v. 85, 2020.

MENEZES, D. et al. SARS-CoV-2 Genomic Surveillance in Brazil: A Systematic Review with Scientometric Analysis. **Viruses**, v. 14, n. 12, 2022.

MURRAY, M. F. et al. COVID-19 outcomes and the human genome. **Genetics in Medicine**, v. 22, n. 7, p. 1175–1177, 2020.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 2021.

NEUMEYER, S.; HEMANI, G.; ZEGGINI, E. Strengthening Causal Inference for Complex Disease Using Molecular Quantitative Trait Loci. **Trends in Molecular Medicine**, v. 26, n. 2, p. 232–241, 2020.

NGUYEN, A. et al. Human leukocyte antigen susceptibility map for SARS-CoV-2. **Journal of Virology**, v. 94, n. 13, p. 1–12, 2020.

NICA, A. C.; DERMITZAKIS, E. T. Expression quantitative trait loci: Present and future. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1620, 2013.

OVSYANNIKOVA, I. G. et al. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. **Immunological Reviews**, v. 296, n. 1, p. 205–219, 2020.

ÖZTÜRK, R.; TAŞOVA, Y.; AYZAZ, A. Covid-19: Pathogenesis, genetic polymorphism, clinical features and laboratory findings. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 50, n. SI-1, p. 638–657, 2020.

PAIRO-CASTINEIRA, E. et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. **Nature**, v. 591, p. 92–97, 2020.

PARK, E. et al. The Expanding Landscape of Alternative Splicing Variation in Human Populations. **American Journal of Human Genetics**, v. 102, n. 1, p. 11–26, 2018.

PENG, R. et al. Cell entry by SARS-CoV-2. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 46, n. 10, p. 848–860, 2021.

PIERCE, B. A. . **Genética: Um enfoque conceitual**. 5ª ed. [s.l.] Guanabara Koogan, 2013. v. 53

RAMASAMY, S.; SUBBIAN, S. Critical determinants of cytokine storm and type i interferon response in COVID-19 pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, n. 3, p. 1–24, 2021.

RIO, C. DEL; COLLINS, L. F.; MALANI, P. Management of post-acute covid-19 in primary care. **JAMA**, v. 324, n. 17, p. 1723–1724, 2020.

RUBIO-CASILLAS, A.; REDWAN, E. M.; UVERSKY, V. N. SARS-CoV-2: A Master of Immune Evasion. **Biomedicines**, v. 10, n. 6, p. 1–24, 2022.

SARIOL, A.; PERLMAN, S. Lessons for COVID-19 Immunity from Other Coronavirus Infections. **CellPress**, p. 248–263, 2020.

SCHMIEDEL, B. J. et al. COVID-19 genetic risk variants are associated with expression of multiple genes in diverse immune cell types. **bioRxiv**, p. 1–11, 2020.

SCHOGGINS, J. W. Interferon-Stimulated Genes: What Do They All Do? **Annual Review of Virology**, v. 6, p. 567–584, 2019.

SCHREIBER, G. The molecular basis for differential type i interferon signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 18, p. 7285–7294, 2017.

SCHREIBER, G. The Role of Type I Interferons in the Pathogenesis and Treatment of COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. September, p. 8–10, 2020.

SHAH, V. K. et al. Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. August, p. 1–17, 2020.

SMITH, M.; FLODMAN, P. L. Expanded insights into mechanisms of gene expression and disease related disruptions. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 5, n. NOV, 2018.

