



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

OTÁVIO BRITO DOMINGUES

**INVESTIGAÇÃO DAS CORRELAÇÕES DOS POLIMORFISMOS DOS GENES DA
IL-6, TNF , IL-1B, IL-10, E IL-17A COM A GRAVIDADE E DESFECHO CLÍNICO
DA COVID-19**

FORTALEZA

2024

OTÁVIO BRITO DOMINGUES

**INVESTIGAÇÃO DAS CORRELAÇÕES DOS POLIMORFISMOS DOS GENES DA
IL-6, TNF , IL-1B, IL-10, E IL-17A COM A GRAVIDADE E DESFECHO CLÍNICO
DA COVID-19**

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.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yachite.

FORTALEZA

2024

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

D718i Domingues, Otávio Brito.

Investigação das correlações dos polimorfismos dos genes da IL-6, TNF, IL-1B, IL-10, e IL-17A com a gravidade e desfecho clínico da covid-19 / Otávio Brito Domingues. – 2024.
115 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yachite.

1. covid-19. 2. Resposta imune. 3. Polimorfismo de nucleotídeo único. 4. Citocinas. I. Título.

CDD 615.1

OTÁVIO BRITO DOMINGUES

**INVESTIGAÇÃO DAS CORRELAÇÕES DOS POLIMORFISMOS DOS GENES DA
IL-6, TNF , IL-1B, IL-10, E IL-17A COM A GRAVIDADE E DESFECHO CLÍNICO
DA COVID-19**

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

Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yaochite (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Profa. Dra. Gislane Lelis Vilela de Oliveira
Universidade Estadual Paulista (UNESP)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil, pela concessão de bolsa acadêmica. Agradeço também à empresa JBS S.A pelo financiamento deste projeto.

Agradeço à Profa. Dra. Juliana Navarro Ueda Yaochite por me receber em seu laboratório, o Laboratório de Imunologia Celular e Molecular. Agradeço à Dra. Larissa Deadame de Figueiredo Nicolete, minha professora de virologia na graduação, que serviu como ponte de contato para a Dra. Juliana Ueda.

Agradeço ao Dr. Raphael de Oliveira Rodrigues pela sua disponibilidade em me ensinar, por me ajudar na interpretação dos resultados de genotipagem, na sua disponibilidade em retirar dúvidas sobre equipamentos e se fazer presente em qualquer problema técnico que encontrei ao decorrer do projeto. Agradeço ao Dr. Tiago Lima Sampaio, que forneceu as amostras do grupo leve/moderado, e a Mac Dionys Rodrigues da Costa, que auxiliou em relação às informações sobre as ditas amostras. Além, de ajudar com as análises estatísticas. Agradeço à Dra. Sandra Mara Brasileiro e Polianna Albuquerque, que permitiram acesso às amostras do grupo grave, assim como informações dos respectivos pacientes

Agradeço ao colega de laboratório Me. Artur Fontenelle Lima Montenegro por me permitir observar seus experimentos, que serviram como pilar principal ao meu projeto, retirar dúvidas, ajudar nas disciplinas encontradas ao decorrer do Mestrado, e se mostrar disponível a qualquer possível problema encontrado no projeto.

Agradeço aos colegas de mestrado Marcos Alves de Souza Filho, Luis Felipe Bezerra Lino, Aura Lucia Chacón Parra, Caroline Rebouças Damasceno, Stephanie de Almeida Alves, Thaís Magalhães de Freitas, Tatiana do Nascimento Paiva Coutinho pelo suporte acadêmico e emocional ao decorrer do mestrado, e por incentivar a estudar mais.

Agradeço às professoras da minha graduação, Dra. Caroline Aquino Moreira Nunes, pela inspiração a seguir o caminho acadêmico, à Dra. Mônica de Oliveira Belém, minha orientadora, que me ajudou a tentar entrar no programa de mestrado e por me dar incentivo à buscar o caminho acadêmico, e à Dra. Delia Jessica Astete Medrano Gomes, minha orientadora na monitoria de microbiologia clínica, por me fazer descobrir o mundo da microbiologia.

Agradeço às minhas amigas da graduação, Dayse Maria da Silva Neves, Camila Nascimento Gondim, Maria de Souza Barros Neta e Amanda Barros Nogueira por estarem comigo, ajudarem a buscar o caminho acadêmico, pelo suporte emocional e incentivo a me

manter no curso de biomedicina. Ao Jean Breno Silveira da Silva que me incentivou a entrar em uma pós-graduação. Agradeço aos meus amigos próximos, Luan Carlos Almeida do Nascimento, Helder Andrade de Andrade, João Paulo Queiroz de Bittencourt, e Rodrigo Almeida. Graças ao apoio emocional e por estarem sempre comigo, certamente foi uma das razões que consegui chegar tão longe.

Agradeço aos familiares, Olinda Rodrigues dos Santos e Sandra Maria de Brito Mamede, pelo apoio financeiro e por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis. Agradeço ao meu irmão, Fábio Façanha Brito, pelo apoio onipresente em toda a minha vida. A pessoa mais querida e importante da minha vida, Isabel Cristina Brito Domingues, a minha mãe, que me ajudou, incentivou, deu força, esteve comigo em todos os momentos da minha vida e nunca desistiu de mim, não importasse o quão sombrio fosse o momento. Sem ela, não teria conseguido chegar aqui.

RESUMO

O SARS-CoV-2, que causou a pandemia de covid-19, é um vírus que afeta principalmente o sistema respiratório, com evidências de tropismo para outros órgãos. As manifestações da doença são divididas em termos de gravidade: na forma leve os principais sintomas incluem, coriza, dor de garganta, e tosse acompanhadas ou não de febre, dor muscular, perda do olfato, perda do paladar, dor de cabeça, fadiga; na forma moderada pode haver pneumonia sem complicações a febre diária persistente, tosse persistente, piora de prostração e da perda de apetite; a forma grave é evidenciada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave; e forma crítica é caracterizada por falência respiratória grave, pneumonia grave, disfunção em vários órgãos, síndrome do desconforto respiratório agudo, internação em UTI e necessidade de suporte respiratório. No Brasil, a covid-19 resultou em mais de 37 milhões de casos e mais de 700.000 mortes. A patogênese da doença que o SARS-CoV-2 causa não só envolve lesão celular direta pela replicação, mas também uma produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, levando a uma inflamação generalizada e dano tecidual. A literatura evidencia o papel das variações genéticas no hospedeiro e a sua consequência na evolução de doenças virais; o estudo de variabilidade genética de citocinas associadas com a tempestade de citocinas nos permite entender e identificar os alelos e genótipos de risco para esta condição na população incluída. Este estudo investigou o papel dos polimorfismos de nucleotídeo único na gravidade e desfecho clínico da covid-19 em pacientes do Estado do Ceará, recrutados no ano de 2021. A população de estudo foi dividida em dois grupos, ambos não vacinados: grave (n=82) e Leve/Moderado (n=40). O grupo Grave foi subdividido em pacientes que evoluíram para óbito (n=33) e aqueles que receberam alta hospitalar (n=49). As amostras de sangue total foram coletadas e o DNA foi extraído, quantificado e em seguida padronizado. A genotipagem dos SNPs foi realizada utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real com sondas de hidrólise TaqMan™. Foram analisados os seguintes SNPs: IL 6 (*rs1800795*), TNF (*rs1800629*), IL-1 β (*rs1143627*), IL-10 (*rs1800872*), e IL-17A (*rs3819025*). A frequência relativa foi analisada por meio dos testes exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson critério p menor (<) que 0,05. A regressão logística binária foi utilizada para prever a gravidade da doença com base nas comorbidades e alelos. Além disso, também foi aplicada para prever a gravidade considerando a interação entre as comorbidades e os alelos polimórficos, usando critério p <0,05. Finalmente, a regressão logística binária foi empregada para prever a ocorrência de óbitos com base nas comorbidades e alelos. Uma diferença de frequência foi observada em relação ao sexo nos grupos Grave e Leve/Moderado

($p= 0,0009$). No entanto, não foi encontrada diferença em relação ao sexo e ao desfecho ($p= 0,4899$). Indicando que o sexo masculino tem maior suscetibilidade à forma grave da doença. Foi evidenciada uma diferença em relação à idade no grupo Grave e Leve/Moderado ($p= <0,0001$), assim como entre idade e desfecho ($p= 0,0411$). Isso sugere que, com o avanço da idade, aumentam as chances de desenvolvimento da forma grave da doença e de evolução para óbito. Nenhum polimorfismo foi associado à gravidade e ao desfecho clínico nos modelos codominante, dominante e alélico ($p= >0,05$). Os indivíduos com a forma leve/moderada da doença apresentaram uma alta frequência de indivíduos sem Hipertensão Arterial Sistêmica em comparação com os demais grupos ($p= 0,013$), mas não houve significância para *Diabetes Mellitus* ($p= 0,117$). A regressão logística binária evidenciou que o modelo da Hipertensão Arterial Sistêmica foi significativo, indicando que os pacientes com esta comorbidade têm mais de quatro vezes mais chances de desenvolver a forma grave da covid-19 ($p = 0,003$; OddsRatio= 4,42; IC 95%= 1,7 – 11,7). Também evidenciou uma interação entre Hipertensão Arterial Sistêmica e Diabetes Mellitus. Os pacientes com ambas as comorbidades têm mais de dez vezes mais chances de evoluir para a forma grave da covid-19 ($p= 0,025$; OddsRatio= 10,52; IC 95% 1,35 – 81,99). Foi observada uma interação entre a Hipertensão Arterial Sistêmica e o alelo C do *rs1800795*, o que aumenta em pouco mais de sete vezes a chance de desenvolver a forma grave da covid-19 ($p= 0,011$; OddsRatio= 7,09; IC 95%= 1,58 – 31,84). Também houve interação com o alelo G do *rs1800872*, aumentando em mais de três vezes a chance de evolução para a forma grave da doença ($p= 0,015$; OddsRatio= 3,65; IC 95%= 1,29 – 10,35). Além disso, ocorreu uma interação com o alelo A do *rs1143627*, aumentando em mais de oito vezes as chances de desenvolver a forma grave da covid-19 ($p= 0,004$; OddsRatio= 8,92; IC 95%= 2,0 – 39,78). A regressão logística binária não revelou significância para prever o óbito com base nas comorbidades e alelos ($p= >0,05$). Em conclusão, o sexo masculino é um fator que aumenta a predisposição à forma grave da covid-19. Além disso, a idade é um fator que aumenta a predisposição tanto à gravidade da doença quanto à evolução para o óbito. O diagnóstico de Hipertensão Arterial Sistêmica aumenta os riscos de desenvolver a forma grave da covid-19. Se o paciente também tiver Diabetes Mellitus, o risco aumenta significativamente. Além disso, a presença de Hipertensão Arterial Sistêmica e os alelos C da IL-6, G da IL-10 e A da IL-1 β também aumentam a predisposição para a gravidade da covid-19. Portanto, é crucial monitorar de perto os pacientes com essas condições e alelos.

Palavras-chave: covid-19. Resposta imune. Polimorfismo de nucleotídeo único. Citocinas.

ABSTRACT

The SARS-CoV-2, which caused the COVID-19 pandemic, is a virus that primarily affects the respiratory system, with evidence of tropism for other organs. The manifestations of the disease are divided in terms of severity: in the mild form, the main symptoms include runny nose, sore throat, and cough accompanied or not by fever, muscle pain, loss of smell, loss of taste, headache, fatigue; in the moderate form, there may be pneumonia without complications, persistent daily fever, persistent cough, worsening of prostration and loss of appetite; the severe form is evidenced by Acute Respiratory Distress Syndrome; and the critical form is characterized by severe respiratory failure, severe pneumonia, dysfunction in various organs, acute respiratory distress syndrome, ICU admission, and need for respiratory support. In Brazil, COVID-19 resulted in more than 37 million cases and more than 700,000 deaths. The pathogenesis of the disease that SARS-CoV-2 causes not only involves direct cellular injury by the replication, but also an excessive production of pro-inflammatory cytokines, leading to widespread inflammation and tissue damage. The literature highlights the role of genetic variations in the host and their consequence in the evolution of viral diseases; the study of genetic variability of cytokines associated with the cytokine storm allows us to understand and identify the risk alleles and genotypes for this condition in the included population. This study investigated the role of single nucleotide polymorphisms in the severity and clinical outcome of COVID-19 in patients from the State of Ceará, recruited in the year 2021. The study population was divided into two groups, both unvaccinated: severe (n=82) and Mild/Moderate (n=40). The Severe group was subdivided into patients who evolved to death (n=33) and those who were discharged from the hospital (n=49). Whole blood samples were collected and DNA was extracted, quantified and then standardized. The genotyping of the SNPs was performed using the real-time polymerase chain reaction technique with TaqMan™ hydrolysis probes. The following SNPs were analyzed: IL 6 (rs1800795), TNF (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-10 (rs1800872), and IL-17A (rs3819025). The relative frequency was analyzed through Fisher's exact tests or Pearson's chi-square test criterion p less (<) than 0.05. Binary logistic regression was used to predict disease severity based on comorbidities and alleles. In addition, it was also applied to predict severity considering the interaction between comorbidities and polymorphic alleles, using criterion p <0.05. Finally, binary logistic regression was employed to predict the occurrence of deaths based on comorbidities and alleles. A frequency difference was observed in relation to sex in the Severe and Mild/Moderate groups (p= 0.0009). However, no difference was

found in relation to sex and outcome ($p= 0.4899$). Indicating that males have a higher susceptibility to the severe form of the disease. A difference was evidenced in relation to age in the Severe and Mild/Moderate group ($p= <0.0001$), as well as between age and outcome ($p= 0.0411$). This suggests that, with advancing age, the chances of developing the severe form of the disease and of evolving to death increase. No polymorphism was associated with severity and clinical outcome in the codominant, dominant and allelic models ($p= >0.05$). Individuals with the mild/moderate form of the disease presented a high frequency of individuals without Systemic Arterial Hypertension compared to the other groups ($p= 0.013$), but there was no significance for Diabetes Mellitus ($p= 0.117$). Binary logistic regression evidenced that the Systemic Arterial Hypertension model was significant, indicating that patients with this comorbidity have more than four times more chances of developing the severe form of COVID-19 ($p = 0.003$; OddsRatio= 4.42; CI 95%= 1.7 – 11.7). It also evidenced an interaction between Systemic Arterial Hypertension and Diabetes Mellitus. Patients with both comorbidities have more than ten times more chances of evolving to the severe form of COVID-19 ($p= 0.025$; OddsRatio= 10.52; CI 95% 1.35 – 81.99). An interaction was observed between Systemic Arterial Hypertension and the C allele of rs1800795, which increases by just over seven times the chance of developing the severe form of COVID-19 ($p= 0.011$; OddsRatio= 7.09; CI 95%= 1.58 – 31.84). There was also interaction with the G allele of rs1800872, increasing by more than three times the chance of evolution to the severe form of the disease ($p= 0.015$; OddsRatio= 3.65; CI 95%= 1.29 – 10.35). In addition, there was an interaction with the A allele of rs1143627, increasing by more than eight times the chances of developing the severe form of COVID-19 ($p= 0.004$; OddsRatio= 8.92; CI 95%= 2.0 – 39.78). Binary logistic regression did not reveal significance to predict death based on comorbidities and alleles ($p= >0.05$). In conclusion, the male sex is a factor that increases the predisposition to the severe form of COVID-19. In addition, age is a factor that increases the predisposition to both the severity of the disease and the evolution to death. The diagnosis of Systemic Arterial Hypertension increases the risks of developing the severe form of COVID-19. If the patient also has Diabetes Mellitus, the risk significantly increases. In addition, the presence of Systemic Arterial Hypertension and the C alleles of IL-6, G of IL-10 and A of IL-1 β also increase the predisposition to the severity of COVID-19. Therefore, it is crucial to closely monitor patients with these conditions and alleles.

Keywords: COVID-19. Immune response. Single nucleotide polymorphism. Cytokines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura da partícula do SARS-CoV-2 e os genes codificantes.....	15
Figura 2	Ligação e penetração do SARS-CoV-2 na célula-alvo.....	17
Figura 3	Localização das TLRs na célula e os PAMPs que cada uma reconhece.....	22
Figura 4	Número de casos relatados a partir da 13 ^a semana de 2020 até a 52 ^a semana de 2023.....	28
Figura 5	Número de óbitos relatados a partir da 13 ^a semana de 2020 até a 52 ^a semana de 2023.....	29
Figura 6	Via de sinalização da IL-10.....	31
Figura 7	Via de sinalização da IL-1 β	35
Figura 8	Via de sinalização da IL-6.....	37
Figura 9	Via de sinalização da IL-17A.....	40
Figura 10	Via de sinalização do complexo I do TNF-TNFR1.....	42
Figura 11	Ordem cronológica das etapas seguidas neste estudo	51

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Desfecho do grupo de pacientes com a forma grave da doença, dividido por sexo.....	52
Gráfico 2	Distribuição por sexo no grupo com as formas leve/moderada vs grave da doença.....	53
Gráfico 3	Comparação dos desfechos clínicos no grupo com a forma grave da covid-19, em relação à idade.....	54
Gráfico 4	Comparação entre os grupos Grave e Leve/Moderado em relação à idade...	54
Gráfico 5	Frequência dos genótipos do <i>rs1800795</i> (C>G) no grupo grave, por desfecho.....	63
Gráfico 6	Frequência dos genótipos do <i>rs1800795</i> (C>G) no grupo leve/moderado vs grave.....	63
Gráfico 7	Frequência dos genótipos do <i>rs1800629</i> (G>A) no grupo grave, por desfecho.....	64
Gráfico 8	Frequência dos genótipos do <i>rs1800629</i> (G>A) no grupo leve/moderado vs grupo grave.....	65
Gráfico 9	Frequência dos genótipos do <i>rs3819025</i> (G>A) no grupo grave, por desfecho.....	66
Gráfico 10	Frequência dos genótipos do <i>rs3819025</i> (G>A) no grupo leve/moderado vs grupo grave.....	66
Gráfico 11	Frequência dos genótipos do <i>rs1800872</i> (T>G) no grupo grave, por desfecho.....	67
Gráfico 12	Frequência dos genótipos do <i>rs1800872</i> (T>G) no grupo leve/moderado vs grupo grave.....	68
Gráfico 13	Frequência dos genótipos do <i>rs1143627</i> (G>A) no grupo grave, por desfecho.....	69
Gráfico 14	Frequência dos genótipos do <i>rs1143627</i> (G>A) no grupo leve/moderado e grave.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Manifestações clínicas das diferentes gravidades na covid-19.....	20
Tabela 2	Comparação entre o estado do Ceará e os cinco primeiros estados em relação a casos e óbitos. Entre a 13ª semana de 2020 até 14ª semana de 2024.....	30
Tabela 3	Os SNPs identificados na literatura e investigados no presente estudo.....	45
Tabela 4	Informações sobre as sondas TaqMan™ e seus polimorfismos alvos.....	49
Tabela 5	Protocolo com concentração de reagentes para a qPCR.....	50
Tabela 6	Distribuição do sexo entre os grupos Grave e Leve/Moderado.....	55
Tabela 7	Distribuição do sexo entre os desfechos nos pacientes graves.....	55
Tabela 8	Distribuição da idade entre os grupos Grave e Leve/Moderado.....	55
Tabela 9	Distribuição de idade entre os desfechos dos pacientes graves.....	56
Tabela 10	Lista de frequência de comorbidade dos pacientes que receberam alta.....	56
Tabela 11	Lista de frequência de comorbidade dos pacientes que evoluíram para óbito.....	57
Tabela 12	Frequência de comorbidades, segundo desfecho.....	58
Tabela 13	Lista de frequência de comorbidade dos pacientes leve/moderados.....	58
Tabela 14	Frequências de HAS e DM.....	59
Tabela 15	Frequência de manifestações clínicas no grupo grave, por desfecho.....	60
Tabela 16	Frequência de manifestações clínicas no grupo leve/moderado.....	61
Tabela 17	Análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg dos alvos estudados.....	62
Tabela 18	Frequência genotípica e alélica; modelos codominante, dominante e alélico dos polimorfismos, segundo desfecho.....	70
Tabela 19	Frequência genotípica e alélica; modelos codominante, dominante e alélico dos polimorfismos, grupo leve/moderado contra o grupo grave.....	72
Tabela 20	Regressão logística binária para prever a gravidade segundo as comorbidades e alelos.....	74
Tabela 21	Regressão logística binária para prever a gravidade segundo a interação entre comorbidades e alelos polimórficos.....	74
Tabela 22	Regressão logística binária para prever óbito segundo as comorbidades e	75

alelos.....

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVC	Acidente Vascular Cerebral
C/EBP	Proteínas CCAAT-enhancer-binding
CEP/UFC/PROPESQ	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará
CONASS	Conselho Nacional de Secretários de Saúde
covid-19	Doença do coronavírus de 2019
DM	Diabetes Mellitus
E	Proteína do Envelope
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina II
GSDMD	Gasdermina-D
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HR	Repetição Heptadica
IJF	Hospital Instituto José Frota
IL	Interleucina
IL-10R	Receptor de IL-10
IL-17R	Receptor de IL-17
IL-1R	Receptor de IL-1
IL-6R	Receptor de IL-6
IRAK	Quinase associada ao receptor de IL-1
JAK	Janus quinase
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
M	Proteína da Membrana
MyD88	Fator de diferenciação mielóide 88
N	Proteína do Nucleocapsídeo
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NIH	National Institute of Health
NK	Células <i>natural killer</i>
NLRP3	Proteína 3 que Contém Domínio de Pirina da Família NLR
NSP	Proteínas não-estruturais
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	Quadro de Leitura Aberta
PAMP	Padrões associados a patógenos

PCR	Proteína C Reativa
PRR	Receptores de Reconhecimento de Padrões
qPCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
RIG-I	Gene induzível por ácido retinóico I
RLR	Receptores semelhantes gene I induzível por ácido retinóico
S	Proteína spike
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 Causador de Síndrome Respiratória Aguda Grave
sIL-6R	Receptor solúvel de IL-6
SRI	Sistema Respiratório Inferior
STAT	Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição
TNF	Fator de necrose tumoral
TRAF	Fator associado ao receptor de TNF
TGF- β	Fator de crescimento transformador β
Th	Células T auxiliares
TYK	Tirosina quinase
UTI	Unidades de Terapia Intensiva
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
κ	Kappa
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\%$	Porcentagem
$<$	Menor que
$>$	Maior que
\geq	Maior ou igual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Características gerais do SARS-CoV-2	15
2.2	Covid-19.....	18
2.3	Resposta imunológica	21
2.3.1	<i>Reconhecimento de agentes microbianos pelo sistema inato</i>	21
2.3.1.1	<i>Reconhecimento do SARS-CoV-2 pelo sistema inato</i>	23
2.4	Patogênese da covid-19	24
2.5	Epidemiologia da covid-19	26
2.5.1	<i>Linha do tempo</i>	26
2.5.2	<i>Cenário da covid-19 no Brasil</i>	27
2.5.2.1	<i>Cenário da covid-19 no Ceará</i>	29
2.6	Citocinas	30
2.6.1	<i>IL-10</i>	30
2.6.2	<i>IL-1β</i>	33
2.6.3	<i>IL-6</i>	36
2.6.4	<i>IL-17A</i>	38
2.6.5	<i>TNF</i>	41
2.7	Variações genéticas	43
3	HIPÓTESES	47
4	OBJETIVOS	47
4.1	Objetivo geral	47
4.2	Objetivos específicos	47
5	METODOLOGIA	47
5.1	Desenho do estudo	47
5.2	Inclusão e classificação de pacientes	47
5.3	Coleta de amostras	48
5.4	Avaliação de registros médicos	48
5.5	Extração do material genético	48
5.6	Concentração de ácido nucleico	48
5.7	Normalização da concentração de ácido nucleico	49
5.8	Ensaio de genotipagem	49

5.9	Análise estatística.....	50
5.9.1	<i>Análise descritiva.....</i>	50
5.9.2	<i>Análises inferenciais.....</i>	51
6	RESULTADOS.....	52
6.1	Características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com covid-19 ..	52
6.2	Ensaio de genotipagem	62
6.2.1	<i>Avaliação do SNP rs1800795 (C>G) da IL-6 nos pacientes com a forma leve/moderada e a forma grave da doença</i>	62
6.2.2	<i>Avaliação do SNP rs1800629 (G>A) do TNF nos pacientes com a forma leve/moderada e a forma grave da doença</i>	64
6.2.3	<i>Avaliação do SNP rs3819025 (G>A) da IL-17A nos pacientes com a forma leve/moderada e forma grave da doença</i>	65
6.2.4	<i>Avaliação do SNP rs1800872 (T>G) da IL-10 nos pacientes com a forma leve/moderada e a grave da doença</i>	67
6.2.5	<i>Avaliação do SNP rs1143627 (G>A) da IL-1β nos pacientes com a forma leve/moderada e a forma grave da doença</i>	68
6.3	<i>Análise estatística.....</i>	70
7	DISCUSSÃO.....	75
8	CONCLUSÃO.....	83
	REFERÊNCIAS.....	84
	ANEXO A – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (4.346.280)	103
	ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (4.505.911)	107
	ANEXO C – ARTIGO CIENTÍFICO	108

1 INTRODUÇÃO

Em Wuhan, China, no dia 12 de dezembro de 2019, surgem casos de pessoas com manifestações de uma doença atípica semelhante a uma pneumonia. No dia 31, o Escritório Nacional da Organização Mundial da Saúde (OMS)/World Health Organization (WHO) na China é informado sobre um agente etiológico desconhecido causador de casos de pneumonia. Posteriormente, é descoberto que um novo coronavírus é responsável por esses casos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2023). O vírus se espalha para 18 países e a OMS declara Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional no dia 30 de janeiro (OPAS, 2020). Dia 11 de março de 2020 é declarado estado de pandemia (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2023). SARS-CoV-2 é oficializado como o nome do vírus devido a sua semelhança genética ao SARS-CoV-1 (WHO, 2023a).