- SOLIMANI, F.; MEIER, K.; GHORESCHI, K. Janus kinase signaling as risk factor and therapeutic target for severe SARS-CoV-2 infection. **European Journal of Immunology**, v. 51, n. 5, p. 1071–1075, 2021.
- TAY, M. Z. et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 6, p. 363–374, 2020.
- THE COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE. **Release 6**. Disponível em: <<https://www.covid19hg.org/results/r6/>>. Acesso em: 10 mar. 2023a.
- THE COVID-19 HOST GENETICS INITIATIVE. **Release 5**. Disponível em: <<https://www.covid19hg.org/results/r5/>>.
- THOMAS, C. et al. Structural linkage between ligand discrimination and receptor activation by type I interferons. **Cell**, v. 146, n. 4, p. 621–632, 2012.
- ULHAQ, Z. S.; SORAYA, G. V. Anti-IL-6 receptor antibody treatment for severe COVID-19 and the potential implication of IL-6 gene polymorphisms in novel coronavirus pneumonia. **Medicina Clinica**, v. 155, n. 12, p. 548–556, 2020.
- V'KOVSKI, P. et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 155–170, 2021.
- VANLIERE, J. M.; ROSENBERG, N. A. Mathematical properties of the r^2 measure of linkage disequilibrium. **Theoretical Population Biology**, v. 74, n. 1, p. 130–137, 2008.
- WANG, F.; KREAM, R. M.; STEFANO, G. B. Long-term respiratory and neurological sequelae of COVID-19. **Medical Science Monitor**, v. 26, p. 1–10, 2020.
- WANG, W. et al. Distribution of HLA allele frequencies in 82 Chinese individuals with coronavirus disease-2019 (COVID-19). **HLA: Immune Response Genetics**, v. 96, n. 2, p. 194–196, 2020.
- WOLF, J. M. et al. Molecular evolution of SARS-CoV-2 from December 2019 to August 2022. **Journal of Medical Virology**, v. 95, n. 1, p. 1–10, 2023.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 1 jun. 2023.
- YAUGEL-NOVOA, M. et al. Association of IFNAR1 and IFNAR2 with COVID-19 severity. **Lancet Microbe**, p. 1, 2023.
- YILDIRIM, Z. et al. Genetic and epigenetic factors associated with increased severity of Covid-19. **Cell Biology International**, v. 45, n. 6, p. 1158–1174, 2021.
- ZHANG, Q. et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. **Science**, v. 370, n. 6515, p. 718–724, 2020.
- ZHANG, S.; WANG, L.; CHENG, G. The battle between host and SARS-CoV-2: Innate immunity and viral evasion strategies. **Molecular Therapy**, v. 30, n. 5, p. 1869–1884, 2022.

ANEXO A – ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO SUBMETIDO

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an infectious disease caused by the coronavirus SARS-CoV-2. According to the World Health Organization (WHO) there have been over 600 million cases and over 6 million deaths caused by this disease worldwide. The severity of COVID-19 division is based on the symptoms presented by the patient and is divided as asymptomatic, mild, moderate, severe and critical. Disease manifestations are interconnected with genetic variations. The innate immunity is the quickest response of the organism against viruses. Type I interferon pathway is essential for antiviral responses due to viral replication inhibition in infected cells and adaptive immunity stimulation induced by interferon molecules. Thus, variants in type I interferon pathway's genes are being studied on different COVID-19 manifestations. In conclusion, the knowledge of variants in type I interferon pathway's genes are crucial for understanding the severity progression of COVID-19.

Keywords: COVID-19; Type I interferon; Single Nucleotide Polymorphisms

ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (4.346.280)

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo dos mecanismos imunorreguladores em Covid-19: Possíveis ferramentas para o controle da doença

Pesquisador: JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 36139220.6.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.346.280