O Brasil confirmou seu primeiro caso em 26 de fevereiro de 2020 (BRASIL, 2020). A campanha de vacinação começou em janeiro de 2021, alcançando uma cobertura significativa em um ano, com mais de 300 milhões de doses aplicadas (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2022). Em maio de 2023, a Organização Mundial da Saúde declarou o fim da emergência global de saúde do SARS-CoV-2 (WHO, 2023b).

A transmissão do SARS-CoV-2 ocorre principalmente através do sistema respiratório, seja por meio de aerossol suspensão no ar ou gotículas (MEYEROWITZ *et al.*, 2021). A infecção ocorre quando partículas infecciosas são inaladas ou entram em contato com as mucosas do rosto. Além disso, o toque em superfícies contaminadas seguido de contato das mãos com os olhos, nariz ou boca também pode resultar em infecção. A disseminação do vírus ocorre principalmente em locais fechados e com grande aglomeração de pessoas, onde a proximidade entre os indivíduos facilita a transmissão, especialmente em ambientes com ventilação insuficiente. (WHO, 2021).

O SARS-CoV-2 provavelmente começa a invadir o corpo pelas células na traqueia, nasofaringe ou na mucosa nasal. A não eliminação do vírus permite que ele atinja o sistema respiratório inferior. Alternativamente, o vírus pode iniciar a infecção no sistema respiratório inferior, onde os pneumócitos tipo II podem ser alvos da infecção, promovendo assim a inflamação (LAMERS; HAAGMANS, 2022). Nota-se, no entanto, a capacidade do vírus de infectar outras células (DOMINGO *et al.*, 2020).

Na infecção pelo SARS-CoV-2, células como macrófagos, monócitos e células dendríticas são atraídas para os pulmões, seguidas pela migração de linfócitos T específicos para o vírus. Isso resulta em um aumento do influxo de células imunológicas e produção de

citocinas pró-inflamatórias. Embora a maioria das pessoas elimine o vírus com sucesso, alguns pacientes podem desenvolver uma resposta imunológica desregulada, levando à tempestade de citocinas, uma condição potencialmente letal caracterizada por hiperinflamação e manifestações clínicas variadas (BEIGEL; UYEKI, 2023; YANG, L. *et al.*, 2021).

Pesquisas indicam que variações genéticas no hospedeiro podem aumentar ou reduzir a suscetibilidade a doenças virais, essas variações podem ocorrer em receptores reconhecidos pelo vírus ou em fatores de transcrição, por exemplo (KENNEY *et al.*, 2017). Nesse contexto, os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) que ocorrem em genes do sistema imunológico já foram estudados por sua influência na doença causada pelo Influenza A (NOGALES; DEDIEGO, 2019). Os SNPs em diversos genes do sistema imunológico também foram estudados no contexto de doenças respiratórias causadas por vírus (FORBESTER; HUMPHREYS, 2021).

Este estudo tem como objetivo principal investigar as variações genéticas, especificamente os SNP, presentes em genes de citocinas que desempenham um papel crucial na tempestade de citocinas observada na covid 19. A intenção foi determinar se essas variações genéticas são um fator significativo na população do Ceará, recrutada para o estudo no ano de 2021, em pacientes não vacinados. A compreensão dessas variações pode fornecer achados valiosos sobre a suscetibilidade individual à tempestade de citocinas e, conseqüentemente, à gravidade da covid-19. Além disso, pode abrir caminho para estratégias de tratamento mais personalizadas e eficazes.

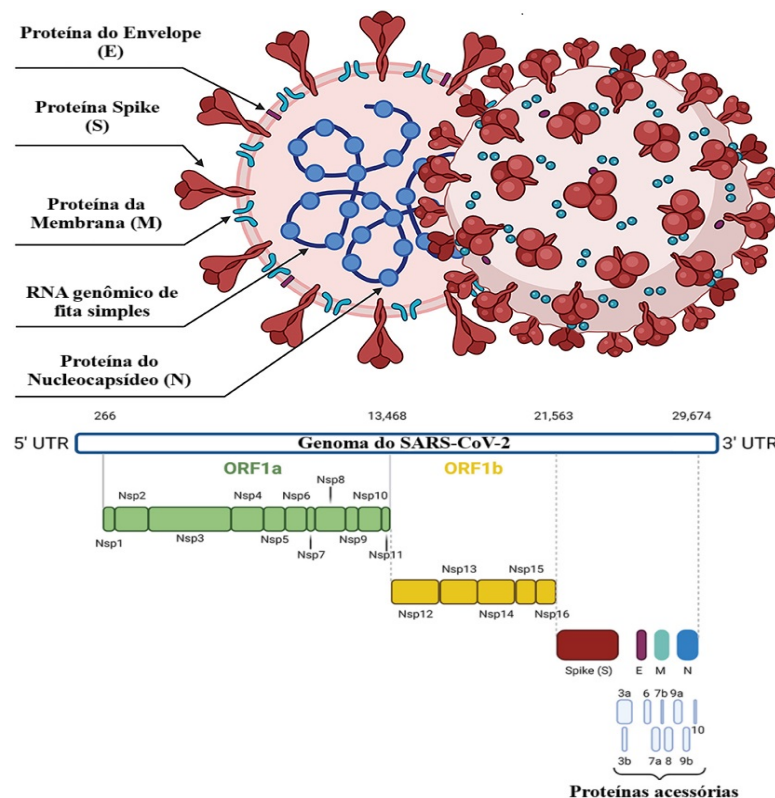
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais do SARS-CoV-2

O Coronavírus 2 Causador de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2) é o agente etiológico causador da doença do coronavírus de 2019 (covid-19). O SARS-CoV-2 é pertencente à família *Coronaviridae* e ao gênero *Betacoronavirus* da linhagem B (ZHU *et al.*, 2020). A sua sequência é 79% idêntica ao do SARS-CoV-1 e 53% ao do Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (PADHAN; PARVEZ; AL-DOSARI, 2021). Sendo filogeneticamente mais próximo ao SARS-CoV-1 (ZHOU *et al.*, 2020)

O SARS-CoV-2 possui um genoma que é uma fita simples de RNA de sentido positivo. Este genoma contém 14 quadros de leitura aberta (ORFs) e codifica um total de 29 proteínas. Dessas, nove são proteínas acessórias, 16 são não estruturais (nsp) e quatro são estruturais. As quatro proteínas estruturais são importantes para a montagem da partícula viral e são: Spike (S), Nucleocapsídeo (N), Membrana (M) e Envelope (E). As ORFs 1a e 1b codificam as 16 nsps, que são importantes para a síntese de RNA viral (BAI; ZHONG; GAO, 2021).

Figura 1 – A estrutura da partícula do SARS-CoV-2 e os genes codificantes.



Legenda: Vírion do SARS-CoV-2 e o genoma. O vírion é composto por quatro proteínas estruturais: a proteína Spike, a do Envelope, a da Membrana e a do Nucleocapsídeo, e o genoma viral, que é um RNA de fita simples de senso positivo. O genoma viral possui o ORF1a, que codifica as proteínas não estruturais de 1 até 11; e a ORF1b, que codifica as proteínas não estruturais de 12 até 16. O genoma também codifica as quatro proteínas estruturais e nove acessórias. Fonte: Modificado de Pizzato *et al.* (2022).

A proteína S desempenha o papel de reconhecimento do receptor, além de se ligar à célula alvo e promover a fusão. Por conta dessas características, ela se torna um alvo interessante para o desenvolvimento de medicamentos antivirais (HUANG *et al.*, 2020). A proteína S é uma glicoproteína encontrada na superfície do envelope viral e possui duas subunidades: S1 e S2. A subunidade S2 contém um peptídeo de fusão e dois domínios de repetição heptadica (HR 1 e 2), utilizados para o processo de fusão. Enquanto isso, a subunidade S1 possui o domínio de ligação ao receptor (RBD) e o domínio N-terminal (NTD). Por meio da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), a proteína S reconhece e se liga a essa molécula, o que permite o início da entrada do vírus na célula alvo (WRAPP *et al.*, 2020; ASLAM *et al.*, 2023). Inclusive com maior afinidade ao ECA2 do que o do SARS-CoV-1 (WRAPP *et al.*, 2020).

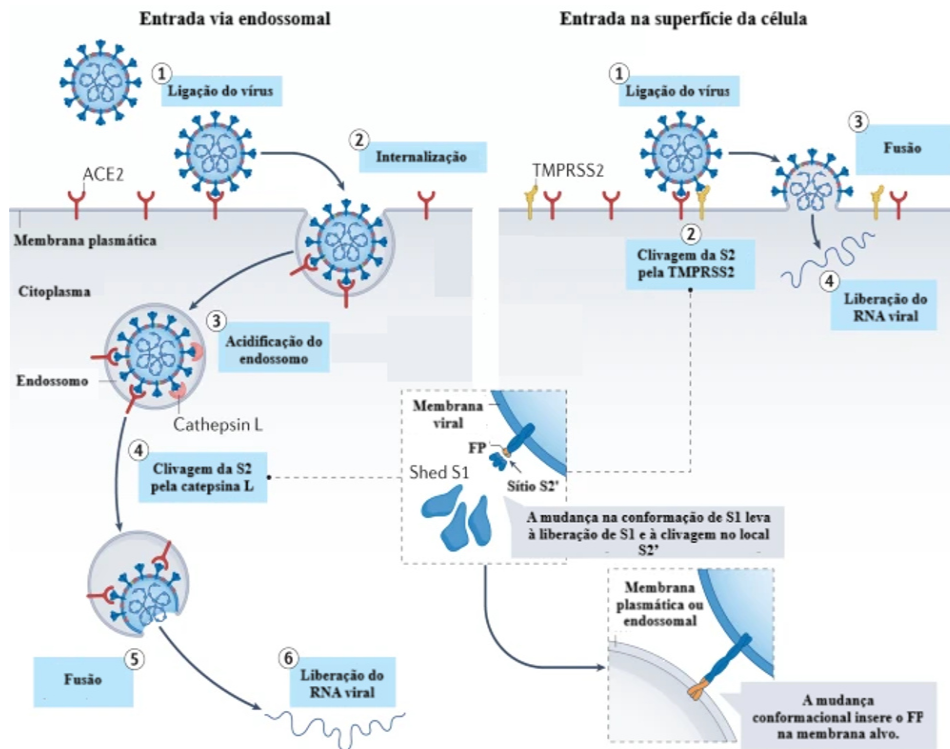
Para que o SARS-CoV-2 consiga penetrar na célula-alvo, são necessários dois processos de clivagem na proteína S o primeiro se dá na intersecção das subunidades S1 e S2, que ocorre durante a maturação da partícula viral, enquanto o segundo ocorre dentro da subunidade S2, mais precisamente na região S2', quando a proteína S se liga ao ECA2 (JACKSON *et al.*, 2021).

Quando a proteína S se liga à ECA2, ocorrem mudanças conformacionais que expõem o sítio S2'. Os eventos subsequentes dependem da presença ou ausência da protease transmembranar de serina 2 (TMPRSS2). Na ausência ou quantidade limitada de TMPRSS2, impedindo que o virion-ECA2 encontre a protease, o virion-ECA2 é endocitado via clatrina, formando o endossomo. O endossomo é acidificado, o que permite que as catepsinas clivem o sítio S2', dissociando a S1 de S2 e expondo o peptídeo de fusão (JACKSON *et al.*, 2021)..

A dissociação provoca alterações conformacionais na S2, especialmente na HR1, que “empurra” o peptídeo de fusão para a membrana da célula. Isso resulta na fusão com a membrana celular, criando um poro de fusão. Através deste poro, ocorre a liberação do genoma viral dentro da célula onde irá acontecer o desnudamento e o processo de replicação. Já quando a TMPRSS2 está presente na superfície da célula, a clivagem do sítio S2' ocorre na

superfície celular, permitindo a fusão imediata e a liberação do genoma viral dentro da célula (JACKSON *et al.*, 2021). Esses processos podem ser visualizados na Figura 2.

Figura 2 – Ligação e penetração do SARS-CoV-2 na célula-alvo



Legenda: Ligação ao ECA2 e penetração do SARS-CoV-2. Via endossomal: A partícula viral, ao se ligar ao ECA2 e não encontrar a presença de TMPRSS2 nas proximidades, é endocitada via clatrina, formando o endossomo. A acidificação do endossomo permite que as catepsinas cleavem o sítio S2', separando S1 de S2 e expondo o peptídeo de fusão. Essa separação muda a estrutura 3D da S2, fazendo com que o peptídeo de fusão seja “empurrado” para a membrana da célula, resultando na fusão com a membrana, o que cria um poro de fusão por onde ocorre a liberação do genoma viral no citosol. Via entrada na superfície: caso o vírion-ECA2 encontre o TMPRSS2, ocorre a clivagem no sítio S2' na superfície da célula, ocorrendo a fusão imediata e liberação do genoma viral no citosol. Fonte: Modificado de JACKSON *et al.*,(2021)

Nesse sentido, a compreensão das estruturas presentes na proteína S é essencial para o progresso de novas abordagens no combate à doença, especialmente diante da variabilidade das diferentes cepas. A comparação entre a proteína em diversas variantes é uma ferramenta vital, permitindo uma investigação mais aprofundada e criteriosa que é fundamental para o desenvolvimento de terapias e vacinas eficazes contra a covid-19 (ASLAM *et al.*, 2023).

Já em relação a proteína E, ela possui papel na patogênese e maturação viral (YANG *et al.*, 2022). Os canais seletivos de íons catiônicos, que são formados por esta viroporina, se organizam na membrana lipídica do compartimento intermediário do retículo endoplasmático de Golgi. Além disso, a resposta inflamatória da célula hospedeira ao vírus está vinculada a esses canais (XIA *et al.*, 2021; SOMBERG *et al.*, 2022).

Os inibidores de canal demonstraram eficácia contra o SARS-CoV-2, além de uma notável atividade de proteção celular *in vitro*. Tais ações estavam intrinsecamente ligadas à inibição do canal da proteína E. Diminuição da inflamação foi evidenciado após intervenção com os inibidores (XIA *et al.*, 2021). Funções cruciais como replicação, brotamento e empacotamento do RNA viral são desempenhadas pela proteína N (WANG, Y. *et al.*, 2023).

A proteína N causa uma resposta robusta e disseminada de anticorpos é desencadeada por ser um potente ativador do sistema imunológico, e está em alta concentração durante infecções agudas (VANDERVAART *et al.*, 2023) Os anticorpos específicos em questão são potenciais indicadores de infecções passadas, uma vez que as vacinas não os têm como alvo (CLARKE *et al.*, 2022). A proteína M, que é a mais abundante no envelope viral, desempenha um papel fundamental na montagem viral; ela coordena e encaminha as proteínas estruturais para os locais de brotamento. É postulado que haja interações com o genoma viral e outras proteínas estruturais devido ao seu domínio citosólico carregado positivamente (A DOLAN *et al.*, 2022).

Os tecidos que são considerados de risco elevado de infecção possuem uma proporção de expressão de ECA2 superior a 1%. Entre eles, temos o tecido cardíaco, com mais de 7,5% o pulmão, com mais de 1%, rim com 4%, o trato respiratório inferior, com 2% (ZOU *et al.*, 2020; SHEN *et al.*, 2023) Exemplos de células que o vírus é capaz infectar incluem: células alveolares tipo II (pulmões), células epiteliais no túbulo distal e nos ductos coletores (rins), células epiteliais na mucosa e nas glândulas (intestinos) (LIU, J. *et al.*, 2021). Além de linfócitos B e monócitos (PONTELLI *et al.*, 2022).

2.2 Covid-19

A covid-19 pode ser apresentar de várias formas, desde forma assintomática, leve, moderada, até casos mais graves e críticos. O Ministério da Saúde classifica aqueles com sintomas leves, que podem incluir manifestações clínicas, como: dor de garganta, coriza, tosse, podendo ser acompanhados por diarreia, febre, dor muscular, cansaço, dor de cabeça, dor abdominal, perda do olfato, perda do paladar e/ou calafrios. A forma moderada da doença pode variar desde manifestações leves, como a persistência da tosse e febre diária de caráter

persistente, até uma piora progressiva da fraqueza muscular, diarreia, redução do apetite, prostração e presença de pneumonia sem complicações (BRASIL, 2023a). Segundo o National Institute of Health (NIH), é considerada moderada quando a saturação periférica de oxigênio é igual ou superior a 94% e há evidência de doença no sistema respiratório inferior, seja por exames de imagem ou exame clínico. Devido ao risco de rápida piora nesse grupo, deve-se monitorar esse grupo (NIH, 2023).

A condição grave é evidenciada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), que se manifesta como um quadro gripal com saturação periférica de oxigênio inferior a 95%, ou lábios/rosto com tonalidade azulada, ou dificuldade/desconforto para respirar ou pressão contínua no peito (BRASIL, 2023a). Para a NIH, os casos graves apresentam $PaO_2/FiO_2 < 300$ mm Hg, infiltrados pulmonares $> 50\%$, saturação periférica de oxigênio inferior a 94% em ar ambiente ao nível do mar, ou uma frequência respiratória superior a 30 respirações por minuto. Sendo necessária hospitalização e assistência respiratória (NIH, 2023). Para casos críticos há presença de falência respiratória aguda, pneumonia grave, disfunção em vários órgãos, sepse, síndrome do desconforto respiratório agudo, internação nas unidades de terapia intensiva (UTI), demanda por assistência respiratória (BRASIL, 2023a). NIH complementa com agravamento de condições médicas adicionais preexistentes, resposta inflamatória exagerada, doença trombótica, e choque séptico causado por vírus (NIH, 2023).

Foi evidenciado que a forma grave está associada a níveis elevados de neutrófilos e leucócitos, creatinina quinase, proteína C-reativa (PCR) de alta sensibilidade, troponina I de alta sensibilidade, interleucina (IL) 6, D-dímero e alta taxa de sedimentação de eritrócitos, bem como níveis baixos de linfócitos e hemoglobina, quando comparado com a forma leve da doença. Cardiopatia, hipertensão, *diabetes mellitus*, e doença respiratória crônica foram associadas a gravidade (MUDATSIR *et al.*, 2021). O sexo masculino também já foi evidenciado como possuindo predisposição para evolução ao óbito e internação em UTI (PECKHAM *et al.*, 2020)

Biomarcadores para avaliar a evolução da covid-19, incluem: hematológicos: amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos, contagens de neutrófilos e linfócitos, ferritina, D-dímero, e razão de neutrófilos linfócitos; lesão pulmonar: Krebs von den Lungen-6; cardíacos: mioglobina, troponina, e creatina quinase Forma MB; imunológicos e inflamatórios: IL-6, PCR, e procalcitonina (SEMIZ, 2022). As diferentes categorias de gravidade das manifestações clínicas na covid-19 e observações adicionais podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1 – Manifestações clínicas das diferentes gravidades na covid-19.

Gravidade	Manifestações clínicas	Observações
Assintomático	Ausência.	--
Leve	Dor de garganta, coriza, tosse, podendo ser acompanhados por diarreia, febre, dor muscular, cansaço, dor de cabeça, dor abdominal, perda do olfato, perda do paladar e/ou calafrios.	--
Moderado	Envolve desde de persistência da tosse e febre diária de caráter persistente, até uma piora progressiva de fraqueza muscular, diarreia, apetite diminuído, prostração desenvolvimento de pneumonia sem sinais de complicações.	Há evidência de doença no sistema respiratório inferior. Risco de rápida piora nesse grupo, deve-se monitorar esse grupo.
Grave	SRAG. PaO ₂ /FiO ₂ <300 mm Hg, infiltrados pulmonares >50%, saturação periférica de oxigênio inferior a 94% em ar ambiente ao nível do mar, ou uma frequência respiratória superior a 30 respirações por minuto	Comorbidades aumentam risco de gravidade. Necessidade de hospitalização e assistência respiratória.
Crítico	Falência respiratória aguda, pneumonia grave, disfunção em vários órgãos, síndrome do desconforto respiratório agudo, sepse, internação em UTI, necessidade de assistência respiratória. Agravamento de condições médicas adicionais preexistentes, resposta inflamatória exagerada, doença trombotica, e choque séptico causado por vírus	PCR, IL-6, procalcitonina, D-dímero, razão de neutrófilos-linfócitos são exemplos de potenciais biomarcadores para a gravidade. Sexo masculino apresenta predisposição a internação e óbito.

Fonte: (PECKHAM *et al.*, 2020; MUDATSIR *et al.*, 2021; SEMIZ, 2022; BRASIL, 2023a; NIH, 2023).

Outro aspecto preocupante desta doença é a chamada covid-19 longa. Esta pode ser definida como: a presença de manifestações clínicas e/ou um novo mal-estar persistindo por mais de 4 semanas, após a infecção aguda por covid-19 comprovada em laboratório, apesar das intervenções terapêuticas realizadas. Exemplos de manifestações observadas na covid-19 longa incluem perda do olfato, perda de memória, vômitos e náuseas, mialgia, fraqueza geral e confusão mental (SZABO *et al.*, 2023).

Uma correlação foi observada entre a persistência viral em vários tecidos e as manifestações da covid-19 prolongada em pacientes com a forma leve da doença (ZUO *et al.*, 2024). Acredita-se que a ocorrência da covid-19 longa possa ser decorrente de danos prolongados em tecidos como o cérebro e o pulmão, além de uma inflamação patológica. Tal inflamação pode ser provocada por elementos como autoimunidade, persistência viral e desregulação imunológica. A gravidade inicial da covid-19 aguda, ser do sexo feminino e apresentar mais de cinco sintomas no início da doença são fatores potencialmente significativos que podem intensificar a suscetibilidade para essa condição. Contudo, é necessário realizar mais pesquisas (YONG, 2021).

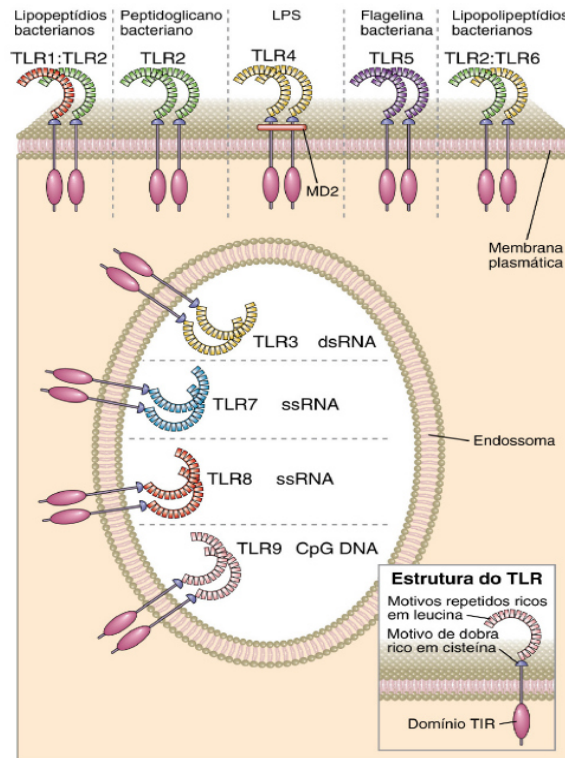
2.3 Resposta imunológica

2.3.1 Reconhecimento de agentes microbianos pelo sistema inato

Os PRRs, que são os Receptores de Reconhecimento de Padrão, são usados pelo sistema imunológico inato. Esses receptores identificam os Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMP) e os Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMP). Após a identificação, promove efeitos imunoprotetores inespecíficos, como a proteção contra infecções. Os PRRs incluem: Receptores do tipo Gene-I Indutível por Ácido Retinóico (RIG-I) (RLRs), Receptores do Tipo Toll (TLRs), Receptores do Tipo Domínio de Oligomerização de Nucleotídeos (NOD) (NLRs) (LI; WU, 2021). Há diversas células imunológicas inatas, incluindo: células dendríticas, neutrófilos, macrófagos, monócitos, células linfóides inatas, mastócitos, e células *natural killer* (NK) (MARSHALL *et al.*, 2018)

Os Receptores do Tipo Toll (TLRs), por exemplo, são extensivamente expressos tanto em células não imunológicas (como células endoteliais e fibroblastos) quanto em células imunológicas (como macrófagos e células dendríticas). Eles exercem um papel ativo na proteção contra infecções por vírus, fungos e bactérias. A ativação dos TLRs impulsiona a produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias e interferon do tipo I. Lesões teciduais, sepse e inflamação exacerbada podem ser desdobramentos de uma estimulação excessiva ou desregulação dos TLRs (KIRCHEIS; PLANZ, 2023). A localização dos TLRs e seus respectivos ligantes podem ser observados na Figura 3.

Figura 3 – Localização das TLRs na célula e os PAMPs que cada uma reconhece



Legenda: Alguns receptores do tipo Toll (TLRs) são expressos na superfície celular, enquanto outros são encontrados nos endossomas. Os TLRs 1 e 2 são capazes de detectar lipopeptídeos bacterianos. O TLR2 é responsável pela detecção de peptidoglicanos bacterianos. O TLR3 detecta RNA de fita dupla. O TLR4, com a ajuda da proteína MD2, é capaz de reconhecer lipopolissacarídeos. O TLR5 detecta a flagelina bacteriana. Os TLRs 6 e 2 juntos reconhecem lipopolissacarídeos bacterianos. Os TLRs 7 e 8 são responsáveis pela detecção de RNAs de fita simples. Por fim, o TLR9 detecta DNA de fita dupla ou simples com motivos CpG não metilados. Fonte: (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015)

A sinalização dos TLRs pode ser categorizada em dois tipos: aquele que é dependente do Fator 88 de Diferenciação Mieloide (MyD88) e o que é independente de MyD88. Tal categorização se dá em função da existência de proteínas adaptadoras distintas. Na via que é dependente de MyD88, tem-se a indução de quimiocinas, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF), e IL-1. Por outro lado, na via independente, a proteína adaptadora é a adaptador indutor de interferon- β contendo domínio TIR que causa a indução IFN α e β (LI; WU, 2021).