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo prospectivo no qual serão incluídos pacientes (> 18 anos) que entraram em contato com o SARS-CoV-2, assintomáticos (N=120) ou com a doença nas formas clínicas leve (N=120) e grave da doença (N=120), cuja carga viral ou presença de anticorpos IgM/IgG anti-SARS-CoV-2 será confirmada. Os pacientes serão recrutados em unidades de Saúde (hospitais e UPAs) integrantes da rede SUS Sistema Único de Saúde. Este projeto será submetido ao CEP - Comitê de Ética em Pesquisa - da Universidade Federal do Ceará / PROPEAQ-UFC e aos CEPs das Instituições coparticipantes envolvidas no estudo, por meio da Plataforma Brasil. O grupo controle (N=120) será composto por indivíduos que não foram confirmadamente expostos ao SARS-CoV-2. Todos os participantes do estudo receberão orientações sobre os objetivos, procedimentos e riscos associados à participação durante o procedimento de assinatura do termo de consentimento (TCLE), sendo assegurado o direito de voluntariedade com relação à participação. Um questionário do tipo semi-estruturado será aplicado a todos participantes no momento da inclusão no estudo. Avaliação clínica e laboratorial: Os pacientes incluídos no estudo terão seus prontuários avaliados constantemente para acompanhar a evolução clínica da infecção e para acessos de exames laboratoriais, de imagem e demais dados clínicos relevantes relacionados a sinais e sintomas do paciente em estudo, sendo que a carga viral e a detecção de anticorpos pode ser repetida conforme necessidade do estudo. Imunofenotipagem e quantificação da frequência de células T CD4, T CD8 e T reguladoras no sangue periférico: As análises de imunofenotipagem celular serão

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-275
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3396-8344 **E-mail:** comape@ufc.br

Continuação do Parecer: 4.346/200

realizadas nos períodos D0 (momento que o paciente procurou atendimento médico/ período de até 7 dias do início dos sintomas), D07 e D15. Para isso, as seguintes subpopulações celulares serão analisadas pela técnica de citometria de fluxo: CD3+ (linfócitos T totais), CD3+CD4+ (linfócitos T helper ou auxiliares), CD3+CD8+ (linfócitos T citotóxicos), CD4+CD25+GITR+, CD4+CD25+CTLA-4+, CD4+CD25+Foxp3+ (células T reguladoras). Controles Isotípicos (IgG1-FITC, IgG2a-PE, IgG1-PerCP) serão utilizados. Isolamento das células: mononucleares periféricas e avaliação da produção de citocinas intracelulares. Células mononucleares serão separadas por centrifugação em gradiente de densidade a partir de amostras de sangue periférico coletas. A produção de citocinas por linfócitos T CD4 ou CD8 será analisada por marcação intracelular após estimulação in vitro com PMA+ionomicina+brefeldina. Em seguida, as células serão ressuspensas em solução permeabilizante e incubadas por 10 min a TA. Após lavagem, as células serão incubadas simultaneamente com anticorpos anti-citocina (IL-2, IL-4, IL-17, IFN- ou IL-10) e anticorpos contra marcadores de superfície (CD3, CD4, CD8) diretamente conjugados a fluorocromos por 30 min a 4C. Após lavagem, as células serão analisadas no citômetro de fluxo. Quantificação de citocinas no soro: As citocinas séricas serão quantificadas por meio da plataforma Multiplex (tecnologia Luminex®) nos períodos D0, D07 e D15. Será utilizado um painel de citocinas dos perfis de células Th1, Th2, Th17 e Treg. Para aqueles analitos que não estiverem disponíveis na plataforma de Multiplex, a quantificação será feita utilizando o ensaio de ELISA. Análises de polimorfismo genético: O DNA genômico será extraído das amostras de sangue total dos indivíduos. A extração de DNA será realizada usando o kit comercial, Bioruptor Extraction Kit Mini Plus Spin – 250. Após a extração, será realizada a quantificação do DNA para verificação da concentração e pureza e em seguida as amostras serão corridas em gel de agarose a 0,8%, coradas com o agente intercalante GelRed® Nucleic Acid Gel Stain. A reação de RT-qPCR será realizada utilizando ensaios validados SNP TaqMan® Genotyping Assays (Applied Biosystems), para as variantes genéticas estudadas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Caracterizar o perfil de linfócitos T efetores e citocinas séricas envolvidas na resposta imune de pacientes acometidos por SARS-CoV-2 apresentando as formas assintomática, leve e grave da doença, bem como polimorfismos genéticos de moléculas imunorreguladoras, para definição de possíveis marcadores de prognóstico e alvos terapêuticos. Objetivo Secundário: Avaliar em pacientes com diferentes manifestações clínicas da doença (assintomáticos, forma leve e formas graves) e nos indivíduos controles: Parâmetros clínicos e laboratoriais; - Determinação da