Dentre os RLRs, há três: Laboratório de Genética e Fisiologia 2, o gene associado à diferenciação de melanoma 5 (MDA5), e o gene induzível por ácido retinóico I (RIG-I). Os RLRs apresentam dois domínios: o domínio carboxi-terminal e o domínio helicase central, que atuam em conjunto para detectar RNAs imunostimulatórios. Entretanto, somente RIG-I e MDA5 possuem domínios de ativação e recrutamento de caspases amino-terminais,

responsáveis pela transdução de sinal downstream. MDA5 e RIG-I são cruciais para a indução de interferon tipo I e defesa antiviral. O Laboratório de Genética e Fisiologia 2 é considerado regulador do MDA5 e RIG-I (REHWINKEL; GACK, 2020). RNAs de fita dupla curtos, ou com modificação de 5'-trifosfato ativam o RIG-I (YAMADA; TAKAOKA, 2023), enquanto ainda não há certeza sobre a estimulação de MDA5 por RNA (DIAS JUNIOR *et al.*, 2019).

2.3.1.1 Reconhecimento do SARS-CoV-2 pelo sistema inato

O reconhecimento de estruturas do SARS-CoV-2 pelos PRRs é amplamente estudado (DIAMOND; KANNEGANTI, 2022; YAMADA; TAKAOKA, 2023). Foi observado que produção da quimiocina CXCL8 é promovida pela interação entre proteína E e TLR2, via fator nuclear kappa B (NF- κ B) (PLANÈS *et al.*, 2022). Similarmente outro estudo indicou que a interação entre a proteína E e TLR2 promoveu a produção de TNF e IL-6 e dano pulmonar. O bloqueio da TLR2 sendo benéfico contra imunopatologia do SARS-CoV-2 (ZHENG *et al.*, 2021). De forma intrigante, a proteína E não demonstrou ativar a TLR2 em células epiteliais pulmonares, monócitos e macrófagos. No entanto, a proteína S foi identificada como ligante da TLR2 e resultou na produção de quimiocinas e citocinas inflamatórias via NF- κ B. (KHAN *et al.*, 2021).

Em uma análise de acoplamento molecular, foi constatado que a proteína S se liga aos receptores TLR1, TLR4 e TLR6. A mais intensa dessas interações ocorre com o receptor TLR4 (CHOUDHURY; MUKHERJEE, 2020). Também foi constatado que o TLR7 é responsável pela indução de IFN tipo III e I, enquanto o TLR3 induz IL-6, IFN tipo I e IL-1. (BORTOLOTTI *et al.*, 2021). A habilidade da proteína S de se ligar ao lipopolissacarídeo de bactérias é um ponto importante a ser destacado (PETRUK *et al.*, 2020). Em preparações de proteína S purificada, existe uma preocupação com a contaminação por lipopolissacarídeos (DIAMOND; KANNEGANTI, 2022). Existe a possibilidade de contaminação por PAMPs bacterianos em proteínas recombinantes produzidas por bactérias, como a *Escherichia coli*, portanto, é preciso ter um cuidado adicional (KHAN *et al.*, 2021).

A Proteína 3 que Contém Domínio de Pirina da Família NLR (NLRP3), é ativada tanto por PAMPs quanto por DAMPs, e aparentemente detecta infecções por coronavírus. Após a ativação, induz a ativação da caspase-1, resultando na produção e liberação das formas ativas de IL-1 β e IL-18, bem como na clivagem da gasdermina-D (GSDMD). Esta clivagem leva à formação de poros na membrana celular, culminando em piroptose. Notou-se uma correlação entre a gravidade e a progressão para óbito da covid-19 com altos níveis de IL-1 β e IL-18 (DIAMOND; KANNEGANTI, 2022).

Nas células epiteliais brônquicas e alveolares, postula-se que o RIG-I, um dos RLRs, seja o primeiro a identificar o SARS-CoV-2, sendo capaz de impedir a replicação, sem indução de citocinas. A MDA5, quando o SARS-CoV-2 inicia a síntese do RNA de sentido negativo, desempenha um papel crucial como sensor viral, induzindo citocinas e IFN tipo I/III (YAMADA; TAKAOKA, 2023). Foi observado que uma deficiência de RIG-I, MDA5 ou da proteína de sinalização antiviral mitocondrial pode promover replicação viral (YANG, D. *et al.*, 2021).

Através de uma série de sensores e moléculas efetoras, incluindo NLRs, TLRs, RLRs, sensores de inflamassoma e outros não explorados aqui, o sistema imunológico inato é capaz de detectar infecções virais. Isso resulta na produção de citocinas, morte celular e sinalização de IFN, que auxiliam no combate contra o vírus. Existem mecanismos conhecidos que o SARS-CoV-2 utiliza para antagonizar essas defesas inatas. Além disso, a gravidade da covid-19, a progressão para óbito, a morte celular e a tempestade de citocinas estão associadas à hiperativação da resposta imune inata. (DIAMOND; KANNEGANTI, 2022).

2.4 Patogênese da covid-19

O SARS-CoV-2, provavelmente, inicia sua invasão nas células multiciliadas localizadas na traqueia ou nasofaringe, ou nas células sustentaculares presentes na mucosa olfatória nasal, onde após a invasão, inicia a produção de proteínas virais, incluindo replicases que formam fábricas de replicação. Essas fábricas protegem os intermediários de síntese de RNA da detecção por PRRs via vesículas de dupla membrana (LAMERS; HAAGMANS, 2022).

Caso o vírus não seja eliminado pelo sistema imunológico, ele tem a capacidade de atingir o sistema respiratório inferior (SRI). Isso pode ocorrer através da inalação de vírions originários do trato respiratório superior ou pela propagação viral ao longo da árvore traqueobrônquica. Alternativamente, a infecção pode iniciar diretamente no SRI, podendo ocasionar inflamação devido à infecção resultando em troca gasosa diminuída. Os pneumócitos tipo II são os principais alvos dessa infecção. A replicação pode ocasionar diminuição na produção de surfactante, apoptose e inflamação (LAMERS; HAAGMANS, 2022)

Células como neutrófilos, monócitos, macrófagos, e células dendríticas são atraídas para os pulmões como consequência da infecção pelo SARS-CoV-2 (LOWERY; SARIOL; PERLMAN, 2021), que ocorre no início da infecção. Linfócitos T específicos para o vírus migram para os pulmões em seguida para eliminar o vírus. Um aumento na produção de

quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias, e o influxo de células de defesa aos locais afetados resultam desses eventos. TNF, IL-6, IL-2, proteína quimiotática de monócitos-1, IL-10 e interferon (IFN)- γ são exemplos dessas citocinas e quimiocinas (BEIGEL; UYEKI, 2023)..

Como levantado por Lamers e Haagsmans (2022) a deposição de fibrina é a consequência da ativação e recrutamento de plaquetas, bem como da iniciação da cascata de coagulação devido à exposição da matriz extracelular subendotelial. Simultaneamente, inflamação e a coagulação são intensificadas pelo recrutamento de neutrófilos e monócitos que exibem fenótipos disfuncionais. A formação de microtrombos é favorecida pelas redes extracelulares de neutrófilos (NETs) liberadas pelos neutrófilos ativados pelas plaquetas. Os macrófagos presentes nos alvéolos e podem adotar um fenótipo pró-inflamatório e fibrótico. A PANoptose de células T é promovida pela inflamação exacerbada que ocorre paralelamente. A consequência é a hipoxemia, causada pela troca gasosa comprometida em um pulmão inflamado (LAMERS; HAAGMANS, 2022).

Em alguns casos, indivíduos podem sofrer disfunção de múltiplos órgãos devido a um estado hiperinflamatório, comumente chamado de “tempestade de citocinas”. Contudo, a grande maioria das pessoas infectadas consegue eliminar o SARS-CoV-2 devido à resposta imunológica. A “tempestade de citocinas” é marcada por uma resposta imunológica exagerada e desbalanceada, que pode resultar em diversas desordens (BEIGEL; UYEKI, 2023).

Quando ocorre uma superativação das células do sistema imunológico e uma produção exacerbada de citocinas inflamatórias, surge essa condição potencialmente letal e de evolução acelerada. As manifestações médicas resultantes variam amplamente, abrangendo desde dores musculares e febre contínua até coagulação intravascular disseminada, histiocitose hemofagocítica, falência de múltiplos órgãos, e síndrome do desconforto respiratório agudo. Em casos extremos, pode evoluir para óbito (MANGALMURTI; HUNTER, 2020; YANG, L. *et al.*, 2021).

Existe uma associação entre a gravidade da doença e a linfopenia, sendo observada uma redução na população de células B, T CD4+ e CD8+, por exemplo. Algumas possíveis explicações para a linfopenia envolvem: a destruição de linfonodos e baço pelo vírus, a ação de citocinas anti e pró-inflamatórias que causam esgotamento e exaustão (YANG, L. *et al.*, 2021); apoptose de linfócitos B e T após infecção pelo vírus (ZHU *et al.*, 2022), formação de sincícios multinucleados tem a capacidade de internalizar linfócitos e então há eliminação via célula dentro de célula. (ZHANG *et al.*, 2021). Aumento de moléculas marcadoras de NET, e neutrofilia foram vistos na covid-19 grave (CHEN *et al.*, 2020). Destruição tecidual pode ser

resultado de resposta excessiva de neutrófilos (KULKARNI *et al.*, 2019). A razão de neutrófilos para linfócitos podendo ser utilizado como biomarcador para evolução da doença (SEMIZ, 2022).

Nos casos leves da doença, observa-se um acúmulo de monócitos inflamatórios HLA-DR^{high} CD11c^{high} nos monócitos circulantes, no entanto, na forma crítica, eles estão reduzidos. Essa subpopulação, que expressa genes estimulados por IFN, está associada a uma resposta de resolução. Em contraste, na forma crítica da doença, os monócitos HLA-DR^{low} S100A^{high} estão presentes em altos níveis. Esses monócitos contribuem para a exaustão do sistema imunológico e para respostas exacerbadas, pois expressam citocinas pró-inflamatórias e alarminas (PALUDAN; MOGENSEN, 2022).

O SARS-CoV-2, conforme demonstrado, não se limita apenas a células do sistema respiratório. O vírus pode infectar células como enterócitos, macrófagos, cardiomiócitos e células endoteliais, devido à expressão do ECA2 (DOMINGO *et al.*, 2020). As manifestações extrapulmonares podem estar relacionadas à desregulação das respostas imunes, ao dano direto ao tecido pelo vírus, à maladaptação das vias relacionadas ao ECA2, ao dano endotelial e à tromboinflamação (GUPTA *et al.*, 2020)

2.5 Epidemiologia da covid-19

2.5.1 Linha do tempo

Em 12 de dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, na China, surgiram casos de pessoas com sintomas de uma doença atípica semelhante a uma pneumonia. No dia 31, o Escritório Nacional da Organização Mundial da Saúde (OMS)/World Health Organization (WHO) na China é informada sobre casos de pneumonia causadas por um agente etiológico desconhecido, febre e falta de ar são relatados. No dia cinco de janeiro de 2020 a sequência do vírus causadora da pneumonia atípica, temporariamente chamado de Wuhan-Hu-1, é subestimada ao Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças, em Pequim, China. A sequência permanece indisponível para os outros países. No dia sete é descoberto que o agente etiológico é um novo coronavírus (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2023). No dia dez, a OMS oficializou os termos “Novo Coronavírus 2019” ou “2019-nCoV”. No dia seguinte, a China confirmou a primeira morte pelo novo coronavírus. Ao longo de janeiro, o vírus foi confirmado em outros países. No dia 21, a transmissão de humano para humano foi confirmada, aumentando a disseminação do vírus (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2023). A OMS declarou que

o novo coronavírus é uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional. O vírus foi confirmado em 18 países no dia 30 de janeiro de 2020 (OPAS, 2020).

Em 11 de fevereiro de 2020, o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) nomeou o novo coronavírus como SARS-CoV-2 devido à sua semelhança genética com o SARS-CoV-1, que causou um surto em 2003 (WHO, 2023a). O SARS-CoV-2 foi confirmado no Brasil em 26 de fevereiro. O diagnóstico foi feito em um homem que havia viajado para a Itália e que foi admitido no Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo (BRASIL, 2020). Em 11 de março de 2020, a OMS anuncia estado de pandemia, após 118,000 casos e 4,291 óbitos distribuídos em 114 países. Diferentes vacinas começam a ser produzidas contra o SARS-CoV-2 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2023). No Brasil, a campanha de vacinação começou em 17 de janeiro de 2021. Um ano após o início da campanha de vacinação, 74,1% da população elegível estavam completamente vacinada e 89,3% haviam recebido a primeira dose, totalizando mais de 300 milhões de doses aplicadas (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2022). Em 5 de maio, foi anunciado que a emergência de saúde global da covid-19 chegou ao fim. No entanto, ainda permanece como ameaça global (WHO, 2023b).

2.5.2 Cenário da covid-19 no Brasil

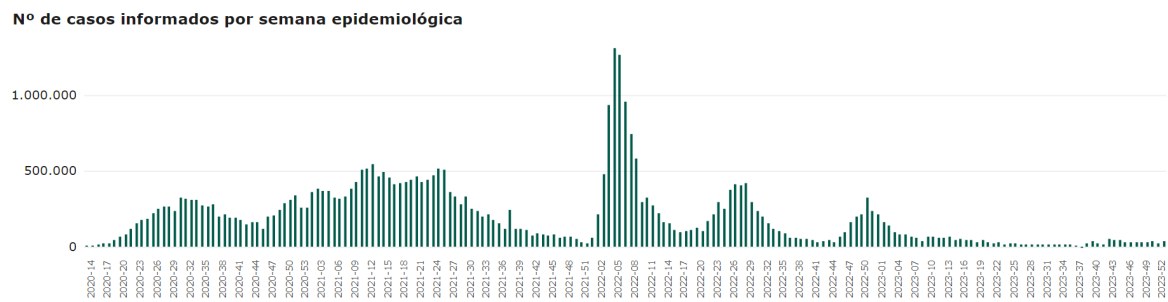
Até 12 de abril de 2024 o Brasil registrou mais de 38 milhões de casos e 700 mil mortes por covid-19, com uma taxa de letalidade de 1,8%, mortalidade de 338,6 por 100 mil pessoas e incidência de 18.443 por 100 mil pessoas, de acordo com o Painel Nacional de covid-19 do Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASS). Em 2020, a taxa de letalidade era de 2,5%, com incidência de 3.672 e mortalidade de 93 por 100 mil pessoas. 2021 teve os piores números, com uma taxa de letalidade de 2,9%, mortalidade de 201 e incidência de 6.935 por 100 mil pessoas. Em 2022, a taxa de letalidade foi de 0,5%, incidência de 6.682 e mortalidade de 36 por 100 mil pessoas. Em 2023, a mortalidade é de 7 e incidência de 894 por 100 mil pessoas e letalidade de 0,8% (CONASS, 2024).

No ano de 2020, as semanas epidemiológicas de 30 a 33 registraram mais de 300 mil casos. Esse padrão se repetiu nas semanas 50 e 51, sendo que a última atingiu o pico do ano com 333.028 casos. O total de casos reportados em 2020 foi de 7.716.405. Em 2021, as semanas epidemiológicas de 10 a 12 e de 24 a 25 registraram mais de 500 mil casos, com a semana 12 atingindo o pico de 539.903 casos. A partir da semana 30, o número de casos não atingiu 300 mil em nenhuma semana. O total de casos reportados em 2021 foi de 14.573.707. Já em 2022, as semanas epidemiológicas de 2 a 8 se destacaram com mais de 450 mil casos.

As semanas 4 e 5 foram especialmente notáveis, registrando mais de 1 milhão de casos, com a semana 4 marcando o pico do ano com 1.305.447 casos. A partir da semana 9, o número de casos não atingiu 420 mil em nenhuma semana. O total de casos reportados em 2022 foi de 14.041.169. Em 2023, as duas primeiras semanas apresentaram o maior número de casos, com 157.105 e 136.328 casos, respectivamente. Nas semanas seguintes, o número de casos não atingiu 100 mil. O total de casos reportados em 2023 foi de 1.879.583 (CONASS, 2024).

A variante que já se espalhava de forma preocupante em dezembro de 2021, a Ômicron, coincidiu com a alta de casos de 2022 (MENEZES *et al.*, 2022). Com a ômicron sendo altamente mais transmissível do que as outras variantes (WOLF *et al.*, 2022). O número de casos da semana 13 de 2020 até a última de 2023 pode ser visualizada na Figura 4.

Figura 4 – Número de casos relatados a partir da 13^a semana de 2020 até a 52^a semana de 2023.



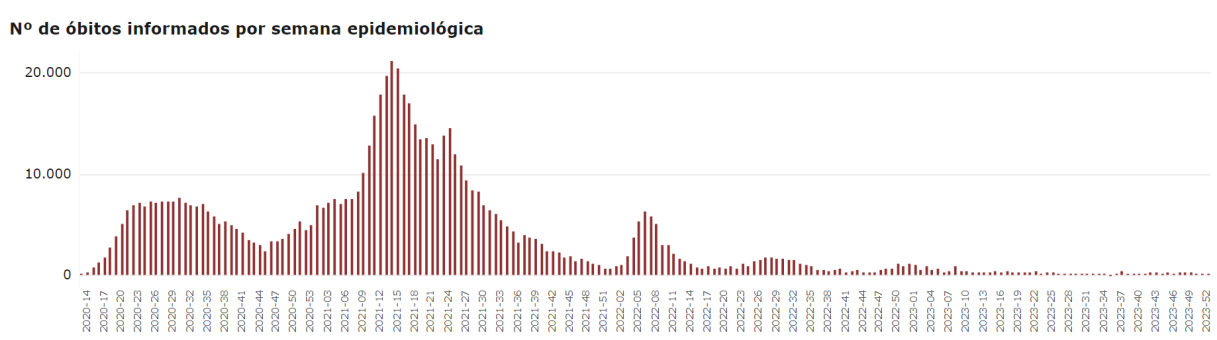
Fonte: (CONASS, 2024)

Durante o ano de 2020, foram registrados mais de 6 mil óbitos da semana 21 até a 35. A semana 30 foi o pico do ano, com 7.677 óbitos registrados. A partir da semana 36, os óbitos não chegaram a 6 mil. O ano de 2020 terminou com 195.725 óbitos. No ano de 2021, entre as semanas epidemiológicas 11 e 17, foram registrados mais de 15 mil óbitos. As semanas 14 e 15 se destacaram por superarem mais de 20 mil casos, sendo que a semana 14 foi o pico do ano, com 21.141 óbitos registrados. O ano de 2021 terminou com 423.349 óbitos. Em 2022, as semanas 5 até 8, foram registrados mais de 5 mil óbitos, sendo que a semana 6 foi o pico do ano, com 6.246 óbitos registrados. A partir da semana 12, os óbitos registrados não atingiram 2 mil. O ano de 2022 terminou com 74.779 óbitos registrados. Em relação a 2023, a primeira, terceira e oitava semanas se destacaram em relação ao número de óbitos, com 953,

916 e 899 óbitos, respectivamente. As outras semanas não alcançaram 700 casos de óbito. O ano de 2023 terminou com 14.785 óbitos. (CONASS, 2024).

O pico de morte evidenciado no ano de 2021 provavelmente se deve a uma combinação da presença variante gama (MENEZES *et al.*, 2022) e problemas relacionados à saúde pública e fator socioeconômico (WOLF *et al.*, 2022). O número de óbitos da 13ª semana de 2020 até a última de 2023 pode ser visualizada na Figura 5

Figura 5 – Número de óbitos relatados a partir da 13ª semana de 2020 até a 52ª semana de 2023.



Fonte: (CONASS, 2024)

2.5.2.1 Cenário da covid-19 no Ceará

Entre a semana 13 de 2020 e a semana 14 de 2024, o estado do Ceará registrou 1.504.090 casos e 28.215 óbitos, tornando-se o nono estado com mais casos e o oitavo em número de óbitos. Em 2020, as semanas 23 e 41 se destacaram com mais de 17 mil casos cada, atingindo o pico na semana 41 com 17.095 casos. No que diz respeito aos óbitos, as semanas 23 e 24 apresentaram mais de 800 óbitos, sendo que a semana 23 teve o pico de 1.009 óbitos. O ano de 2020 encerrou com 336.574 casos e 10.015 óbitos. Em 2021, a semana 14 foi o ponto mais alto do ano, registrando 35.984 casos. As semanas 15, 16, 19 e 20 também reportaram mais de 30 mil casos. Em termos de óbitos, a semana 14 foi o ápice com 1.093 registros. O ano de 2021 encerrou com 620.461 casos e 14.791 óbitos. Em 2022, as semanas 04 e 05 se destacaram, registrando mais de 80 mil casos, com a semana 05 atingindo um pico de 103.073 casos. As semanas de 05 a 08 se destacaram por registrarem mais de 240 óbitos, com a semana 06 registrando 366 óbitos. O ano de 2022 encerrou com 480.136 casos e 3.261 óbitos. No ano de 2023, as semanas 50 e 52 se destacaram por registrarem mais de 7 mil casos, com a semana 52 apresentando 10.097 casos. Em relação aos óbitos, a semana 09 se destacou por ser o pico do ano com 43 óbitos, as outras semanas não atingiram 20 óbitos. O

ano de 2023 totalizou 54.483 casos e 148 óbitos. Em 2024, até a semana 14, as semanas 01 e 03 se destacaram por registrarem mais de 3 mil casos, sendo a semana 01 o pico com 4.816 casos. Até a referida semana de 2024, não houve óbitos, totalizando 12.436 casos e 0 óbito (CONASS, 2024). Comparação entre o Estado do Ceará e os cinco primeiros estados em relação a casos e óbitos reportados pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre o estado do Ceará e os cinco primeiros estados em relação a casos e óbitos. Entre a 13ª semana de 2020 até 14ª semana de 2024.

Estado	População (2019)	Casos	Posição (Casos)	Óbitos	Posição (Óbitos)
Ceará	9132078	1504090	9	28215	8
São Paulo	45919049	6845212	1	183071	1
Minas Gerais	21168791	4303224	2	66454	3
Rio Grande do Sul	11377239	3134185	3	42878	5
Paraná	11433957	3014711	4	46930	4
Rio de Janeiro	17264943	2941447	5	78045	2

Fonte: (CONASS, 2023)

2.6 Citocinas

2.6.1 IL-10

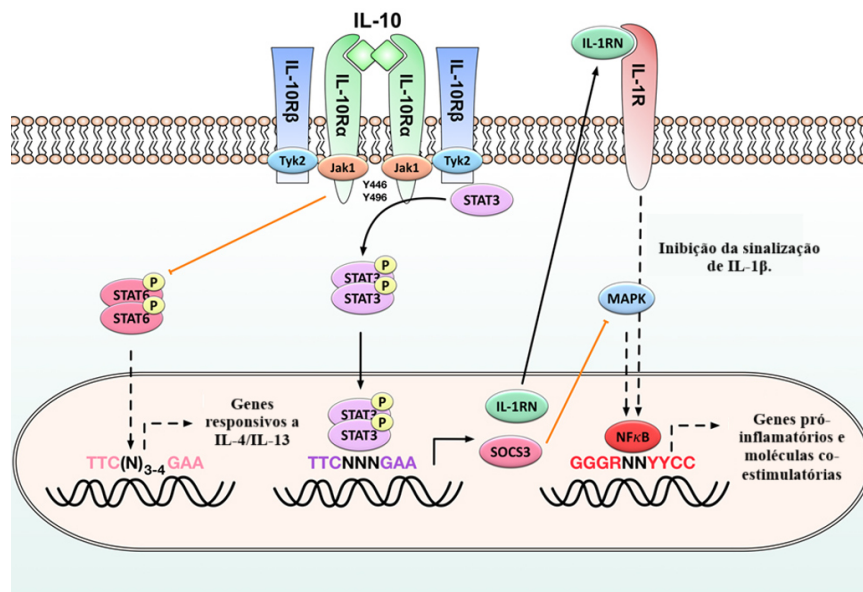
Descoberta em 1989, a IL-10 atua como um inibidor da produção de citocinas em células T auxiliares (Th) 1 e é produzida por células Th2. (FIORENTINO; BOND; MOSMANN, 1989; SARAIVA; VIEIRA; O’GARRA, 2019). Células dendríticas e macrófagos tem a sua produção de citocinas impedidas pela ação dessa citocina. Além de inibir a destruição de patógenos intracelulares. Mais tarde, descobriu-se que alguns vírus exploram essa propriedade de imunossupressão como estratégia de virulência. As células produtoras de IL-10, além de Th2, incluem células TCD8 e CD4, células dendríticas, macrófagos e macrófagos residentes, neutrófilos, monócitos, linfócitos B e NK (SARAIVA; VIEIRA; O’GARRA, 2019).

Por meio de um complexo receptor de IL-10 (IL-10R) a sinalização da IL-10 ocorre, ele é formado por duas cadeias alfa, que são alvos do ligante, e duas cadeias beta acessórias que transduzem o sinal. A IL-10R β é expressa em praticamente em todos os tipos de células. A IL-10R α é expressa em altos níveis por células dendríticas e macrófagos (SCHÜLKE, 2018). IL-10R α possui alta afinidade pela IL-10 (PORRO; CIANCIULLI; PANARO, 2020).

O processo de sinalização é ativado quando homodímeros de IL-10 se acoplam ao IL-10R α , provocando o recrutamento da Janus quinase (Jak)1 para a IL-10R α e a subsequente fosforilação. Paralelamente, a tirosina quinase (Tyk)2 é recrutada e fosforilada pela IL-10R β . Uma vez que essas quinases são fosforiladas, elas fosforilam os motivos de tirosina (Y446 e Y496) situados na região intracelular da IL-10R α . da IL-10R α (SCHÜLKE, 2018; PORRO; CIANCIULLI; PANARO, 2020).

O receptor complexo, após ser ativado, impulsiona a fosforilação do transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT)3, oferecendo locais de acoplamento temporários para STAT3 que habilitam a fosforilação de STAT3 por Jak1 e Tyk2. O STAT3, uma vez fosforilado, forma homodímeros transportados para o núcleo da célula e se acoplam aos elementos de consenso STAT nos promotores dos genes-alvo, ativando esses genes. Isso engloba o supressor da sinalização de citocinas 3 e o antagonista do receptor de IL-1. O supressor da sinalização de citocinas 3 bloqueia a ativação da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), a translocação nuclear de NF κ B e a indução associada da expressão de genes pró-inflamatórios. A Jak1 também é obstruída pelo supressor da sinalização de citocinas 3, resultando na inibição por feedback da via JAK1/Tyk2/STAT3 (SCHÜLKE, 2018; PORRO; CIANCIULLI; PANARO, 2020).

Figura 6 – Via de sinalização da IL-10.



Fonte: Modificado de (SCHÜLKE, (2018)

Conforme levantado por Carlini *et al.* (2023) as células NK são promovidas a migrar e proliferar pela IL-10, que também potencializa funções efetoras e atividade citotóxica. Observou-se que a IL-10 aumenta a produção de granzima e IFN- γ , aperfeiçoa a expressão do complexo principal de histocompatibilidade e facilita o reconhecimento de antígenos. Isso beneficia a sobrevivência e a atividade citotóxica das células T CD8⁺ ativadas por antígenos. IL-10 desempenha um papel na manutenção e geração de células T de memória efetora CD8⁺. Por fim, em relação às células B ela não só promove a diferenciação dessas células em plasmócitos que secretam imunoglobulinas, mas também intensifica a proliferação, a ativação celular e o crescimento. Além disso, a IL-10 atua na prevenção da apoptose nas células germinativas (CARLINI *et al.*, 2023).

Conforme levantado por Oft (2019), a IL-10 estabiliza a atividade das células T CD8⁺ que foram ativadas por antígenos, além de estimular a expressão de moléculas efetoras citotóxicas. A IL-10 endógena é crucial para a formação de uma memória robusta de células T CD8⁺ em contextos virais e tumorais, o que permite respostas de alta afinidade do receptor de células T. Ademais, a função antiapoptótica do STAT3 pode proteger as células T CD8⁺ após a ativação por antígeno. A IL-10 amplifica a expressão de IFN γ , o que facilita a expressão de MHC e o reconhecimento de antígenos. Além disso, a IL-10 promove a sobrevivência de células T CD8⁺ efetoras e de memória efetora que foram estimuladas por antígenos, aumentando as enzimas citotóxicas e o IFN γ (OFT, 2019).

Tanto as respostas imunológicas inatas quanto as adaptativas são influenciadas pela IL-10 no que se refere às suas capacidades imunossupressoras. Com a finalidade de reduzir danos teciduais provocados por respostas inflamatórias intensas e desreguladas, ela desempenha ações imunossupressoras, particularmente durante a etapa de resolução de infecções e inflamações (OUYANG; O’GARRA, 2019).

Os macrófagos, devido à sua alta expressão de IL-10R, são sugeridos como os principais alvos das funções imunossupressoras da IL-10. Foi observado que em macrófagos e outras células apresentadoras de antígeno, a IL-10 exerce um forte efeito imunossupressor. Isso ocorre por meio da supressão da transcrição de quimiocinas e citocinas, moléculas de adesão e coestimuladoras, e do complexo principal de histocompatibilidade II (SARAIVA; VIEIRA; O’GARRA, 2019).

Em células dendríticas, macrófagos e monócitos, a IL-10 também impede a apresentação de antígenos (MITTAL; A ROCHE, 2015). Observou-se que, quando estimuladas pela enterotoxina estafilocócica B, as células T CD8⁺, CD4⁺ e as células NK do

sangue periférico apresentam uma redução na produção de IFN- γ , TNF e IL-2 após a intervenção com IL-10 (NAJAFI-FARD *et al.*, 2022).

No contexto da covid-19, uma meta-análise mostrou que os casos graves e casos que evoluíram para óbito apresentavam maiores concentrações de IL-10 em comparação com os casos leves e casos que não evoluíram para óbito (ALSHAMMARY *et al.*, 2022). Outros estudos também indicaram que níveis elevados de IL-10 foram associados à covid-19 grave (TAN *et al.*, 2020; YANG, L. *et al.*, 2021), foi sugerido que a IL-10 e IL-6 podem ser indicadores de doença grave (HAN *et al.*, 2020). Foi observado um aumento nos níveis de TNF, IL-23 e IL-10 em casos graves e críticos da doença. Além disso, foi constatado que níveis elevados dessas citocinas estão associados a um maior risco de óbito hospitalar (SMAIL *et al.*, 2023).

Como levantado por Carlini *et al.* (2023) postula-se que, na tentativa de proteger o organismo dos efeitos prejudiciais de uma reação inflamatória excessiva, a IL-10 atua, prevenindo a progressão adicional do dano tecidual. Após a infecção por SARS-COV-2 na fase do sistema inato, os níveis sanguíneos de IL-10 começam baixos e aumentam significativamente após três dias a uma semana, seguindo a grande liberação de citocinas inflamatórias. Após a fase aguda, a IL-10 aumenta, e durante a convalescença, diminui gradualmente junto com a redução dos sintomas, em aproximadamente duas a três semanas. Um aumento drástico e precoce de IL-10 é observado nos casos graves, o que representa um papel paradoxal na função anti-inflamatória clássica da IL-10 (CARLINI *et al.*, 2023). Hipotetiza-se uma “resistência” aos efeitos imunossupressores da IL-10 (ISLAM *et al.*, 2021).

A IL-10, inicialmente induzida precocemente após a infecção viral no pulmão, é proposta como um mecanismo de controle da inflamação mediada por mediadores inflamatórios. No entanto, à medida que sua produção endógena aumenta, ela pode atuar como um imunoestimulador, contribuindo para a produção de citocinas e quimiocinas inflamatórias durante a tempestade de citocinas. Isso, combinado com a capacidade da IL-10 de promover a expansão das células T CD8⁺ citotóxicas, pode resultar em hiperativação da imunidade adaptativa em pacientes com covid-19, exacerbando a gravidade da doença (LU *et al.*, 2021).

2.6.2 IL-1 β

Conforme discutido por Dinarello (2017), a IL-1 β humana foi isolada pela primeira vez em 1977, provocando febre monofásica em coelhos (A DINARELLO; RENFER; WOLFF, 1977). Após a clonagem do DNA complementar em 1984 (AURON *et al.*, 1984),

suas características biológicas foram ampliadas. Testes clínicos subsequentes destacaram seu papel na etiologia de doenças, demonstrado pela neutralização por anticorpos monoclonais (DINARELLO; MEER, 2013). Ademais, o IL-1 β desempenha uma função essencial na patogênese da aterosclerose e na progressão tumoral (DINARELLO, 2017; RIDKER *et al.*, 2017).

Existem duas formas distintas de IL-1: IL-1 α e IL-1 β . Ambas são expressas em uma ampla variedade de tecidos e tipos de células, especialmente em macrófagos presentes em órgãos linfoides como o baço, linfonodos, timo, medula óssea. Macrófagos teciduais em órgãos não linfoides, como fígado, pulmão e trato digestivo, também expressam ambas as formas de IL-1. Além dos macrófagos, neutrófilos, células endoteliais e epiteliais, e linfócitos são exemplos de células que expressam ambas as formas de IL-1 (KANEKO *et al.*, 2019).

É sugerido um modelo de duas etapas para a ativação do inflamassoma NLRP3. A primeira envolve a preparação transcricional e pós-traducional do NLRP3, enquanto a segunda é a ativação efetiva do inflamassoma. Na primeira etapa, o NF- κ B promove a síntese do precursor inativo biologicamente de IL-1 β , por indução da transcrição do gene IL-1 β . Na segunda etapa, a caspase-1 ativa processa o precursor em IL-1 β madura e biologicamente ativa, após ser ativada pelo inflamassoma citosólico (KANEKO *et al.*, 2019). Além da indução de IL-1 β ser promovida pela interação entre TLRs e PAMPs, ela também pode se autoinduzir. O precursor inativo de IL-1 β se acumula no citosol até ser processado pela caspase-1 e NLRP3, resultando em uma citocina ativa (DINARELLO, 2017).

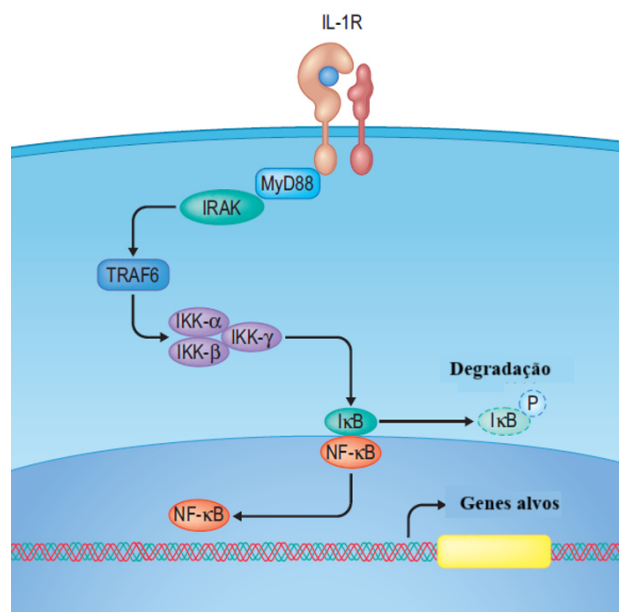
O inflamassoma, um complexo proteico, é composto por PRRs, caspase-1 e uma proteína que possui um domínio que recruta caspases. PAMPs e DAMPs são responsáveis pela ativação do inflamassoma NLRP3. A piroptose pode ser o resultado da clivagem do precursor de IL-1 β pela caspase-1. Esta forma específica de morte celular é mediada pela clivagem de GSDMD, realizada pela caspase-1. O fragmento N-terminal de GSDMD é movido para a face interna da membrana plasmática, onde forma estruturas que se assemelham a poros (KANEKO *et al.*, 2019).

O receptor de IL-1 (IL-1R) pode se ligar a ambas as formas distintas de IL-1. O IL-1R3 atua como um correceptor para formar um complexo de três partes de sinalização com IL-1 α ou IL-1 β . Quando um IL-1 se liga ao IL-1R1, que se encontra com o IL-1R3 na membrana plasmática, ocorre uma mudança conformacional que permite a ligação do IL-1R3 ao IL-1R1. Vale ressaltar que as IL-1 não interagem diretamente com o IL-1R3. Esse complexo permite a aproximação dos domínios TIR de cada cadeia do receptor. Em seguida, MyD88 se liga a esses domínios TIR (DINARELLO, 2017). É relevante observar que o IL-1R2 é um receptor

“isca”, ou seja, ele não desencadeia transdução de sinal. As células variam em termos de níveis de expressão de IL-1R1 e IL-1R2. A IL-1R2 é bastante expressa em neutrófilos, o que significa necessários níveis mais altos de IL-1 β para ativá-los (KANEKO *et al.*, 2019).

MyD88 provoca o recrutamento da Quinase 1 Associada ao Receptor de IL-1 (IRAK1). Esta, por sua vez, ativa a cascata de sinalização do Fator 6 Associado ao Receptor de TNF (TRAF6), da Quinase Ativada por fator de transformação do crescimento β (TGF- β) e da Quinase I κ B (IKK) (complexo IKK α /IKK β /NEMO). Isso resulta na fosforilação e degradação do inibidor de NF- κ B, permitindo que o NF- κ B seja translocado para o núcleo e ative a transcrição de genes imunológicos e inflamatórios (DIEP *et al.*, 2022). Esta via de sinalização pode ser vista na Figura 07.

Figura 7 – Via de sinalização da IL-1 β .



Fonte: Modificado de O'SHEA; GADINA; SIEGEL (2019).

Como levantado por Boraschi (2022) a habilidade de provocar febre está envolvida nos efeitos da IL-1 β , contribuindo para um ambiente menos favorável para agentes infecciosos. Isso facilita as funções dos linfócitos, que são mais evidentes em temperaturas acima de 37°C. Essa citocina estimula a neutrofilia e a produção de proteínas de fase aguda, além de intensificar a proliferação de linfócitos B e T em resposta a antígenos. É um potente adjuvante das respostas de anticorpos específicos ao antígeno. Além disso, aumenta a expressão de quimiocinas e citocinas inflamatórias (como TNF e IL-6) (BORASCHI, 2022).

Em relação à covid-19, uma meta-análise indicou que a presença de altos níveis de 1β , IL-6 e IL-8 estava associada ao prognóstico da doença. Foi observado que os indivíduos evoluíram para óbito apresentavam concentrações mais altas dessas citocinas, em comparação com aqueles que sobreviveram (CHANG; BAI; YOU, 2022).

Evidências apontam para a IL-1 e o inflamassoma NLRP3 como elementos envolvidos na patogênese da covid-19. Foi observada uma correlação entre as manifestações adversas da doença e a superativação da via NLRP3/IL-1 β (POTERE *et al.*, 2022). A inflamação no pulmão ocorre devido ao recrutamento de neutrófilos, o qual é desencadeado pela produção de IL-8, IL-6 e TNF pelos monócitos quando ativados pela IL-1 β . Ao ser ativado em neutrófilos, o GSDMD provoca a formação de NETs, que têm a capacidade de atrair plaquetas e induzir uma coagulação intensa. Por outro lado, a IL-6 e IL-1 β podem atuar nas junções aderentes das células endoteliais, intensificando a permeabilidade, o que pode contribuir para a coagulação nos vasos pulmonares (VORA; LIEBERMAN; WU, 2021). Sendo bloqueadores de IL-1 um alvo atrativo no contexto da covid-19 (MAKAREMI *et al.*, 2022).

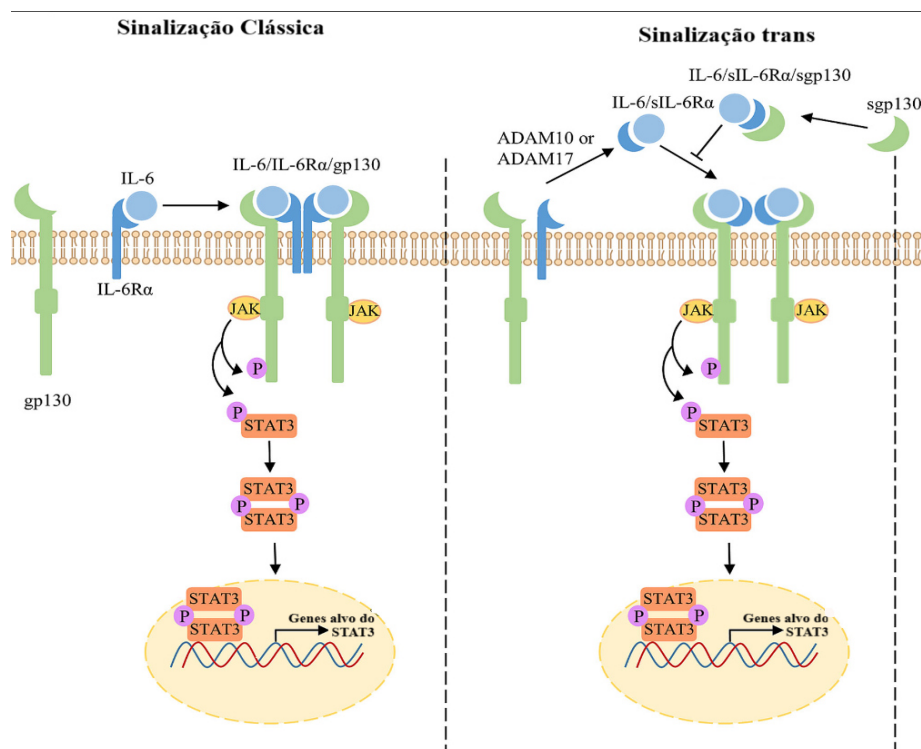
2.6.3 IL-6

Conforme destacado por Hirano (2020), a IL-6, que foi descoberta em 1986, foi primeiramente reconhecida como o fator que impulsiona as células B-2, promovendo a produção de imunoglobulina (HIRANO *et al.*, 1986). Observou-se que diversas outras proteínas, tais como o fator de crescimento de plasmocitoma/híbrido/mieloma e o fator que estimula os hepatócitos, são idênticas ao fator que impulsiona as células B-2/IL-6. Esta citocina pleiotrópica tem um papel crucial no desenvolvimento embrionário, no metabolismo ósseo, respostas inflamatórias, imunológicas, e na hematopoiese. Ademais, ela também está associada a doenças como o mieloma e o plasmocitoma (HIRANO, 2020).

Existem duas vias principais pelas quais a IL-6 pode iniciar a transdução de sinal: a via clássica e a via de trans-sinalização. Na via clássica, a IL-6 se liga ao seu receptor (IL-6R α), que está ancorado à membrana. Isso leva à formação subsequente de um complexo receptor de três partes com a subunidade de transdução de sinal, a glicoproteína 130 (gp130). Dois complexos trímeros IL-6/IL-6R α /gp130 se ligam através do domínio D1 da gp130, formando um complexo receptor de seis partes que permite a sinalização intracelular através da via JAK/STAT3. Os JAKs são recrutados para a membrana e fosforilam a porção citoplasmática do gp130 e do STAT3. Os STAT3 fosforilados formam homodímeros e são translocados para o núcleo, onde ativam a transcrição (MANORE *et al.*, 2022).

Em relação à trans-sinalização, ela ocorre quando o receptor IL-6R α está em uma forma solúvel (sIL-6R α), que é produzida através do splicing alternativo de mRNA ou da proteólise mediada por proteína 10 que contém o domínio de desintegrina e metaloproteinase ou proteína 17 que contém o domínio de desintegrina e metaloproteinase (ADAM17). A IL-6 se liga ao sIL-6R α , formando um complexo receptor hexamérico com a gp130, que está ancorada à membrana. Este complexo permite a transdução do sinal (MANORE *et al.*, 2022). Esta via de sinalização pode ser vista na Figura 8.

Figura 08 – Via de sinalização da IL-6.



Fonte: Modificado de Manore *et al.* (2022).

Em lesões com infecção, os PAMPs são reconhecidos pelos PRR, levando à produção de IL-6. Em inflamações estéreis, DAMPs são identificados e a IL-6 é produzida. Em ambos os casos, a via NF- κ B é ativada, induzindo a produção de citocinas, incluindo a IL-6, e quimiocinas pró-inflamatórias. A IL-6, após ser produzida, pode agir na lesão ou ser levada pelo sangue para outros tecidos e órgãos (FORCINA; FRANCESCHI; MUSARÒ, 2022).

Esta citocina é produzida por uma variedade de células, incluindo células T e B, macrófagos, células dendríticas, miócitos, mastócitos, células endoteliais vasculares, fibroblastos e queratinócitos (MAUER; DENSON; BRÜNING, 2015; VELAZQUEZ-

SALINAS *et al.*, 2019). Adesão, ativação, recrutamento, sobrevivência e diferenciação de monócitos residentes nos tecidos e inflamatórios, além de neutrófilos e células NK, são desencadeados por IL-6 (VILLAR-FINCHEIRA *et al.*, 2021). A IL-6 é secretada e respondida por células como macrófagos, monócitos e neutrófilos, o que resulta em um ciclo de *feedback* autócrino que intensifica a inflamação (CHOY; ROSE-JOHN, 2017).

A expressão excessiva de IL-6 pode interferir na eliminação viral, favorecendo sua persistência. A resposta Th2 pode ser estimulada pela IL-6 através da ativação da via STAT3, resultando no aumento da produção de IL-4 e da proteína supressora da sinalização de citocinas 1. A fosforilação do STAT1 é afetada por esta última, o que prejudica a produção de IFN γ ao reduzir a autoestimulação desse ciclo. A citólise pode ser comprometida pela IL-6, que induz a produção da proteína supressora da sinalização de citocinas 3. Esta interfere na fosforilação do STAT4, levando à redução da produção de IFN γ , uma molécula essencial para a ativação das células NK e CD8 (VELAZQUEZ-SALINAS *et al.*, 2019).

No contexto da covid-19, uma meta-análise revelou que os níveis séricos de IL-6 estão elevados em casos complicados da doença. Além disso, foi observado que as concentrações aumentadas de IL-6 estão correlacionadas com evolução ao óbito (COOMES; HAGHBAYAN, 2020). Uma outra meta-análise identificou a IL-6 como um indicador da gravidade da covid-19. No entanto, foi evidenciado que apenas o monitoramento das concentrações de IL-6 não parece prever a progressão para óbito, e não houve correlação com a mortalidade na doença (LIU, X. *et al.*, 2021) Biomarcadores para predizer a gravidade, e evolução para o óbito em pacientes com covid-19 incluem: A IL-6, PCR, e procalcitonina (SEMIZ, 2022).

Uma ampla gama de células imunes, incluindo células dendríticas, linfócitos, macrófagos e neutrófilos, são induzidas a secretar IL-6 de maneira exagerada pela infecção pelo SARS-CoV-2. Isso resulta na polarização para Th17 e conseqüentemente na produção de IL-17. Ainda mais macrófagos, neutrófilos e monócitos são recrutados para o local da infecção e inflamação, o que desencadeia uma cascata de citocinas, como IL-1 β e IL-6 (HOU *et al.*, 2014; WU; YANG, 2020; NING *et al.*, 2022). A coagulopatia e a endoteliopatia hepática, ambas associadas à covid-19, são promovidas pela sinalização trans da IL-6. (MCCONNELL *et al.*, 2021)

2.6.4 IL-17A

Uma nova população de células T CD4⁺ que produzem IL-17 foi identificada em 2005, as quais são distintas das células Th1 e Th2, são chamadas de Th17 (TSUKAZAKI;

KAITO, 2020). A produção de IL-17A e IL-17F é uma resposta à IL-1 β e IL-23, e é realizada não apenas pelas células Th17, mas também pelas células T CD8+, células T $\gamma\delta$ e várias células imunológicas inatas, como células NK, células linfóides inatas e mastócitos (MILLS, 2022)..

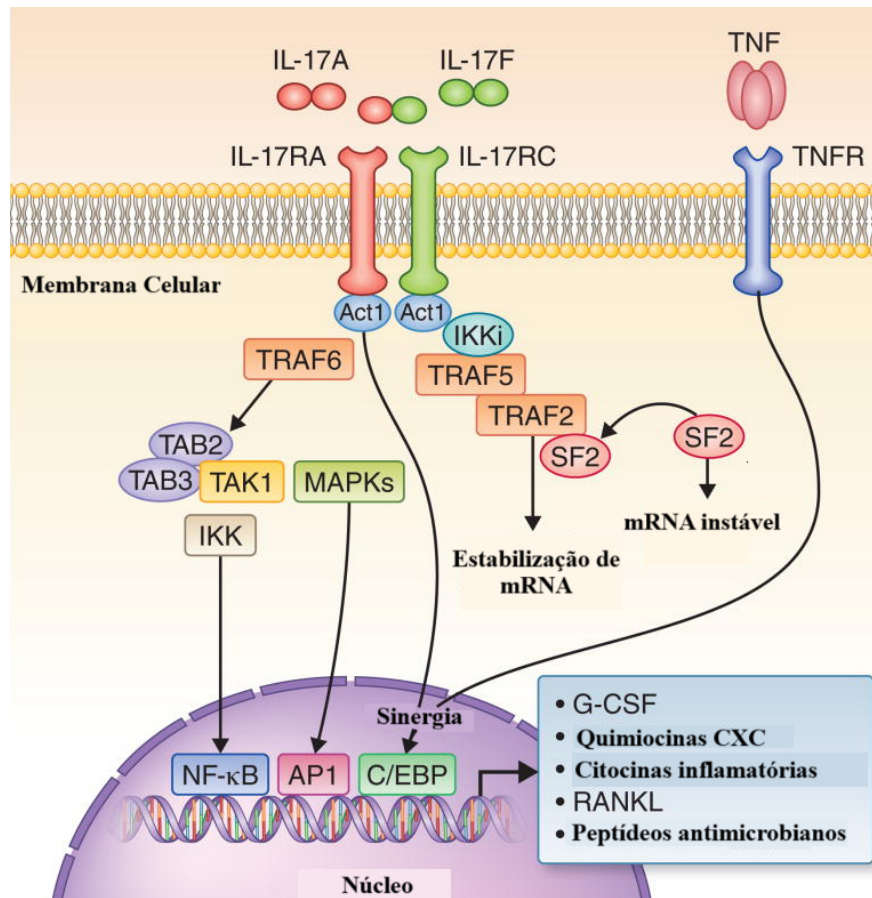
A família do receptor IL-17 (IL-17R) é composta por IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RE, bem como o complexo heterodimérico IL-17RA e C (GE; HUANG; YAO, 2020). Tanto a IL-17A quanto a IL-17F sinalizam através do heterodímero IL-17RA/RC. Este receptor pode se ligar a homodímeros de IL-17A e IL-17F, ou a heterodímeros de IL-17A/F. A IL-17RA tem uma afinidade maior pela IL-17A e menor pela IL-17F. Por outro lado, a IL-17RC tem uma afinidade maior pela IL-17F do que pela IL-17A (MONIN; GAFFEN, 2017).