Endereço:	Rua Cel. Nunes de Melo, 1000	CEP:	60.430-275
Bairro:	Rodolfo Teófilo		
UF:	CE	Município:	FORTALEZA
Telefone:	(85)3366-8344	E-mail:	comape@ufc.br

Continuação do Parecer: 4.346.200

carga viral ou soropositividade (IgG anti-SARS-CoV-2; - Frequência da população de células T CD4 efetoras (Th1, Th2 e Th17) no sangue periférico; - Frequência da população de células T CD8 efetoras no sangue periférico; - Frequência da população de células T reguladoras (Tregs) no sangue periférico; - Quantificação de citocinas nas diferentes subpopulações de linfócitos T efetores (citocina intracelular); - Perfil de citocinas pró-inflamatórias no soro; - Perfil de citocinas anti-inflamatórias no soro; - Correlacionar os parâmetros clínicos e laboratoriais com os parâmetros imunológicos; - Analisar a presença de SNPs em genes de moléculas envolvidas na resposta imune; Comparar os resultados observados nos diferentes grupos de pacientes que podem ser considerados prognósticos de melhora ou piora clínica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos são mínimos para os participantes da pesquisa. Os riscos associados com a coleta de sangue incluem: dor, hematoma, ou outro desconforto no local da coleta. Raramente desmalo ou infecções no local de punção podem ocorrer. Cuidados serão tomados para minimizar esses riscos. O indivíduo poderá experimentar efeitos colaterais que não são conhecidos até o momento ou não foram relatados. Em caso de aparecimento de qualquer complicação, o indivíduo será assistido prontamente por equipe médica dos serviços de saúde participantes da pesquisa.

Benefícios: Os resultados do presente estudo não beneficiarão os indivíduos incluídos na pesquisa diretamente, mas serão fontes de conhecimento que poderão ser utilizados futuramente para o desenvolvimento de novas terapias para o tratamento da Covid-19.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, sobre temática atual.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados.

Recomendações:

Sem pendências

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as solicitações foram atendidas.

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Ao final da pesquisa, o relatório final deverá ser enviado a este CEP.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-275
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3366-8344 E-mail: comape@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 4.346.200

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1579446.pdf	14/09/2020 09:26:58		Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.pdf	14/09/2020 09:23:56	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_covid.pdf	14/09/2020 09:23:07	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Brochura Pesquisa	Brochura.pdf	14/09/2020 09:22:33	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Folha de Rosto	rosto.pdf	05/08/2020 07:45:10	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DACT.pdf	05/08/2020 07:43:16	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Declaração de Pesquisadores	participantes.pdf	05/08/2020 07:34:01	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Outros	questionario_covid.pdf	10/07/2020 16:54:57	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Outros	carta_propesq.pdf	10/07/2020 16:54:38	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Orçamento	orcamento_covid.pdf	10/07/2020 16:52:24	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto
Cronograma	CRONOGRAMA_covid.pdf	10/07/2020 16:51:49	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 19 de Outubro de 2020

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-275
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 E-mail: conep@ufc.br

ANEXO C – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (4.505.911)

MAC DIONYS RODRIGUES DA COSTA - IV3.2.52

Sua sessão expira em: 39min 30

Você está em: Público > Confirmar Aprovação pelo CAAE ou Parecer

CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:

Número do Parecer:

[Pesquisar](#)

Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.

DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:

Número do CAAE:

Número do Parecer:

Quem Assinou o Parecer:

Pesquisador Responsável:

Data Início do Cronograma:

Data Fim do Cronograma:

Contato Público:

[Voltar](#)