Após a IL-17 se ligar aos seus receptores heterodiméricos IL-17RA/RC, a Act1 ativa diversas cascatas de sinalização por meio de diferentes proteínas TRAF. A interação com TRAF6 leva à ativação das vias das proteínas CCAAT-enhancer-binding (C/EBP) β e δ , das MAPKs e do NF- κ B. A sinalização da IL-17 pode resultar na estabilização do mRNA por meio do complexo Act1-TRAF2-TRAF5. Isso leva ao controle da estabilidade e tradução do mRNA dos genes alvo da IL-17, via várias proteínas que se ligam ao RNA. Isso inclui fatores que estabilizam o mRNA, como HuR e Act1, e fatores que desestabilizam, como SF2 (LI *et al.*, 2019). A IL-17 promove a fosforilação da Ser111 em Act1 e recruta TRAF2 e TRAF5. Este processo resulta no sequestro do fator ASF/SF2, que normalmente desestabiliza o mRNA. Além disso, também é recrutado o fator HuR, conhecido por sua função na estabilização do mRNA (MONIN; GAFFEN, 2017; LI *et al.*, 2019).

Já é evidenciado existência de sinergia entre IL-17A e outros fatores como IL-1, IFN γ , o fator estimulante de colônias de granulócitos-macrófagos e TNF (ROBERT; MIOSSEC, 2019). No entanto, para que ocorra a sinergia entre IL-17 e TNF, é essencial que a IL-17 atue primeiro, aumentando a expressão do receptor de TNF (TNFR), especialmente o TNFR II . Este aumento na expressão do TNFR II amplifica a resposta ao TNF (A BERINGER *et al.*, 2018; MIOSSEC, 2021).

A via de sinalização da IL-17A pode ser observada na Figura 9.

Figura 9 – Via de sinalização da IL-17A.



Fonte: Modificado de ZENOBIA; HAJISHENGALLIS (2015)

Na imunidade contra bactérias e fungos, a IL-17A e IL-17F são cruciais, pois a produção de peptídeos antimicrobianos é estimulada por elas, a função de barreira é melhorada e o recrutamento de neutrófilos é promovido (CHUNG; YE; IWAKURA, 2021; MILLS, 2022). Por exemplo, A produção de lipocalinas, proteínas S100, proteínas regenerativas, lactoferrinas e β -defensinas é estimulada pela IL-17A em macrófagos e neutrófilos, o que promove a morte de bactérias. Por meio da geração de diversas proteínas da fase aguda, a transmissão dessa citocina preserva as conexões firmes em tecidos mucosos. A produção de quimiocina (motivo C-C) ligante (CCL)-20 e fator estimulante de colônia de granulócitos é induzida pela IL-17A, que em sinergia com citocinas como IL-6 e TNF, promove o recrutamento de neutrófilos. (GE; HUANG; YAO, 2020).

Uma meta-análise revelou que a IL-17A está elevada em pacientes com covid-19 em comparação com os controles. Observou-se que essa elevação é ainda mais significativa em pacientes que apresentam formas moderadas e graves da doença do que no controle (FADLALLAH; EDDIN; A RAHAL, 2021).

Foi observado que a correlação entre lesões pulmonares e inflamação exagerada está associada às respostas enfraquecidas das células T regulatórias e às respostas intensificadas das células Th17 (SADEGHI *et al.*, 2020).

Apesar de não ter sido evidenciado no contexto da covid-19, foi observado que duas variações genéticas da IL-17 podem ser relevantes. Foi observado que uma concentração sérica reduzida desta citocina, um risco significativamente menor de desenvolver a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo e um melhor prognóstico de sobrevivência em 30 dias são apresentados por indivíduos com o alelo “A” da *rs2275913*. Por outro lado, uma concentração sérica aumentada, uma maior susceptibilidade à Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo e uma menor sobrevivência em 30 dias são apresentadas por indivíduos com o alelo “T” da *rs8193036* (XIE *et al.*, 2019).

Foi identificado que a capacidade de produzir IL-17 *in vitro* é aumentada nas células T CD8+ ou CD4+ em pacientes com pneumonia por covid-19. (BIASI *et al.*, 2020). Após a infecção com o SARS-CoV-2, a pneumonia desenvolvida por camundongos foi caracterizada pela infiltração de neutrófilos, linfócitos, macrófagos e ativação da via de sinalização IL-17 (GENG *et al.*, 2021).

2.6.5 TNF

Como levantado por Van Loo e Bertrand (2022) a TNF foi identificada como um agente com atividade antitumoral após infecções bacterianas (A CARSWELL *et al.*, 1975). Após a descoberta, a purificação, sequenciamento e clonagem dos genes responsáveis por sua produção e dos receptores associados foram realizados, seguidos de estudos para validar seu potencial antineoplásico (VAN LOO; BERTRAND, 2022). Foi revelado que a molécula que causa a caquexia, a “cachectina”, é a mesma que a TNF, apesar dessa propriedade (BEUTLER *et al.*, 1985).

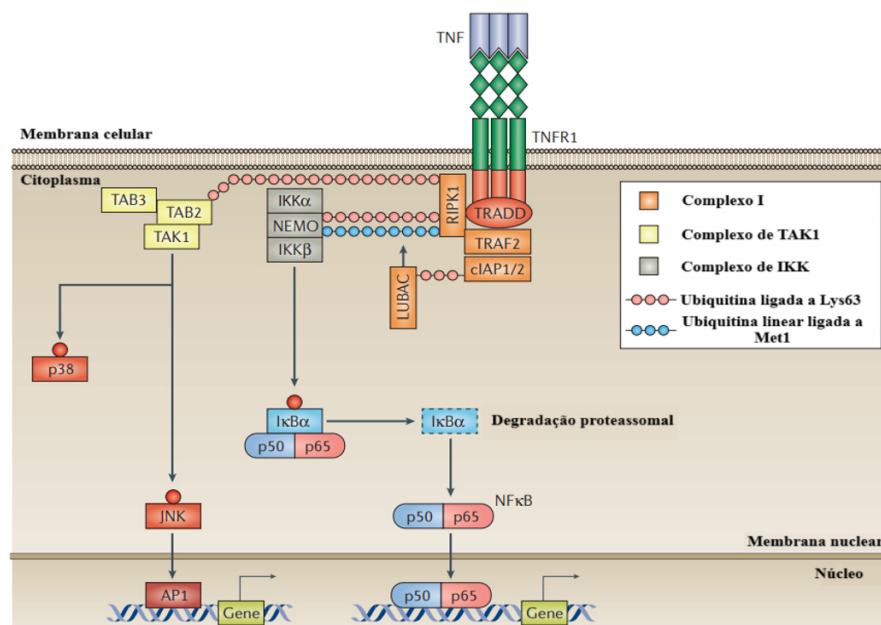
O TNF, uma proteína homotrimérica, apresenta duas formas distintas: inicialmente, é gerada como uma proteína transmembranar, que pode ser convertida em uma forma solúvel pelo processamento da ADAM 17. Existem dois receptores para o TNF: TNFR1 e TNFR2. Encontrado em quase todas as células, o TNFR1 pode ser ativado tanto pela forma solúvel quanto pela forma transmembranar do TNF. Este receptor, que possui um domínio de morte, pode ativar genes pró-inflamatórios e, sob certas condições, pode induzir a morte celular programada. Em células específicas, como neurônios, células T reguladoras e oligodendrócitos, o TNFR2 é expresso. Este receptor, que é ativado principalmente pela forma transmembranar, está associado à sobrevivência e proliferação celular.

(ATRETKHANY *et al.*, 2020). De fato, a via TNF-TNFR1 pode promover necroptose, piroptose ou apoptose (VAN LOO; BERTRAND, 2022).

A oligomerização do receptor é induzida pelo TNF ao se ligar ao TNFR1. Isso resulta no recrutamento de TRADD e RIPK1 para os domínios de TNF-TNFR1, através do domínio de morte presente. O complexo I é formado, com o subsequente recrutamento de TRAF2/5 e cIAP1/2. As cadeias de ubiquitina ligadas a K63 são adicionadas ao RIPK1 por cIAP1/2, o que resulta no recrutamento de LUBAC e TAB2/3. TAB1 e TAK1 são recrutados por TAB2/3 (PREEDY; WHITE; TERGAONKAR, 2024).

A via de sinalização das quinases de proteína quinase ativadas por mitógeno é ativada pelo TAK1. Cadeias de ubiquitina ligadas a M1 são adicionadas ao RIPK1 por LUBAC, o que potencialmente gera híbridos ligados a K63/M1. O complexo IKK é recrutado através de NEMO pelas cadeias de ubiquitina ligadas a M1 e K63/M1 no RIPK1. A aproximação deste complexo a TAK1 é realizada pelo seu recrutamento para TNFR1. A fosforilação e ativação de IKK2 é realizada por TAK1. A fosforilação de I κ B α é então realizada por IKK2, resultando na liberação de NF- κ B e na ativação de sua via de sinalização (PREEDY; WHITE; TERGAONKAR, 2024). Através da caspase-8, a apoptose pode ser induzida pelos complexos IIa e IIb na via TNF-TNFR1. A necroptose pode ser promovida pelo complexo IIc através da RIPK3 (ALIM; KEANE; SOUZA-FONSECA-GUIMARAES, 2024).

Figura 10 – Via de sinalização do complexo I do TNF-TNFR1.



Fonte: Modificado de KALLIOLIAS; IVASHKIV (2015)

Os macrófagos, as células NK e, em particular, as células T ativadas são exemplos de células que produzem TNF. Não apenas a transcrição de IL-6 e IL-1 β é ativada pela translocação de NF- κ B para o núcleo da célula, mas também a de TNF, resultando assim na amplificação da resposta inflamatória, causando um loop de ativação (CALDITO, 2023). A estimulação da liberação de quimiocinas, promoção do recrutamento inicial e intenso de neutrófilos e monócitos, e ativação de células endoteliais são causados por TNF (SALOMON, 2021).

No contexto da covid-19, uma meta-análise revelou que, embora cada aumento de 1 pg/mL nas concentrações de TNF aumente de maneira não significativa a susceptibilidade a casos graves de covid-19, foi evidenciado que cada aumento de 1 pg/mL nas concentrações de TNF aumenta de maneira significativa o risco de evolução ao óbito (HALIM; MIRZA; SARI, 2022).

Eventos inflamatórios localizados e sistêmicos são desencadeados pelo TNF em conjunto com outras citocinas inflamatórias, resultando em acúmulo de líquido e danos nos pulmões, e em casos extremos, levando à morte (ZAWAWI *et al.*, 2023). Eventos celulares que impactam a inflamação e a morte celular podem ser desencadeados pela sinergia entre TNF e IFN- γ , conforme observado. De maneira especial, a interrupção do ciclo celular e a senescência podem ser causadas por essa interação (PALACIOS *et al.*, 2023). Foi evidenciado que choque mortal de citocinas em camundongos, similar ao dano visto na covid-19, foi causado pela sinergia entre TNF e IFN- γ (KARKI *et al.*, 2021). Pacientes de covid-19 com problemas de saúde preexistentes, como excesso de peso, enfermidades cardíacas e pressão arterial elevada, estão mais vulneráveis a complicações em função de superexpressão de TNF (ZAWAWI *et al.*, 2023).

2.7 Variações genéticas

Um padrão de herança genética é possuído por nossos fenótipos (como altura e tipo sanguíneo), bem como o aumento na suscetibilidade na maioria das doenças, e algumas tem origens genéticas. Com isso em mente, as variações genéticas são estudadas em pesquisas e médicas, e incluem: Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP), polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição, variação no número de cópias, entre outros. (KAMATANI; NAKAMURA, 2021).

Conexões de genótipos com fenótipos são verificadas pelos estudos de associação genômica ampla (GWAS). Através da análise das variações na frequência dos alelos de variantes genéticas, isso é feito entre indivíduos que compartilham uma ancestralidade

parecida., porém apresentam diferenças fenotípicas. Os SNPs são frequentemente os mais estudados. A susceptibilidade de um indivíduo a desenvolver uma condição de saúde, seja ela física ou mental, pode ser antecipada através do perfil genético (UFFELMANN *et al.*, 2021)..

Como levantado por Uffelmann *et al.* (2021) embora os GWAS sejam úteis, eles têm suas restrições. Por exemplo, a maioria dos traços é afetada por várias variantes causais (HOLLAND *et al.*, 2020), cada uma contribuindo com um risco muito baixo, geralmente estas variantes causais estão correlacionadas com muitos outros traços (WATANABE *et al.*, 2019) e estão associadas a variantes causais e não causais que estão fisicamente próximas devido ao desequilíbrio de ligação (SLATKIN, 2008). Isso torna as inferências biológicas e causais complexas (UFFELMANN; POSTHUMA, 2021). Além disso, diferentes ancestralidades podem resultar em associações genéticas distintas, o que dificulta a comparação direta entre grupos de indivíduos (UFFELMANN *et al.*, 2021).

No contexto dos SNPs, uma substituição que envolve a troca de uma purina por outra purina, ou de uma pirimidina por outra pirimidina, é denominada transição. Por outro lado, se uma pirimidina é substituída por uma purina, ou vice-versa, isso é chamado de transversão. As transições tendem a ocorrer com maior frequência (ROBERT; PELLETIER, 2018). Os SNPs podem ocorrer em íntrons, éxons ou regiões intergênicas e são a forma mais frequente de variações genéticas (VALLEJOS-VIDAL *et al.*, 2020). A expressão dos genes pode ser modificada pelos SNPs localizados em áreas regulatórias. Isso ocorre porque a capacidade de ligação dos fatores de transcrição aos seus locais de ligação específicos pode ser influenciada por eles (KLEES *et al.*, 2021).

Segundo levantado por Kenney *et al.* (2017), variações genéticas no hospedeiro podem intensificar a resistência ou a susceptibilidade a doenças virais causados por, por exemplo, o vírus da imunodeficiência humana, influenza, hepatite B e C, e norovírus, entre outros (KENNEY *et al.*, 2017). Similarmente, também foram levantados SNPs envolvidos na gravidade e suscetibilidade de infecções por influenza, inclusive variações nos genes de citocinas, como TNF e IL-1 (NOGALES; DEDIEGO, 2019). As variações genéticas presentes em genes responsáveis por PRRs, citocinas, fatores de transcrição podem contribuir para doença respiratória causada por vírus (FORBESTER; HUMPHREYS, 2021).

Dentro do contexto da covid-19, as variações genéticas estão sendo amplamente estudadas para entender a progressão da doença (DIETER *et al.*, 2022; KALTOUM, 2021). O estudo de variações genéticas na covid-19 inclui a ECA2 e TMPRSS2 (DIETER *et al.*, 2022), o Antígeno Leucocitário Humano e ABO (KALTOUM, 2021), o Receptor da Subunidade 2 do Interferon α/β (JALKANEN *et al.*, 2023), a 2',5'-Oligoadenilato Sintetase 1 e 3, e a

Tirosina Quinase 2 (VELAVAN *et al.*, 2021). Além disso, genes de citocinas como IL-6 (CHEN *et al.*, 2021), IL1 β e IL-10 (BALZANELLI *et al.*, 2022) também são alvos de estudos.

Por meio do levantamento da literatura SNPs de interesse para este presente estudo foram identificados. O SNP, o país onde ocorreu o estudo, o número da população, o período de recrutamento da população inclusa no estudo, o restudo e as respectivas referências podem ser encontradas na Tabela 3.

Tabela 3 – Os SNPs identificados na literatura e investigados no presente estudo.

SNP	País	Número da população	Período de Recrutamento	Resultado	Referência
<i>rs1800629</i> (G>A) (TNF)	Egito	900 com covid-19 (456 grave e 444 leve) e 184 controles.	Abril-Julho de 2020.	Gravidade da covid-19 foi correlacionada ao genótipo “AA”.	SALEH <i>et al.</i> , 2020
<i>rs1143627</i> (G>A) (IL-1 β)	Japão	230 com covid-19 (202 com a forma não-grave e 28 com a forma grave), mas apenas 211 foram genotipados.	1 de março de 2020-31 de março de 2021.	Genótipo “GG” aumenta em cerca de quatro vezes a suscetibilidade a evolução a covid-19 grave.	TANIMINE <i>et al.</i> , 2021.
<i>rs1800872</i> (T>G) (IL-10)	Índia	160 (85 com a forma leve e 75 com a forma grave).	Não informado.	Genótipo “CC” (“GG” na <i>forward strand</i>) confere proteção contra a gravidade.	RIZVI <i>et al.</i> , 2022.
<i>rs3819025</i> (G>A) (IL-17A)	Brasil	20 amostras pulmonares <i>post-mortem</i> por dano alveolar difuso por SARS-CoV-2; 11 amostras pulmonares <i>post-mortem</i> de pacientes que evoluíram ao óbito por não-covid-19.	Não informado.	O alelo “G” pode potencialmente aumentar a suscetibilidade à evolução para o óbito. Os genótipos “GA” e “GG” estão correlacionados com uma maior expressão tecidual de IL-17A.	AZEVEDO <i>et al.</i> , 2021
<i>rs1800795</i> (C>G) (IL-6)	Holanda, China, México, Espanha, Rússia, Alemanha, e Egito.	3958 casos e 3671 controles.	Estudos de 2005 até 2017.	O polimorfismo está correlacionado com a gravidade da pneumonia, especialmente em caucasianos	ULHAQ; SORAYA, 2020

Fonte: Autoria própria.

Com tudo isso posto, fica evidenciado que o estudo de variações genéticas no hospedeiro, especialmente em genes codificantes de citocinas, especialmente as das citocinas IL-6, IL-17A, TNF, IL-10 e L-1 β , é importante para entender a imunopatologia por trás da tempestade de citocinas provocada pelo SARS-CoV-2 e demonstra a complexidade de interação entre vírus-hospedeiro.

3 HIPÓTESES

A presença de SPNs nos genes da IL-6, TNF, IL-1 β , IL-10, e IL-17A são relevantes e estão associadas com a gravidade e desfecho clínico da covid-19.

Fatores como idade, sexo, e condições médicas adicionais influenciam no desfecho clínico dos pacientes graves com covid-19.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Investigar a correlação dos polimorfismos nos genes da IL-6 (*rs1800795*), TNF (*rs1800629*), IL-1 β (*rs1143627*), IL-10 (*rs1800872*), e IL-17A (*rs3819025*) na gravidade e no desfecho clínico da covid-19.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a correlação da idade e sexo na gravidade (leve/moderado *versus* grave) e desfecho da doença (alta hospitalar *versus* óbito);
- Relacionar a frequência alélica dos SNPs estudados com as comorbidades, gravidade e o desfecho;
- Correlacionar a presença de comorbidades com o desfecho clínico e gravidade.

5. METODOLOGIA

5.1 Desenho do estudo

Realizou-se um estudo de caráter transversal, após aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (CEP/UFC/PROPESQ), com pareceres de números 4.505.911 e 4.346.280 (ANEXOS A e B). Além disso, a pesquisa foi conduzida de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

5.2 Inclusão e classificação de pacientes.

Foram inclusos no estudo pacientes com ≥ 18 anos, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), não vacinados para covid-19. Os pacientes que não foram internados foram considerados como tendo a forma leve/moderada da doença. Pacientes graves foram considerados àqueles internados na UTI manifestando Síndrome do Desconforto Respiratório, ou saturação de oxigênio inferior a 95%, de acordo com a categorização do Ministério da Saúde (BRASIL, 2023b). Todos os pacientes tiveram a infecção confirmada pela técnica de transcrição reversa seguida por PCR.

5.3 Coleta de amostras.

Amostras de pacientes com a forma leve/moderada da doença foram coletadas de pacientes atendidos no Posto de Saúde Anástacio Magalhães, que se encontra no município de Fortaleza, Ceará. A coleta se deu entre fevereiro e julho de 2021.

As amostras de pacientes com a forma grave da doença foram obtidas do Hospital Instituto José Frota (IFJ), também do município de Fortaleza, na qual os pacientes se encontravam na UTI da covid-19. A coleta ocorreu entre janeiro e maio de 2021

5.4 Avaliação de registros médicos.

Por meio do sistema ARS vitae os prontuários dos 82 pacientes graves e os dados dos 40 pacientes leve/moderado foram avaliados.

5.5 Extração do material genético.

O DNA foi extraído de forma automatizada através do equipamento KingFisher e do kit MagMax DNA Multi-Sample Ultra 2.0 da empresa Applied Biosystems, utilizando beads magnéticas. Preparou-se uma placa com 70 μ L de solução de eluição, outra placa com 500 μ L da solução de lavagem I e duas placas com 500 μ L de solução de lavagem II. A placa de amostra foi preparada da seguinte forma: 30 μ L de solução Enhancer foram adicionados a cada poço, seguidos por 200 μ L da amostra de sangue total de cada paciente em diferentes poços, e finalmente, 30 μ L de solução contendo proteinase K (para remoção de proteínas) foram adicionados em seus respectivos poços.

Para iniciar a atividade da proteína K, as placas foram colocadas no equipamento em ordem. Durante esse processo, para isolar o DNA através da técnica de ligação às beads, foi feito o mix de DNA Binding Bead. O mix foi feito adicionando 20 μ L de solução com as beads magnéticas e 200 μ L de solução de ligação por poço. Foi adicionado 220 μ L do mix de DNA Binding Bead a cada poço ao término da proteinase K. Por fim, o equipamento recebeu a placa e realizou os passos de lavagem (para purificar e isolar o DNA usando magnetismo) e de eluição (para separar o DNA das beads).

5.6 Concentração de ácido nucleico

Com o DNA isolado e purificado, procedeu-se à quantificação para verificar a concentração do DNA. Para isso, utilizou-se o equipamento NanoDrop™ Lite, que emprega a técnica de espectrofotometria para microvolumes, da empresa Applied Biosystems. A técnica mede a concentração por meio da absorção de luz, e é conhecido que os ácidos nucleicos absorvem luz na faixa de comprimento de 260nm. A identificação de contaminação por proteínas foi realizada por meio da leitura do comprimento de onda de 280nm. Amostras

contendo valor entre 1,8 e 2,0 foram inclusas. Com esse valor obtido através da correlação entre 260/280.

5.7 Normalização da concentração de ácido nucleico

A concentração padrão foi determinada após a análise da concentração de ácido nucleico no passo de genotipagem, evitando resultados originados de variações na concentração de ácido nucleico. Para o passo de genotipagem o valor de 20ng/μL foi determinado a concentração padrão. Amostras com valor inferior foram utilizadas no teste com leves alterações no protocolo. Amostras com valor superior a esse foram diluídas.

5.8 Ensaio de genotipagem

Foi realizado a etapa de genotipagem com as amostras de concentração padronizada. As identificações, que se referem às sondas TaqMan™ e ao polimorfismo, incluem *Assay ID*, *Catalog*, polimorfismo, variação, localização do polimorfismo e seus respectivos genes podem ser observadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Informações sobre as sondas TaqMan™ e seus polimorfismos alvos.

<i>Assay ID</i>	<i>Catalog #</i>	Polimorfismo	Variação	Localização do SNP	Gene
C__7514879_10	4351379	<i>rs1800629</i>	G>A	<i>Upstream</i>	TNF
C__1839697_20	4351379	<i>rs1800795</i>	C>G	<i>Upstream</i>	IL-6
C__1839944_10	4351379	<i>rs1143627</i>	G>A	<i>Upstream</i>	IL-1β
C__1747363_10	4351379	<i>rs1800872</i>	T>G	<i>Upstream</i>	IL-10
C__292276_10	4351379	<i>rs3819025</i>	G>A	Intrônica	IL-17A

Fonte: Autoria própria.

A genotipagem foi realizada através da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (qPCR) usando a técnica de sonda de hidrólise da TaqMan™ e o reagente TaqPath™ ProAmp™ Master Mix (MasterMix), ambos da Applied Biosystems™, e água de infusão. Através do equipamento CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, da empresa Bio-Rad. Foi utilizado o seguinte protocolo: para cada amostra usou-se 2,75μL de água para infusão, 0,25μL da sonda TaqMan™, 5μL de MasterMix (8μL de mistura), e 2μL de DNA, totalizando 10μL de solução (Tabela 5).

Tabela 5 – Protocolo com concentração de reagentes para a qPCR.

MATERIAL	VOLUME P/1 POÇO	N.º DE AMOSTRAS
MasterMix	5µL	(5 µL x N.º) +10%
Água para Injeção	2,75µL	(2,75 µL x N.º) +10%
Sonda	0,25µL	(0,25 µL x N.º) +10%
DNA	2µL	2µL

Fonte: Autoria própria.

Para a leitura de várias amostras de uma só vez, foi utilizada uma placa de 96 poços para PCR, com cada poço contendo um volume de 10 µL. A placa foi selada e submetida a uma centrifugação por 30 segundos antes de ser colocada no CFX96.

O protocolo utilizado para o equipamento referente a temperatura e tempo foi: 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. Com 40 ciclos, com as temperaturas de desnaturação 95 °C por 15 segundos e de anelamento e extensão 60 °C por 60 segundos se repetindo.

5.9 Análise estatística

Os pacientes foram divididos por gravidade da covid-19: grave (G) que foi subdividido em desfecho dos pacientes: alta (G-A) e óbito (G-O); os dados apresentados por desfecho clínico e forma geral; e pacientes leve/moderado (L/M) para que a análise de dados seja feita. Para realizar a análise descritiva da ficha médica e dos resultados da genotipagem, bem como a criação de gráficos, foi utilizado o programa Minitab.

Para a análise inferencial das fichas médicas e dos resultados de genotipagem, foi utilizado o programa GraphPad Prism 9.2.0 (332). O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado usando um arquivo Excel configurado para realizar tal cálculo, e foi aplicado a todos os resultados.

5.9.1 Análise descritiva

Os pacientes foram separados em relação a: manifestações clínicas (tosse, febre, dispneia, baixa saturação de oxigênio, e etc), condições médicas adicionais (hipertensão, tabagismo, obesidade, diabete mellitus, e etc), idade (igual ou maior que 60 anos, 40 a 59 anos, e 18 a 39 anos), sexo (feminino e masculino). Em relação aos dados obtidos na genotipagem foram divididos em três grupos: heterozigoto, homozigoto para o alelo 1, e homozigoto para alelo 2.

Com cada grupo dividido pela gravidade e desfecho clínico com objetivo de comparar para encontrar uma possível associação. Apenas genotipagem, sexo e idade puderam ser utilizados para a busca de associação à gravidade.

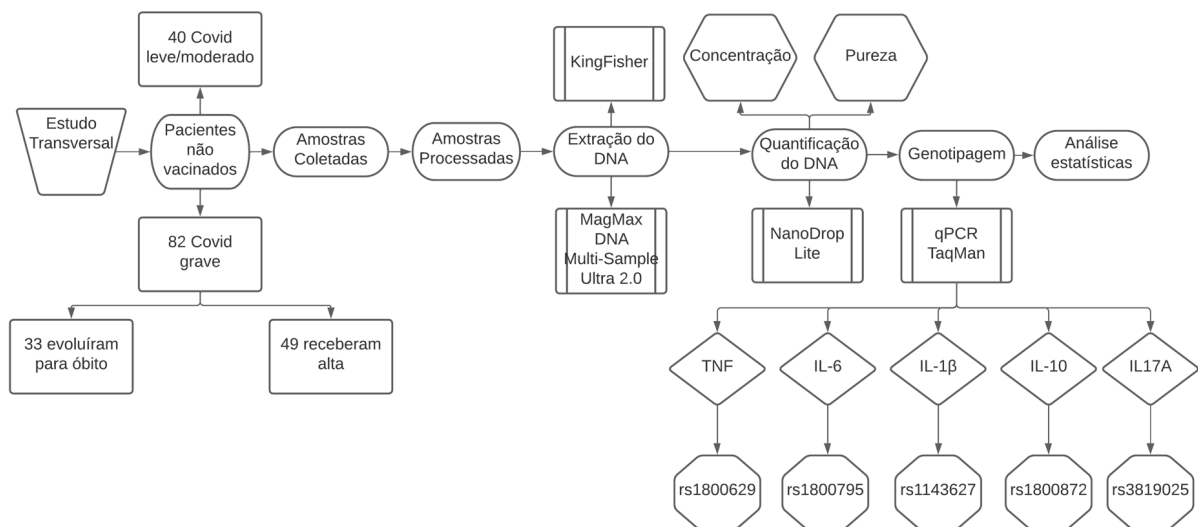
5.9.2 Análises inferenciais

O teste exato de Fisher foi utilizado para verificar a diferença entre os grupos L/M e G em relação ao sexo, buscando associações com a gravidade. O teste de qui-quadrado foi utilizado para verificar em relação à idade. O teste exato de Fisher foi empregado para avaliar as informações sobre sexo, sintomas e comorbidades em relação aos pacientes G-A versus G-O. O teste de qui-quadrado foi usado para verificar em relação à idade entre os subgrupos de desfecho. Através do teste chi quadrado de Pearson foi examinado o desfecho e gravidade do resultado da genotipagem. Após, o teste exato de Fisher foi usado para verificar o modelo dominante e recessivo das variações genéticas. Sendo o de valor de $p < 0,05$ indicando significância estatística.

A regressão logística binária foi aplicada para prever a gravidade da doença com base nas comorbidades e alelos. Além disso, a interação entre as comorbidades e os alelos polimórficos também foi considerada. O mesmo método foi usado para prever a ocorrência de óbitos com base nas comorbidades e alelos. Sendo o de valor de $p < 0,05$ indicando significância estatística.

As etapas seguidas neste estudo estão representadas no fluxograma, conforme apresentado na Figura 11.

Figura 11 – Ordem cronológica das etapas seguidas neste estudo.



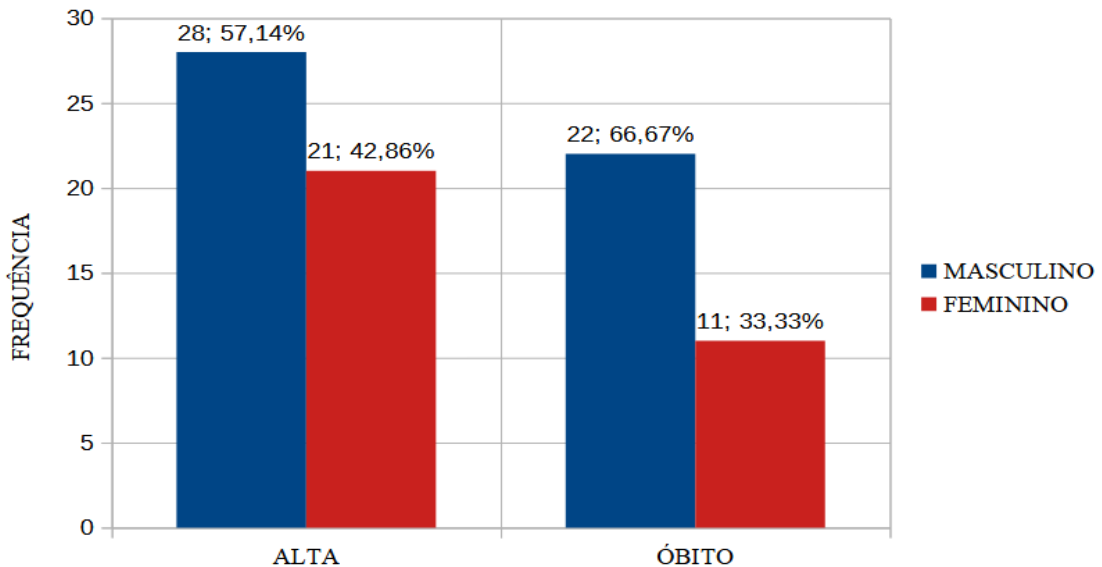
Fonte: Autoria própria.

6. RESULTADOS

6.1 Características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com covid-19

No total, 122 pacientes foram incluídas no estudo. O grupo leve/moderado foi composto por 40 (32,79%) pacientes originados do Posto de Saúde Anástacio Magalhães, enquanto o grupo grave continha 82 (67,21%) pacientes, vindos do IJF. Dentre os pacientes do grupo grave, 49 (59,76%) receberam alta hospitalar e 33 (40,24%) evoluíram para óbito. No grupo que recebeu alta, 21 eram do sexo feminino (42,86%) e 28 do sexo masculino (57,14%). Entre os que evoluíram para óbito, 11 eram do sexo feminino (33,33%) e 22 do sexo masculino (66,67%), conforme mostrado no Gráfico 1.

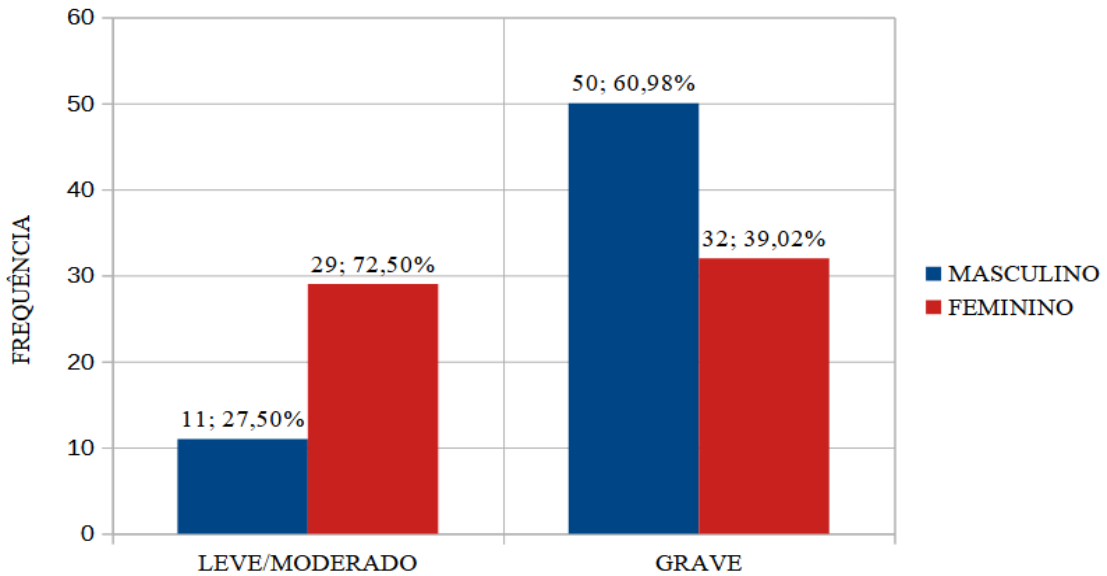
Gráfico 1 - Desfecho do grupo de pacientes com a forma grave da doença, dividido por sexo.



Fonte: Autoria própria.

No grupo leve/moderado, 29 eram do sexo feminino (72,50%) e 11 do sexo masculino (27,50%), como visto no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Distribuição por sexo no grupo com as formas leve/moderada vs grave da doença.

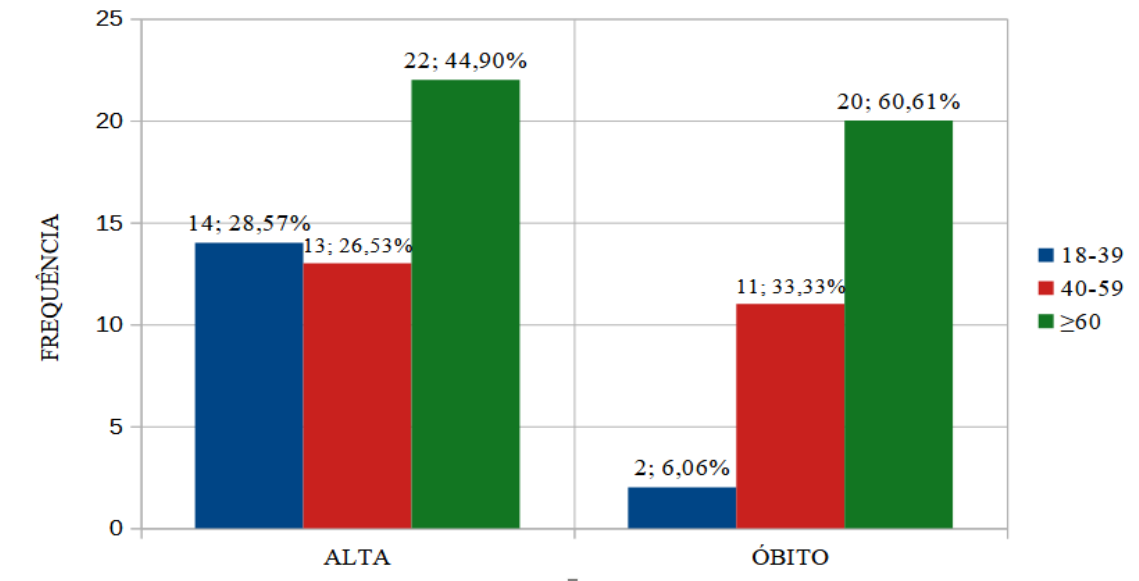


Fonte: Autoria própria

Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com a idade: 18-39 anos, 40-59 anos e 60 anos ou mais. No grupo grave aqueles que receberam alta, havia 14 (28,57%) pacientes entre 18-39 anos, 13 (26,53%) entre 40-59 anos e 22 (44,90%) com 60 anos ou mais. Entre os que faleceram, dois (6,06%) tinham entre 18-39 anos, 11 (33,33%) entre 40-59 anos e 20 (60,61%) tinham 60 anos ou mais.

No total, no grupo grave, 16 (19,51%) tinham entre 18-39 anos, 24 (29,27%) entre 40-59 anos e 42 (51,22%) tinham 60 anos ou mais. Esses resultados podem ser visualizados no Gráfico 3.

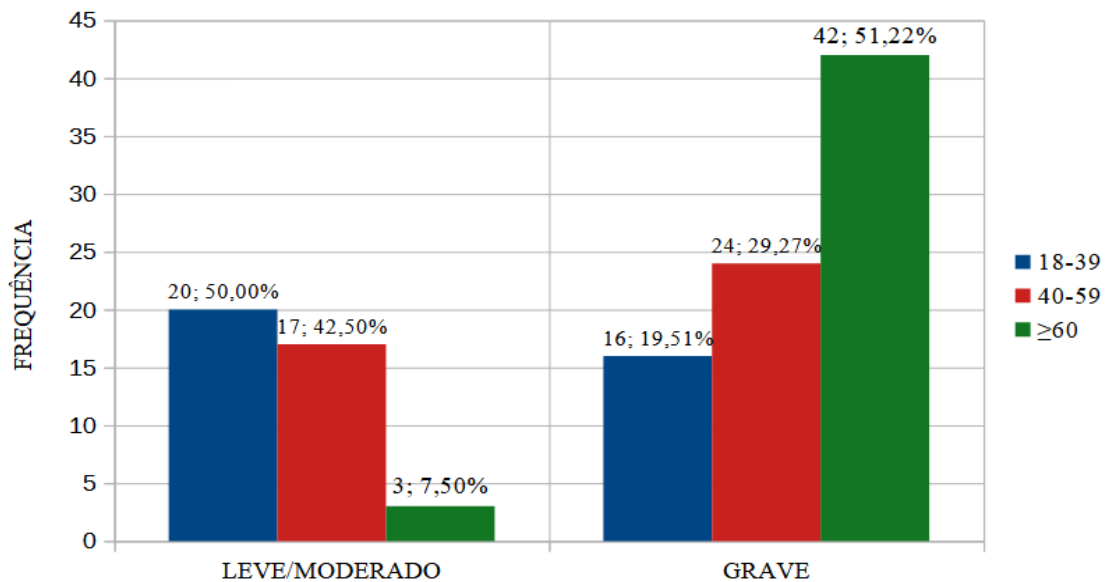
Gráfico 3 – Comparação dos desfechos clínicos no grupo com a forma grave da covid-19, em relação à idade.



Fonte: Autoria própria.

No grupo leve/moderado, haviam 20 (50,00%) pacientes entre 18-39 anos, 17 (42,50%) entre 40-59 anos e três (7,50%) com 60 anos ou mais (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Comparação entre os grupos Grave e Leve/Moderado em relação à idade.



Fonte: Autoria própria.

O teste exato de Fisher foi realizado para determinar a diferença de frequência de sexo entre os grupos Grave e Leve/Moderado. O resultado apresentou diferença ($p= 0,0009$), conforme mostrado na Tabela 6.

Tabela 6 – Distribuição do sexo entre os grupos Grave e Leve/Moderado.

Sexo	Leve/Moderado	Grave	Total	p (< 0,05)
Masculino	11	50	61	0,0009
Feminino	29	32	61	
Total	40	82	122	

Fonte: Autoria própria

Em relação ao desfecho, o teste de exato de Fisher foi aplicado em relação ao sexo e ao desfecho, e não se observou diferença ($p= 0,4899$) como evidenciado na Tabela 7.

Tabela 7 – Distribuição do sexo entre os desfechos nos pacientes graves.

Sexo	Alta	Óbito	Total	p (< 0,05)
Masculino	28	22	50	0,4899
Feminino	21	11	32	
Total	49	33	82	

Fonte: Autoria própria

O teste de qui-quadrado revelou uma diferença ($p= <0,0001$) entre os grupos Grave e Leve/Moderado em relação à idade, conforme indicado na Tabela 8.

Tabela 8 – Distribuição da idade entre os grupos Grave e Leve/Moderado.

Idade (Grupo)	Leve/Moderado	Grave	Total	p (< 0,05)
18-39	20	16	36	<0,0001
40-59	17	24	41	
≥60	3	42	45	
Total	40	82	122	

Fonte: Autoria própria.

A diferença no desfecho em relação à idade foi revelada pelo teste de qui-quadrado ($p= 0,0411$), conforme demonstrado na Tabela 9.

Tabela 9 – Distribuição de idade entre os desfechos dos pacientes graves.

Idade (Grupo)	Alta	Óbito	Total	p (< 0,05)
18-39	14	2	16	0,0411
40-59	13	11	24	
≥60	22	20	42	
TOTAL	49	33	82	

Fonte; Autoria própria

Em relação às comorbidades, dos 49 pacientes que receberam alta, a frequência de sobrepeso/obesidade foi de 22 (44,90%), hipertensão arterial sistêmica foi de 20 (40,82%), *diabetes mellitus* foi de 15 (30,61%), tabagismo foi de sete (12,24%), cardiopatia foi de três (6,12%), etilismo foi de cinco (10,20%), transtornos psiquiátricos foram de cinco (10,20%), doença renal crônica foi de três (6,12%), doença pulmonar foi de cinco (10,20%), acidente vascular cerebral foi de dois (4,08%), uso de dispositivo médico foi de um (2,04%), síndrome demencial foi de um (2,04%), epilepsia foi de dois (4,08%), outras comorbidades foram de cinco (10,20%), e sete (14,29%) não apresentaram comorbidade. A frequência de comorbidade nos pacientes que receberam alta pode ser vista na Tabela 10.

Tabela 10 – Lista de frequência de comorbidade dos pacientes que receberam alta.

Comorbidade	Frequência absoluta	Porcentagem
Sobrepeso/Obesidade	22	44,90
HAS	20	40,82
DM	15	30,61
Tabagista	7	14,29
Cardiopatia	3	6,12
Etilista	5	10,2
Transtorno psiquiatra	5	10,2
DRC	3	6,12
Doença Pulmonar	5	10,2
AVC	2	4,08
Dispositivo médico	1	2,04
Síndromes Demenciais	1	2,04
Epilepsia	2	4,08
Outras	5	10,2

Sem comorbidade	7	14,29
-----------------	---	-------

HAS: Hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; DRC: Doença renal crônica; AVC: Acidente vascular cerebral.

Em relação aos 33 pacientes que evoluíram para óbito, a frequência de sobrepeso/obesidade foi de 10 (30,30%), hipertensão arterial sistêmica foi de 16 (48,48%), *diabetes mellitus* foi de nove (27,27%), nove (27,27%) eram tabagistas, cardiopatia foi de sete (21,21%), etilismo foi de três (9,09%), transtorno psiquiátrico foi de um (3,03%), doença renal crônica foi de três (9,09%), doença pulmonar foi de três (9,09%), acidente vascular cerebral foi de dois (6,06%), três (9,09%) usavam algum dispositivo médico, dois (6,06%) tinham síndrome demencial, um (3,03%) tinha epilepsia, um (3,03%) tinha outra comorbidade, e quatro (12,12%) não apresentaram comorbidade. A frequência desse grupo pode ser observada na Tabela 11.

Tabela 11 – Lista de frequência de comorbidade dos pacientes que evoluíram para óbito.

Comorbidade	Frequência absoluta	Porcentagem
Sobrepeso/Obesidade	10	30,3
HAS	16	48,48
DM	9	27,27
Tabagista	9	27,27
Cardiopatia	7	21,21
Etilista	3	9,09
Transtorno psiquiatra	1	3,03
DRC	3	9,09
Doença Pulmonar	3	9,09
AVC	2	6,06
Dispositivo médico	3	9,09
Síndromes Demenciais	2	6,06
Epilepsia	1	3,03
Outras	1	3,03
Sem comorbidade	4	12,12

HAS: Hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; DRC: Doença renal crônica; AVC: Acidente vascular cerebral.

O teste exato de Fisher foi aplicado para verificar a diferença de frequências nas comorbidades mais frequentemente encontrados. No entanto, conforme observado na Tabela 12, não houve diferenças todas apresentaram um $p > 0,05$.

Tabela 12 – Frequência de comorbidades, segundo desfecho.

Comorbidade	Óbito	Alta	Total	P < 0,05
HAS	16	20	36	0,5064
Sobrepeso/Obesidade	10	22	32	0,2492
Tabagismo	9	7	16	0,1655
Cardiopatias	7	3	10	0,0809
DM	9	15	24	0,8082

Fonte: Autoria própria

Dos 40 pacientes com a forma leve/moderada da doença, a frequência de pacientes com sobrepeso ou obesas foram de 23 (57,50%) hipertensão foi de sete (17,50%), *diabetes mellitus* foi de cinco (12,50%), influenza A/B foi de zero (0,00%), cardiopatia foi de zero (0,00%), doença pulmonar foi de três (7,50%), malignidade foi de zero (0,00%), anemia foi de quatro (10,00%), hepatite aguda foi de cinco (12,50%), doença renal aguda foi de seis (15,00%), doença renal crônica foi de um (2,50%), e outras comorbidades foram de 26 (65,00%), 20 (50,00%) sem comorbidade. A frequência desse grupo pode ser vista na Tabela 12.

Tabela 13 – Lista de frequência de comorbidade dos pacientes leve/moderados.

Comorbidade	Frequência absoluta	Porcentagem
Sobrepeso/Obesidade	23	57,50
Hipertensão	7	17,5
DM	5	12,5
Influenza A/B	0	0
Cardiopatia	0	0
Doença pulmonar	3	7,5
Malignidade	0	0
Anemia	4	10
Hepatite Aguda	5	12,5
Doença Renal Aguda	6	15
Doença Renal Crônica	1	2,5

Outras	23	57,5
Sem comorbidade	20	50

Fonte: Autoria própria. DM: *diabetes mellitus*

Analisando as frequências de HAS e DM nos diferentes grupos, por meio do teste de qui-quadrado, foi observado que o grupo com covid-19 leve apresentou uma proporção significativamente maior de indivíduos sem HAS em comparação com os demais grupos ($p=0,013$) DM não apresentou significância ($p = 0,117$). Contudo, não foi possível verificar o histórico de tabagismo para o grupo leve/moderado, pois não havia informações disponíveis.

Além disso, a categoria de sobrepeso/obesidade não foi incluída devido a possíveis divergências de diagnóstico desses estados provenientes das diferentes origens, por exemplo, não temos acesso ao Índice de Massa Corporal do grupo grave. Esses dados estão detalhados na Tabela 14.

Tabela 14 – Frequências de HAS e DM.

Comorbidades	Leve N = 40 (%)	Grave N = 49 (%)	Óbito N = 33 (%)	<i>p</i>
HAS				
NÃO	33 (82,5%)	29 (59,2%)	17 (51,5%)	0,013
SIM	7 (17,5%)	20 (40,8%)	16 (48,5%)	
DM				
NÃO	35 (87,5%)	34 (69,4%)	24 (72,7%)	0,117
SIM	5 (12,5%)	15 (30,6%)	9 (27,3%)	

Fonte: Autoria própria. DM: diabetes mellitus; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica.

Em relação aos pacientes que receberam alta ($n=49$), a frequência de manifestação clínica incluiu mais frequentes incluiu: Dessaturação 27 (55,10%), tosse 25 (51,02%), dispneia 24 (48,98%), febre 24 (48,98%), manifestação neurológica 14 (28,57%), SRAG 11 (22,45%), sintoma gástrico 11 (22,45%). Foi o único grupo que manifestou alguma forma de manifestação neurológica.

Em relação aos pacientes que evoluíram para óbito ($n=33$), a frequência de manifestações clínicas mais frequentes incluem: Dessaturação 15 (45,45%), tosse 13 (39,39%) outros 12 (36,36%), dispneia 11 (15,15%), sintomas gástricos nove (27,27%), síndrome gripal cinco (15,15%). A frequência das manifestações clínicas no grupo grave, por desfecho pode ser vista na Tabela 15.

Tabela 15 – Frequência de manifestações clínicas no grupo grave, por desfecho.

Manifestação Clínica	N.º de Pacientes (Alta)	Porcentagem (Alta)	N.º de Pacientes (Óbito)	Porcentagem (Óbito)
Adinamia	3	6,12	4	12,12
Ageuseia	2	4,08	1	3,03
Anosmia	3	6,12	1	3,03
Astenia	2	4,08	--	--
Cansaço	1	2,04	--	--
Cefaleia	8	16,33	4	12,12
Choque	--	--	2	6,06
Cianose periférica	--	--	2	6,06
Convulsão	2	4,08	1	3,03
Coriza	4	8,16	2	6,06
Desconforto respiratório	6	12,24	4	12,12
Dessaturação	27	55,1	15	45,45
Disfagia	7	14,29	3	9,09
Dispneia	24	48,98	11	33,33
Febre	24	48,98	2	6,06
Febre não aferida	1	2,04	--	--
Hipertensão	2	4,08	1	3,03
Hiporexia	3	6,12	1	3,03
Hipotensão	2	4,08	1	3,03
Insuficiência respiratória	4	8,16	4	12,12
Sintoma renal	1	2,04	1	3,03
Mialgia	6	12,24	4	12,12
Outros	7	14,29	12	36,36
Saturação >94%	6	12,24	3	9,09
Sem desconforto respiratório	1	2,04	--	--
Sem sinais gripais prévios	1	2,04	--	--
Sintoma gástrico	11	22,45	9	27,27
Sintoma neurológico	14	28,57	--	--
Sintoma pulmonar profunda	3	6,12	2	6,06
SRAG	11	22,45	3	9,09
Síndrome gripal	4	8,16	5	15,15
Taquicardia	--	--	2	6,06
Taquidispenia	4	8,16	2	6,06

Taquipneia	4	8,16	2	6,06
Tosse	25	51,02	13	39,39
Tremores	1	2,04	--	--

Fonte: Elaborada pelo autor. SRAG: Síndrome Respiratória Aguda Grave

Em relação aos pacientes leves/moderados (n=40), as manifestações clínicas mais frequentes foram: Tosse 31 (77,5%), mialgia 30 (75%), fadiga 29 (72,5%), cefaleia 29 (72,5%), febre 28 (70%), tampão nasal 26 (65%), faringalgia 26 (65%), perda de olfato 22 (55%), perda do paladar 20 (50%), A tabela da frequência de manifestações clínicas no grupo leve/moderado pode ser vista na Tabela 16.

Tabela 16 – Frequência de manifestações clínicas no grupo leve/moderado.

Manifestação Clínica	N.º de Pacientes	Porcentagem
Cefaleia	29	72,5
Coriza	1	2,5
Diarreia	11	27,5
Desconforto respiratório	14	35
Expectoração	13	32,5
Fadiga	29	72,5
Falta de ar	10	25
Febre	28	70
Faringalgia	26	65
Hemoptise	--	--
Mialgia	30	75
Outros	3	7,5
Perda de olfato	22	55
Perda do paladar	20	50
SRAG	4	10
Sintoma gástrico	10	25
Sintoma neurológico	2	5
Tampão nasal	26	65
Tosse	31	77,5

Fonte: Autoria própria. SRAG: Síndrome Respiratória Aguda Grave.

6.2 Ensaios de genotipagem

Após análise de equilíbrio de Hardy-Weinberg dos 122 pacientes, observou-se que todos os alvos estavam no referido equilíbrio ($p = >0,05$). Portanto indicando que a população não está evoluindo em relação aos SNPs, seguindo exclusivamente o referido equilíbrio. Esses dados podem ser observados na Tabela 17.

Tabela 17 – Análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg dos alvos estudados.

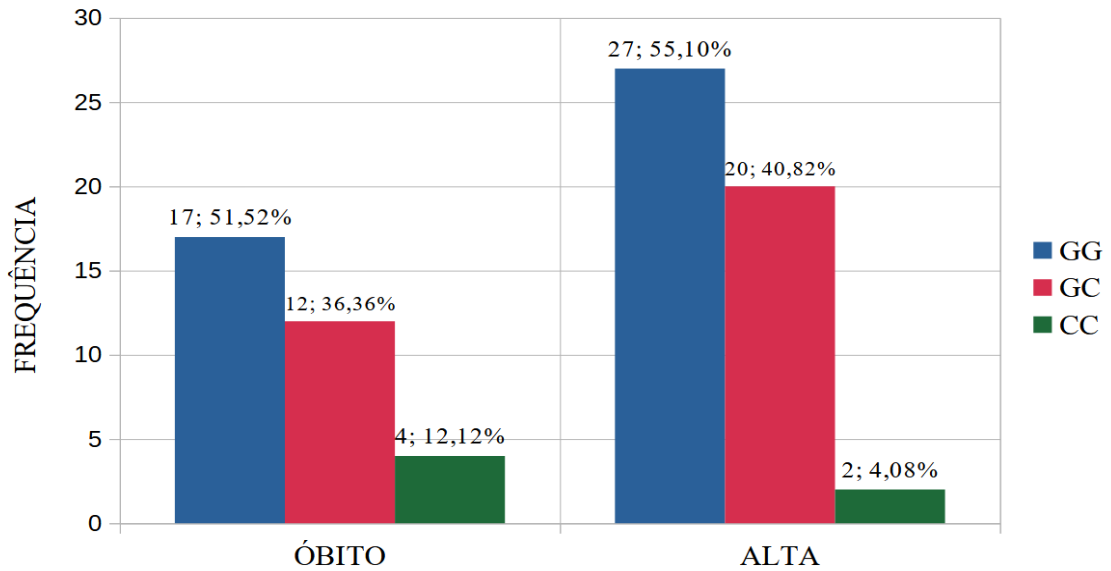
Polimorfismo	Gene	Se $P < 0,05$ – não consistente com HWE.
<i>rs1800872</i>	<i>IL-10</i>	0,100692
<i>rs3819025</i>	<i>IL-17A</i>	0,204217
<i>rs1800795</i>	<i>IL-6</i>	0,762815
<i>rs1143627</i>	<i>IL-1β</i>	0,716673
<i>rs1800629</i>	<i>TNF</i>	0,853943

HWE: Equilíbrio de Hardy-Weinberg,

6.2.1 Avaliação do SNP *rs1800795 (C>G)* da *IL-6* nos pacientes com a forma leve/moderada e a forma grave da doença

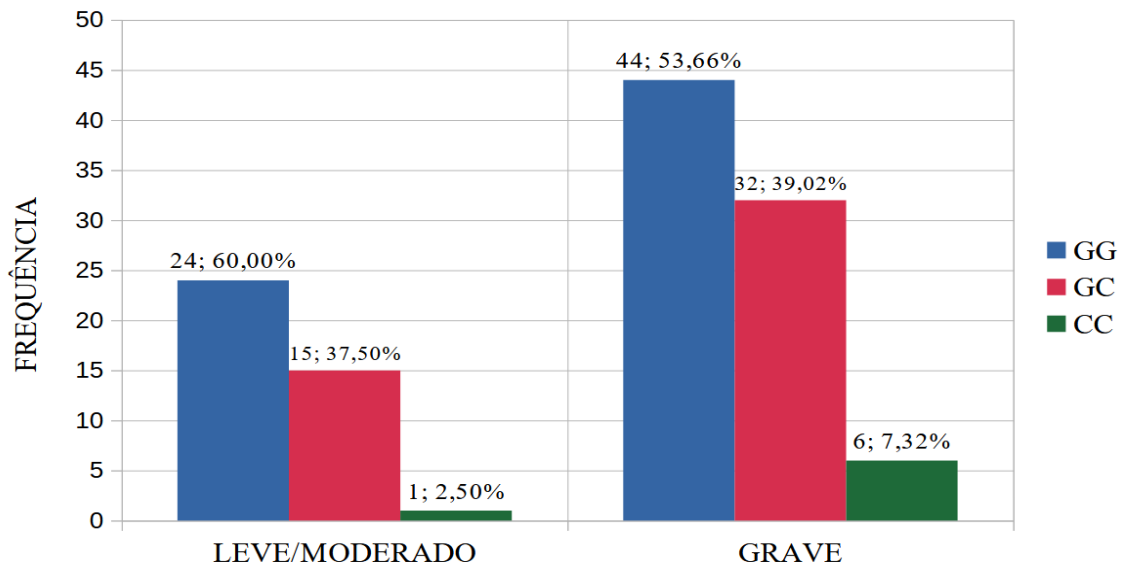
No grupo de pacientes graves, a análise da variante *rs1800795 (C>G)* da *IL-6* mostrou que o genótipo GG foi o mais comum, encontrado em 44 indivíduos (53,66%). O genótipo GC foi identificado em 32 pacientes (39,02%), e apenas seis pacientes (7,32%) apresentaram o genótipo CC.

Quanto ao desfecho, dos pacientes que vieram ao óbito, 17 (51,52%) tinham o genótipo GG, 12 (36,36%) o genótipo GC e quatro (12,12%) o genótipo CC. Entre os pacientes que receberam alta, 27 (55,10%) tinham o genótipo GG, 20 (40,82%) o genótipo GC e apenas dois (4,08%) o genótipo CC. A frequência dos genótipos no grupo grave, conforme o desfecho, pode ser observada no Gráfico 5.

Gráfico 5 – Frequência dos genótipos do *rs1800795* (C>G) no grupo grave, por desfecho.

Fonte: Autoria própria.

No que diz respeito aos pacientes com a forma leve e moderada da doença, 24 deles (60,00%) apresentaram o genótipo GG, 15 (37,50%) o genótipo GC, e apenas um (2,50%) o genótipo CC. A frequência dos genótipos no grupo leve/moderado, em comparação com o grupo grave, pode ser observada no Gráfico 6.

Gráfico 6 – Frequência dos genótipos do *rs1800795* (C>G) no grupo leve/moderado vs grave.

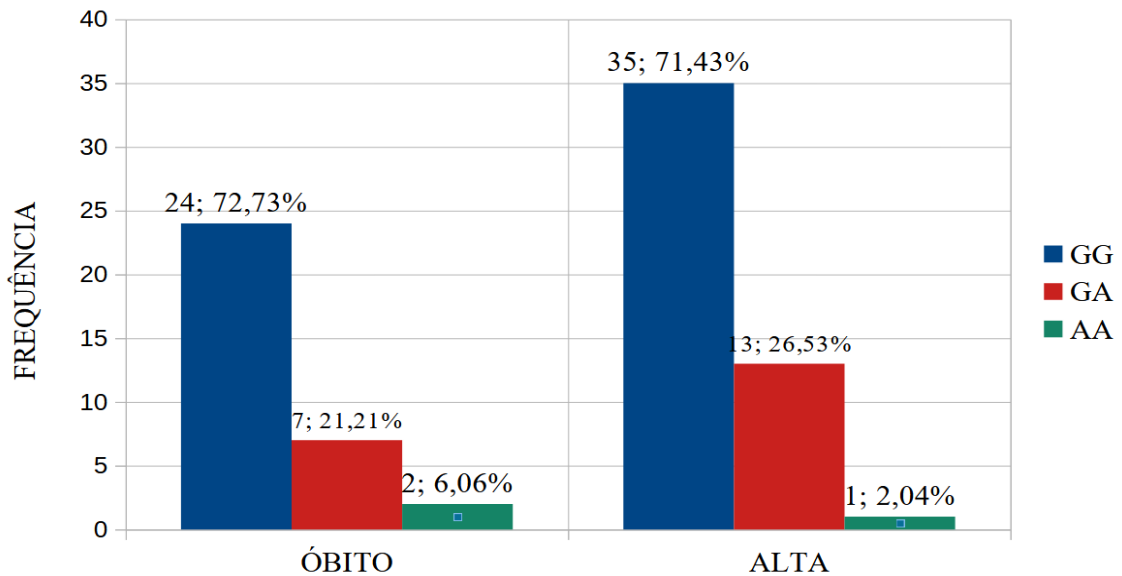
Fonte: Autoria própria.

6.2.2 Avaliação do SNP *rs1800629* (G>A) do TNF nos pacientes com a forma leve/moderada e a forma grave da doença

Em relação à análise da variante *rs1800629* (G>A) do TNF no grupo de pacientes graves, o genótipo GG foi predominante, observado em 59 pacientes (71,95%). O genótipo GA foi detectado em 20 pacientes (24,39%), enquanto o genótipo AA foi identificado em apenas três pacientes (3,66%).

No que se refere ao desfecho, dos pacientes que evoluíram ao óbito, 24 (72,73%) possuíam o genótipo GG, sete (21,21%) o genótipo GA e dois (6,06%) o genótipo AA. Entre os pacientes que receberam alta, 35 (71,43%) possuíam o genótipo GG, 13 (26,53%) o genótipo GA e apenas um (2,04%) o genótipo AA. Essas informações podem ser visualizadas no Gráfico 7.

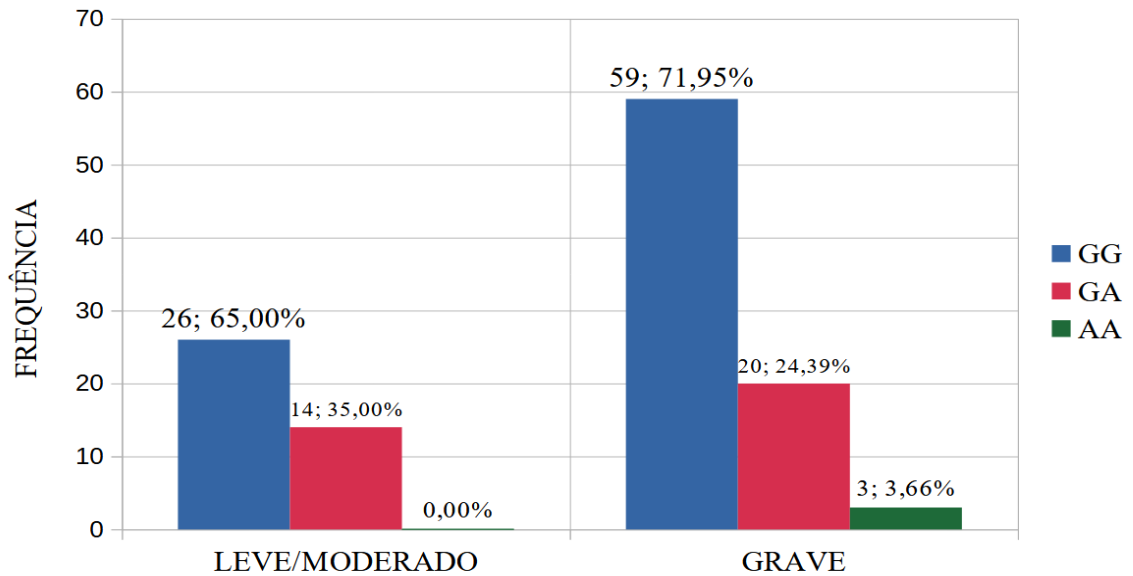
Gráfico 7 – Frequência dos genótipos do *rs1800629* (G>A) no grupo grave, por desfecho.



Fonte: Autoria própria.

No que se refere aos pacientes com quadro leve/moderado, 26 deles (65,00%) apresentaram o genótipo GG, 14 (35,00%) o genótipo GC, e nenhum (0,00%) apresentou o genótipo CC. A comparação da frequência dos genótipos entre o grupo leve/moderado e o grupo grave pode ser visualizada no Gráfico 8.

Gráfico 8 – Frequência dos genótipos do *rs1800629* (G>A) no grupo leve/moderado vs grupo grave.

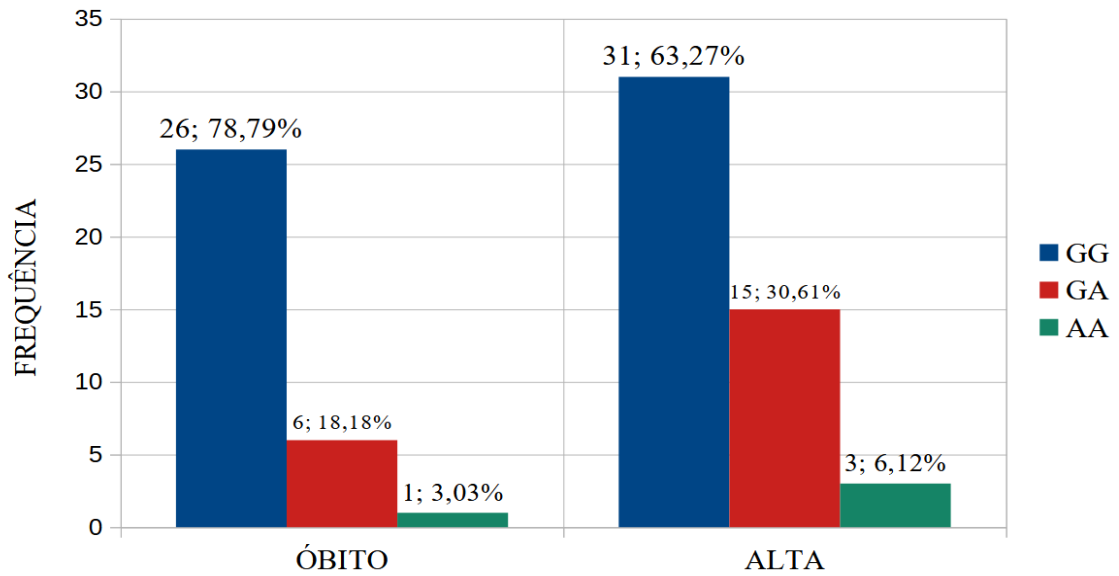


Fonte: Autoria própria.

6.2.3 Avaliação do SNP *rs3819025* (G>A) da *IL-17A* nos pacientes com a forma leve/moderada e forma grave da doença

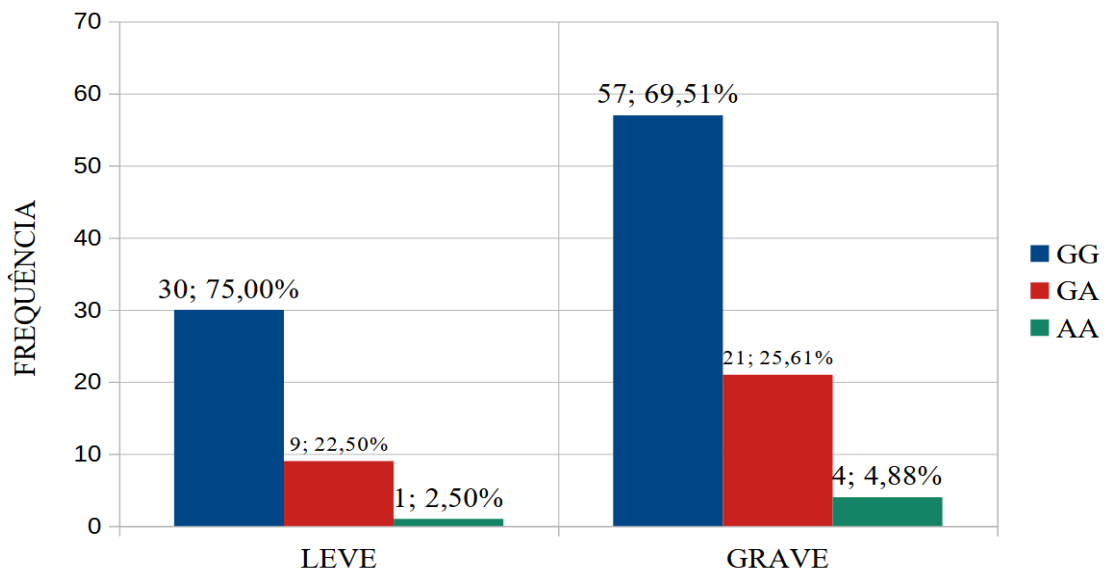
Em relação à análise da variante *rs3819025* (G>A) da *IL-17A* no grupo de pacientes graves, o genótipo GG foi o mais comum, encontrado em 57 pacientes (69,51%). O genótipo GA foi identificado em 21 pacientes (25,61%), enquanto o genótipo AA foi observado em quatro pacientes (4,88%).

No que se refere ao desfecho, dos pacientes que evoluíram para óbito, 26 (78,79%) possuíam o genótipo GG, seis (18,18%) o genótipo GA e um (3,03%) o genótipo AA. Entre os pacientes que receberam alta, 31 (63,27%) tinham o genótipo GG, 15 (30,61%) o genótipo GA e três (6,12%) o genótipo AA. Essas informações podem ser visualizadas no Gráfico 9.

Gráfico 9 – Frequência dos genótipos do *rs3819025* (G>A) no grupo grave, por desfecho.

Fonte: Autoria própria.

No que se refere aos pacientes com quadro leve/moderado, 30 deles (75,00%) apresentavam o genótipo GG, nove (22,50%) possuíam o genótipo GA e apenas um (2,50%) tinha o genótipo AA. Essa frequência dos genótipos do grupo leve/moderado em comparação com o grupo grave pode ser observada no Gráfico 10.

Gráfico 10 – Frequência dos genótipos do *rs3819025* (G>A) no grupo leve/moderado vs grupo grave.

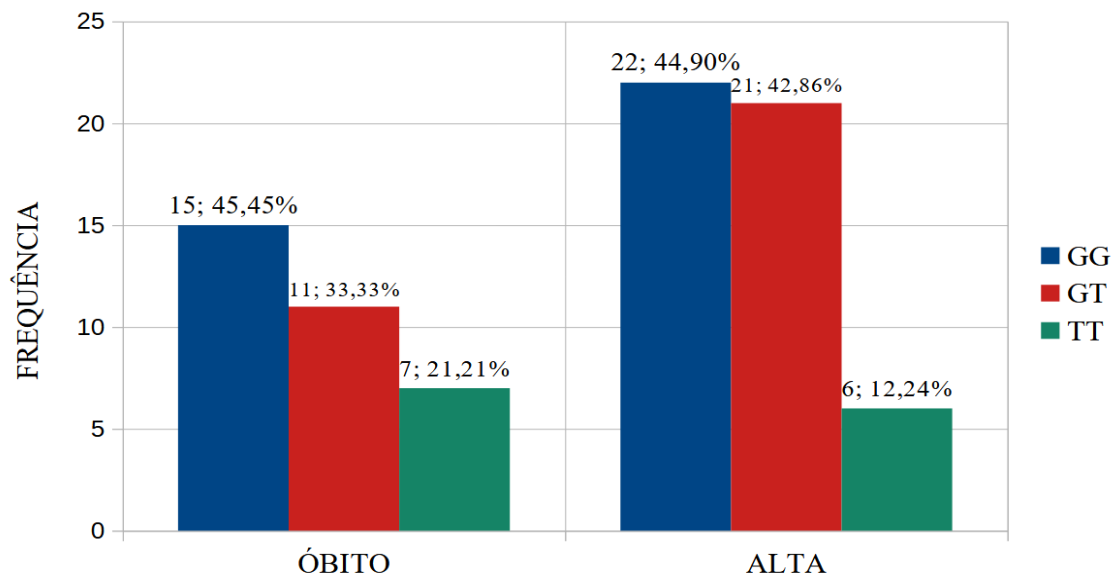
Fonte: Autoria própria

6.2.4 Avaliação do SNP *rs1800872* (T>G) da *IL-10* nos pacientes com a forma leve/moderada e a grave da doença

No que se refere à análise da variante *rs1800872* (T>G) da *IL-10* no grupo de pacientes graves, o genótipo GG foi o mais comum, encontrado em 37 pacientes (45,68%). O genótipo TG foi o segundo mais frequente, identificado em 32 pacientes (39,02%), enquanto o genótipo TT foi observado em 13 pacientes (16,05%).

Em relação ao desfecho, dos pacientes que vieram ao óbito, 15 (45,45%) possuíam o genótipo GG, 11 (33,33%) o genótipo GT e sete (21,21%) o genótipo TT. Entre os pacientes que receberam alta, 22 (44,90%) possuíam o genótipo GG, 21 (42,86%) o genótipo GT e seis (12,24%) o genótipo TT. Essas informações podem ser visualizadas no Gráfico 11.

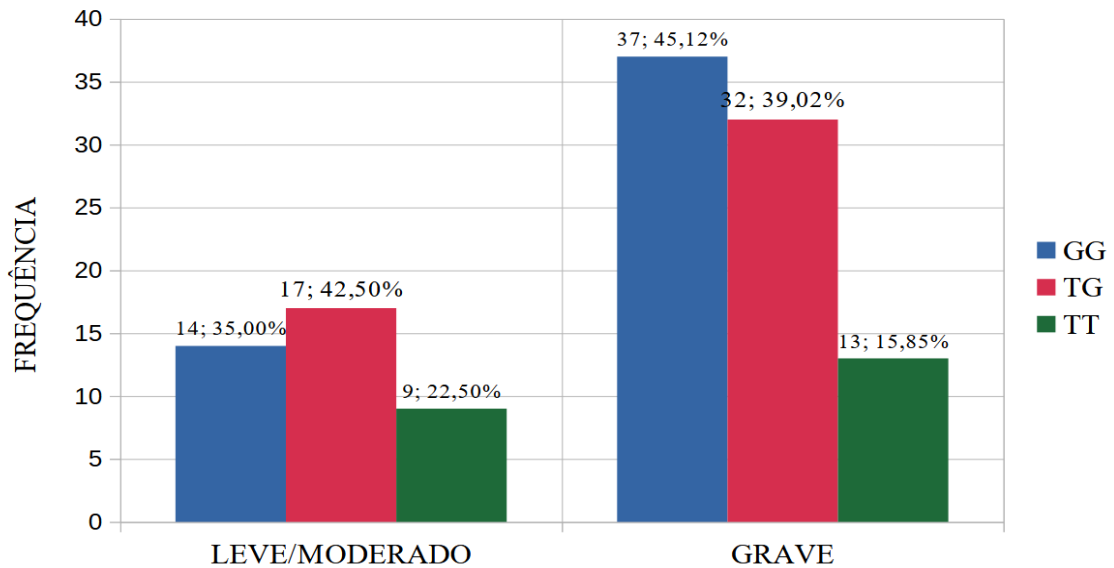
Gráfico 11 – Frequência dos genótipos do *rs1800872* (T>G) no grupo grave, por desfecho.



Fonte: Autoria própria.

Foi observado que no grupo leve/moderado o genótipo mais visto foi o TG com 17 (42,50%), seguido pelo GG com 14 (35,00%), e o TT com nove (22,50%). A comparação entre a frequência desses genótipos no grupo leve/moderado entre o grupo grave pode ser vista no Gráfico 12.

Gráfico 12 – Frequência dos genótipos do *rs1800872* (T>G) no grupo leve/moderado vs grupo grave.

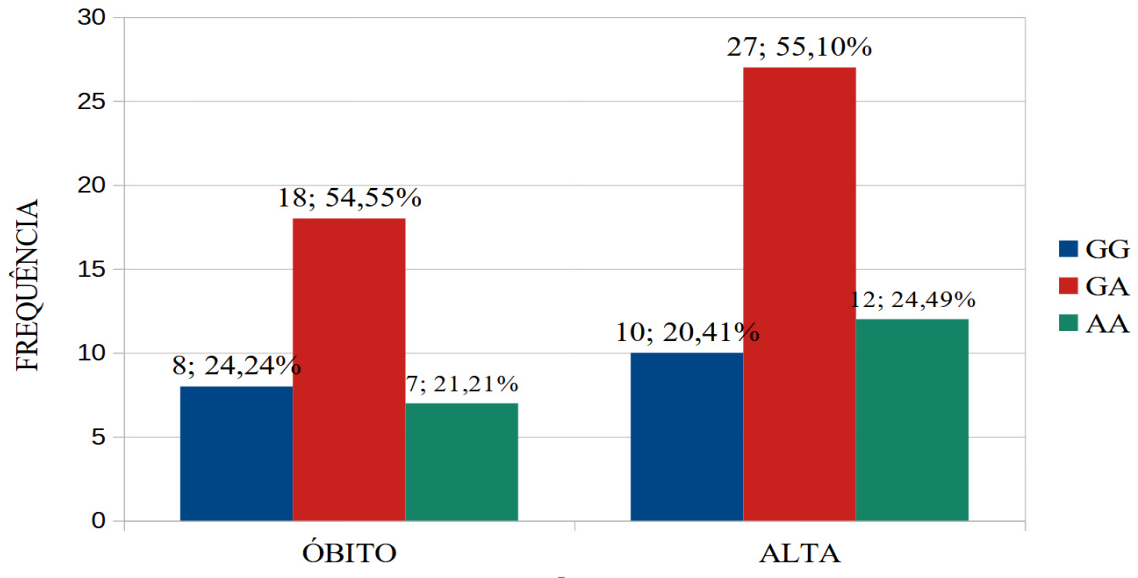


Fonte: Autoria própria.

6.2.5 Avaliação do SNP *rs1143627* (G>A) da *IL-1β* nos pacientes com a forma leve/moderada e a forma grave da doença

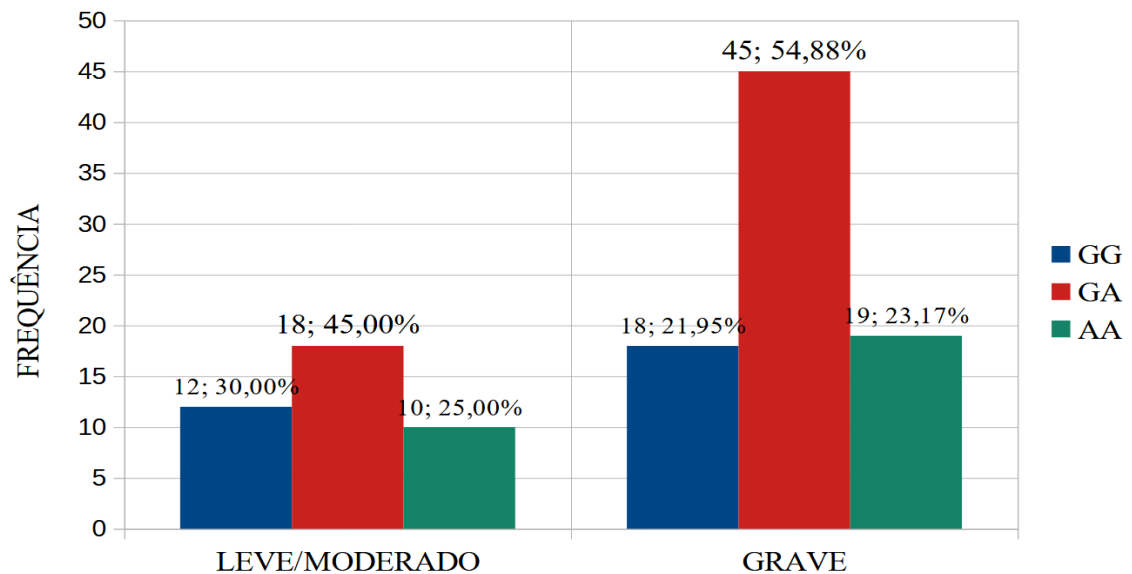
No que se refere à análise da variante *rs1143627* (G>A) da *IL-1β* no grupo de pacientes graves, o genótipo GA foi o mais comum, encontrado em 45 pacientes (54,88%). O genótipo AA foi identificado em 19 pacientes (23,17%), enquanto o genótipo GG foi observado em 18 pacientes (21,95%).

Em relação ao desfecho, dos pacientes que evoluíram ao óbito, 18 (54,55%) possuíam o genótipo GA, oito (24,24%) o genótipo GG e sete (21,21%) o genótipo AA. Entre os pacientes que receberam alta, 27 (55,10%) possuíam o genótipo GA, 12 (24,49%) o genótipo AA e dez (20,41%) o genótipo GG. Essas informações podem ser visualizadas no Gráfico 13.

Gráfico 13 – Frequência dos genótipos do *rs1143627* (G>A) no grupo grave, por desfecho.

Fonte: Autoria própria.

No grupo de pacientes com quadro leve/moderado, o genótipo GA foi o mais comum, observado em 18 indivíduos (45,00%). O genótipo GG foi identificado em 12 pacientes (30,00%), enquanto o genótipo AA foi encontrado em 10 pacientes (25,00%). A comparação da frequência desses genótipos entre o grupo leve/moderado e o grupo grave pode ser visualizada no Gráfico 14.

Gráfico 14 – Frequência dos genótipos do *rs1143627* (G>A) no grupo leve/moderado e grave.

Fonte. Autoria própria

6.3 Análise estatística

No modelo codominante para o grupo grave, alta vs óbito, foi aplicado o teste estatístico de qui-quadrado aos SNPs *rs1800795*, *rs1800629*, *rs3819025*, *rs1800872* e *rs1143627*. No entanto, não foi encontrado diferença ($p = >0,05$). Da mesma forma, nos modelos dominante e alélico, utilizamos o teste exato de Fisher, que também não indicou significância ($p = >0,05$). Os detalhes desses resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Frequência genotípica e alélica; modelos codominante, dominante e alélico dos polimorfismos, segundo desfecho.

SNP	Modelo	Genotipagem	Frequência		Valor de p ($p < 0,05$)
			Alta	Óbito	
<i>rs1800795</i>	Codominante	GG	27	17	0,3888
		GC	20	12	
		CC	2	4	
	Dominante	GG	27	17	>0,9999
		GC	20	12	
	Dominante	GG	27	17	0,2234
		CC	2	4	
	Dominante	GG	27	17	0,8230
		GC+CC	22	16	
	Alelo	G	74	46	0,4733
C		24	20		
<i>rs1800629</i>	Codominante	GG	35	24	0,5757
		GA	13	7	
		AA	1	2	
	Dominante	GG	35	24	0,7927
		GA	13	7	
	Dominante	GG	35	24	0,5669
		AA	1	2	
	Dominante	GG	35	24	>0,9999
		GA+AA	14	9	
	Alelo	G	83	55	0,8303
A		15	11		
<i>rs3819025</i>	Codominante	GG	31	26	0,3231
		GA	15	6	
		AA	3	1	

	Dominante	GG	31	26	0,2036
		GA	15	6	
	Dominante	GG	31	26	0,6227
		AA	3	1	
	Dominante	GG	31	26	0,1511
		GA+AA	18	7	
	Alelo	G	77	58	0,1473
		A	21	8	
<i>rs1800872</i>	Codominante	GG	22	15	0,4819
		GT	21	11	
		TT	6	7	
	Dominante	GG	22	15	0,6275
		GT	21	11	
	Dominante	GG	22	15	0,5204
		TT	6	7	
	Dominante	GG	22	15	>0,9999
		GT+TT	27	18	
	Alelo	G	65	41	0,6195
		T	33	25	
<i>rs1143627</i>	Codominante	AA	12	7	0,8938
		AG	27	18	
		GG	10	8	
	Dominante	AA	12	7	>0,9999
		AG	27	18	
	Dominante	AA	12	7	0,7431
		GG	10	8	
	Dominante	AA	12	7	0,7948
		AG+GG	37	26	
	Alelo	A	51	32	0,7504
		G	47	34	

Fonte: Autoria própria

No modelo de codominância para o grupo de leve a moderado versus grave, foi realizado o teste de qui-quadrado nos SNPs *rs1800795*, *rs1800629*, *rs3819025*, *rs1800872* e *rs1143627*. Contudo, não foi observado diferença ($p = >0,05$). Similarmente, nos modelos

dominante e alélico, o teste exato de Fisher foi aplicado, que também não mostrou significância ($p = >0,05$). Esses resultados estão expostos na Tabela 19.

Tabela 19 – Frequência genotípica e alélica; modelos codominante, dominante e alélico dos polimorfismos, grupo leve/moderado contra o grupo grave.

SNP	Modelo	Genotipagem	Frequência		Valor de P (P<0,05)
			Lev/Mod	Grave	
<i>rs1800795</i>	Codominante	GG	24	44	0,5227
		GC	15	32	
		CC	1	6	
	Dominante	GG	24	44	0,8415
		GC	15	32	
	Dominante	GG	24	44	0,4129
		CC	1	6	
	Dominante	GG	24	44	0,5634
		GC+CC	16	38	
	Alelo	G	63	120	0,4313
C		17	44		
<i>rs1800629</i>	Codominante	GG	26	59	0,2546
		GA	14	20	
		AA	0	3	
	Dominante	GG	26	59	0,2891
		GA	14	20	
	Dominante	GG	26	59	0,5520
		AA	0	3	
	Dominante	GG	26	59	0,5296
		GA+AA	14	23	
	Alelo	G	66	138	0,8540
A		14	26		
<i>rs3819025</i>	Codominante	GG	30	57	0,7444
		GA	9	21	
		AA	1	4	
	Dominante	GG	30	57	0,8227
		GA	9	21	
	Dominante	GG	30	57	0,6597
AA		1	4		

	Dominante	GG	30	57	0,6704
		GA+AA	10	25	
	Alelo	G	69	135	0,4683
		A	11	29	
<i>rs1800872</i>	Codominante	GG	14	37	0,4970
		GT	17	32	
		TT	9	13	
	Dominante	GG	14	37	0,5182
		GT	17	32	
	Dominante	GG	14	37	0,2823
		TT	9	13	
	Dominante	GG	14	37	0,3316
		GT+TT	26	45	
		Alelo	G	45	
T	35	58			
<i>rs1143627</i>	Codominante	GG	12	18	0,5342
		GA	18	45	
		AA	10	19	
	Dominante	GG	12	18	0,3435
		GA	18	45	
	Dominante	GG	12	18	0,7892
		AA	10	19	
	Dominante	GG	12	18	0,3739
		GA+AA	28	64	
	Alelo	G	42	81	0,6838
		A	38	83	

Fonte: Autoria própria.

A seguir, verificou-se se a presença de comorbidades e alelos polimórficos poderiam prever o risco de desenvolver covid-19 grave. Para essa análise, apenas o modelo com HAS foi significativo, [$X^2(1) = 10,77$; $p = 0,001$; $R^2_{\text{Nagelkerke}} = 0,118$], indicando que ter HAS aumenta as chances de desenvolver covid-19 grave em 4,42 vezes (OR = 4,42; IC95% = 1,7 – 11,7). No entanto, a presença de DM e dos alelos polimórficos, quando considerados isoladamente, não foram preditores, conforme demonstrado na Tabela 20.

Tabela 20 – Regressão logística binária para prever a gravidade segundo as comorbidades e alelos.

Modelos	B	Erro Padrão	<i>p</i>	<i>OddsRatio</i>	IC 95%
HAS	1,487	0,496	0,003	4,42	1,7 – 11,7
DM	1,017	0,537	0,058	2,76	0,96 – 7,92
TNF (GA/AA)	-0,379	0,414	0,360	0,68	0,30 – 1,54
IL-6 (GC/CC)	0,194	0,393	0,622	1,21	0,56 – 2,62
IL-10 (TG/GG)	0,480	0,485	0,323	1,61	0,62 – 4,18
IL-17 (GA/AA)	0,280	0,436	0,522	1,32	0,56 – 3,11
IL-1β (GA/AA)	0,473	0,437	0,279	1,60	0,68 – 3,78

Fonte: Autoria própria.

Ao verificar a possibilidade de interações entre comorbidades e fatores genéticos, observou-se que a HAS interagiu com o DM [$X^2(1) = 9,43$; $p = 0,002$; $R^2_{\text{Nagelkerke}} = 0,104$], o alelo C da IL-6 [$X^2(1) = 9,99$; $p = 0,002$; $R^2_{\text{Nagelkerke}} = 0,110$], o alelo G da IL-10 [$X^2(1) = 7,09$; $p = 0,008$; $R^2_{\text{Nagelkerke}} = 0,079$] e com o alelo A da IL-1β [$X^2(1) = 13,32$; $p < 0,001$; $R^2_{\text{Nagelkerke}} = 0,145$]. Isso indica que um indivíduo com HAS, quando também acometido por DM, tem o risco de desenvolver covid-19 grave aumentado em 10,52 vezes (IC95% = 1,35 – 81,99). Quando o indivíduo é portador do alelo C (IL-6), o risco aumenta para 7,09 vezes (IC95% = 1,58 – 31,84), se for portador do alelo G (IL-10), o risco aumenta para 3,65 vezes (IC95% = 1,29 – 10,35), e se for portador do alelo A (IL-1β), o risco aumenta para 8,92 vezes (IC95% = 2,0 – 39,78). Esses dados podem ser observados na Tabela 20.

Tabela 21 – Regressão logística binária para prever a gravidade segundo a interação entre comorbidades e alelos polimórficos.

Modelos	B	Erro Padrão	<i>p</i>	<i>OddsRatio</i>	IC 95%
HAS*DM	2,354	1,047	0,025	10,52	1,35 – 81,99
HAS*IL-6 (GC/CC)	1,959	0,766	0,011	7,09	1,58 – 31,84
HAS*IL-10 (TG/GG)	1,295	0,531	0,015	3,65	1,29 – 10,35
HAS*IL-1β (GA/AA)	2,188	0,763	0,004	8,92	2,0 – 39,78

Fonte: Autoria própria. Regressão Logística Binária; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%; Significância $p < 0,05$.

Ao verificar a predição do risco de óbito por covid-19, não foram encontrados resultados significativos. Isso indica que a presença de comorbidades e dos alelos

polimórficos não são capazes de prever o desfecho de óbito nesta amostra populacional. Como observado na Tabela 21.

Tabela 22 – Regressão logística binária para prever óbito segundo as comorbidades e alelos

Modelos	B	Erro Padrão	p	OddsRatio	IC 95%
HAS	0,771	0,418	0,065	2,16	0,95 – 4,90
DM	0,466	0,305	0,581	1,29	0,52 – 3,22
TNF (GA/AA)	-0,202	0,453	0,655	0,81	0,33 – 1,98
IL-6 (GC/CC)	0,234	0,409	0,568	1,26	0,56 – 2,81
IL-10 (TG/GG)	-0,284	0,511	0,579	0,75	0,27 – 2,05
IL-17 (GA/AA)	-0,585	0,482	0,225	0,56	0,22 – 1,43
IL-1 β (GA/AA)	0,026	0,475	0,957	1,02	0,40 – 2,60

Fonte: Autoria própria. Regressão Logística Binária; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%; Significância $p < 0,05$.

7. DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, foi possível observar que idosos são mais propensos a apresentar quadros severos de covid-19 e a evoluir ao óbito em decorrência da doença. Esses resultados estão alinhados com estudos prévios (ZHENG *et al.*, 2020; PIJLS *et al.*, 2021). Nesse grupo a inflamação e disfunção do sistema imunológico prejudicam a capacidade de combater a infecção pelo SARS-CoV-2 (ZHANG *et al.*, 2022), resposta insuficiente à ventilação mecânica e redução da função pulmonar (FERICEAN *et al.*, 2022). Adicionalmente, pessoas com idade avançada apresentam maior expressão ECA2 devido a acúmulo nos danos no DNA (JIN *et al.*, 2022).

Tendo em vista a idade, em pessoas mais idosas, há preexistência de células senescentes nos tecidos. Essas células, que possuem o fenótipo secretor associado à senescência, secretam fatores pró-coagulatórios e pró-inflamatórios. Esse fenótipo pode favorecer a microtrombose, infiltração de células imunes destrutivas de tecidos, fibrose, e tempestade de citocinas (SCHMITT *et al.*, 2022).

Com o avanço da idade, observa-se uma diminuição na população de células dendríticas plasmocitoides circulantes. Além disso, há uma queda na expressão de TLR7/9, que são cruciais para a produção de IFN do tipo I por essas células. A expressão do adaptador Fator Regulador 7 de Interferon também é reduzida (FENG *et al.*, 2021). Na forma grave da

covid-19, uma resposta atrasada ou fraca de IFN tipo I/III contribui para essa forma da doença e aumento da replicação viral (LAMERS; HAAGMANS, 2022).

No presente estudo, foi identificado que o sexo masculino apresentou maior predisposição para desenvolver formas graves da doença, uma característica também mencionada na literatura (MATSUSHITA *et al.*, 2020). No entanto, na presente população estudada, o sexo masculino não foi um fator determinante para a evolução ao óbito, apesar de evidências anteriores apontarem nessa direção (PECKHAM *et al.*, 2020).

Uma possível explicação para essa discrepância pode estar relacionada ao número absoluto de indivíduos do sexo masculino em nossa amostra. Independentemente disso, foi sugerido que as causas subjacentes para a maior severidade da doença nesse grupo são influenciadas por variações genéticas e hormonais no âmbito imunológico e celular. Além disso, fatores que envolvem normas sociais e culturais também desempenham um papel (ARNOLD *et al.*, 2022).

Como levantado por Ho *et al.* (2022) indivíduos do sexo feminino podem ter uma capacidade superior para combater a infecção inicial pelo SARS-CoV-2. Isso ocorre porque o estrogênio promove uma expressão amplificada de TLR7 em células imunes inatas. Além disso, em certas células, o TLR7 pode evitar a inativação do cromossomo X, o que possibilita uma expressão ainda mais elevada. Para a geração de IFN do tipo I através de células dendríticas plasmocitoides, o TLR7 é crucial. A produção de IFN α por células dendríticas plasmocitoides é mais elevada no sexo feminino, através da modulação pelo estrogênio (HO *et al.*, 2022). O sexo masculino apresenta concentrações maiores das citocinas IL-18 e IL-8, em comparação com o sexo feminino (TAKAHASHI *et al.*, 2020). Um estudo sugeriu que há correlação entre IL-18, gravidade e biomarcadores inflamatórios (SATĐŞ *et al.*, 2021)

Um estudo indicou que houve diferença entre sexo feminino e masculino em relação às concentrações circulantes de TNF, IL-10, IL-6 e IL-2R. Essas citocinas estavam consideravelmente mais elevadas no sexo masculino. Podendo explicar o papel delas na gravidade e mortalidade desse grupo (HU *et al.*, 2022). Níveis elevados de autoanticorpos contra IFN do tipo I estão ligados a forma grave da doença e foram mais frequentemente encontrados em pacientes do sexo masculino (WANG, X. *et al.*, 2023).

Um indicativo da progressão da covid-19 e relação com a gravidade da doença é a baixa população de linfócitos e o aumento de neutrófilos e leucócitos (MUDATSIR *et al.*, 2021). Uma pesquisa revelou que os indivíduos do sexo masculino possuíam uma população menor de linfócitos, além de uma maior razão de linfócitos-neutrófilos, e de concentrações de PCR (MENG *et al.*, 2020). A defesa proporcionada pelos anticorpos é essencial contra o

SARS-CoV-2, e as mulheres exibem respostas de anticorpos mais intensas após a vacinação e a infecção viral (HO *et al.*, 2022).

O papel dos hormônios androgênicos na covid-19 tem sido alvo de investigação, e níveis tanto reduzidos quanto elevados podem resultar em efeitos prejudiciais (HO *et al.*, 2022). Além dos possíveis efeitos da testosterona, outros fatores podem estar desempenhando um papel na diferença de adversidade entre os sexos (FABIÃO *et al.*, 2022). Um estudo mostrou que os homens foram menos responsáveis em relação à pandemia (LA VEGA; RUÍZ-BARQUÍN; BOROS; SZABO, 2020). Além disso, os homens têm maior prevalência de cardiopatias e hipertensão, e são mais propensos ao etilismo e tabagismo (FABIÃO *et al.*, 2022).

Na covid-19, sugere-se que condições de saúde que elevam a suscetibilidade à severidade da doença incluem doenças cardíacas e hipertensão (YANG *et al.*, 2020). Ser um fumante ativo ou ter um histórico de tabagismo também aumenta o risco de severidade e mortalidade (GALLUS *et al.*, 2023). Ademais, a obesidade não só eleva a probabilidade de casos graves, mas também aumenta o risco de mortalidade (SINGH *et al.*, 2022). Na população estudada com casos severos, as cinco doenças crônicas mais comuns não foram identificadas como um fator determinante para o desfecho. No entanto, a HAS apresentou uma maior predisposição para a progressão da doença.

Uma possível explicação para o aumento de gravidade em fumantes pode ser devido ao aumento da suscetibilidade a infecção pelo vírus. Foi constatado que os fumantes ativos, em oposição aos não-fumantes, exibem um aumento na expressão genética da forma longa e ativa da ECA2. Além disso, essa expressão está associada às células epiteliais secretoras, tanto do tipo caliciforme quanto do tipo clube (POUWELS *et al.*, 2023). Foi constatado que o uso de cigarro provoca um aumento na expressão de ECA2 em macrófagos alveolares, impulsionado por espécies reativas de oxigênio. Isso resulta em uma maior vulnerabilidade à infecção por SARS-CoV-2 (KUO *et al.*, 2023).

A obesidade pode aumentar a gravidade da covid-19 devido a fatores como disfunção na eliminação viral e vigilância imunológica, níveis anormais de adipocinas, com maior concentração de leptina pró-inflamatória e menor nível de adiponectina anti-inflamatória; restrição da função pulmonar pelo tecido adiposo resultando em hipóxia ao nível sistêmico, inflamação crônica, e alta expressão de ECA2 pelo tecido adiposo (YU *et al.*, 2022).

Na literatura, não foi possível identificar os mecanismos pelos quais a hipertensão poderia agravar a covid-19. No entanto, um ensaio clínico controlado aleatório, que foi interrompido por questões de segurança, com a intervenção de bloqueadores do receptor de

angiotensina ou inibidores da ECA, a condição de pacientes adultos com a forma severa da doença provavelmente se agravou e não houve melhora no quadro clínico observado. (WRITING COMMITTEE FOR THE REMAP-CAP INVESTIGATORS, 2023). Isso possivelmente indica que pacientes com covid-19 que são hipertensos e fazem uso dessas classes de medicamentos podem estar mais suscetíveis à piora da doença.

A escolha do *rs1800629* (G>A) do TNF, localizado na posição -308, foi baseada em um levantamento da literatura. Um estudo realizado em um hospital egípcio com uma população de 900 pessoas com covid-19 (456 graves e 444 leves) e 184 controles, recrutados entre abril e julho de 2020, observou que o genótipo “AA” aumenta a suscetibilidade à forma grave da doença (SALEH *et al.*, 2020). Colaborando com esse resultado uma meta-análise indicou que o alelo “A” eleva as concentrações de PCR e TNF. Esse mesmo alelo também aumenta a suscetibilidade à gravidade da doença e à evolução para o óbito. Foi visto que os caucasianos que possuem esse alelo têm um risco 3,17 vezes maior de evolução para o óbito. (DENG *et al.*, 2024).

Em contrapartida, um estudo realizado com uma amostra de indivíduos do Laboratório Central do Rio Grande do Sul, que incluiu 210 pacientes não hospitalizados e 217 hospitalizados coletados entre abril de 2020 e 2021, não identificou o *rs1800629* como significativo. (FEIRA; KeOWALSKI; VIANNA, 2022). Uma meta-análise separada que investigou o *rs1800629* não encontrou diferenças na gravidade da covid-19 (REN *et al.*, 2024). Outra meta-análise não identificou associação entre a *rs1800629* e a progressão para o óbito (ARAÚJO *et al.*, 2022). Outra pesquisa, que também foi realizada com uma população de um hospital egípcio, incluiu 110 pacientes com covid-19 e 110 controles saudáveis. Eles foram recrutados entre abril e julho de 2021. O estudo constatou que o genótipo GA do *rs1800629* estava associado à sobrevivência (ELDESOUKI *et al.*, 2024).

Uma análise *in silico* revelou que o *rs1800629* afeta o sítio de ligação do fator ATF3. O ATF3 controlando a transcrição regular do TNF (EL-RAHEEM *et al.*, 2020). Camundongos *knockout* para ATF3 apresentaram macrófagos primários expressando mais IL-6, -12 e TNF do que os camundongos selvagens, indicando uma função regulatória negativa do ATF3 (WHITMORE *et al.*, 2007).

O levantamento da literatura apontou o *rs1800795* (C>G) da IL-6, localizado na posição -174, como um alvo de interesse. A meta-análise evidenciou que essa variação genética está associada à gravidade da pneumonia (não causada por SARS-CoV-2) (ULHAQ; SORAYA, 2020). De maneira similar, um estudo que envolveu 316 pacientes sicilianos, todos positivos para o SARS-CoV-2 e divididos em 45 críticos e 271 não críticos, descobriu que o

genótipo CC foi encontrado com mais frequência em pacientes críticos. Além disso, observou-se uma correlação significativamente maior em indivíduos críticos no modelo recessivo (CC vs. GG+CG) (GIANNITRAPANI *et al.*, 2022). Curiosamente, um estudo que envolveu 280 pacientes iranianos com covid-19, sendo 140 graves e 140 não graves, identificou que o alelo “G” e o genótipo “GG” estavam correlacionados com a gravidade da doença. Além disso, o estudo constatou que o genótipo “GG” estava associado com uma maior probabilidade de óbito. (KHAFAEI *et al.*, 2024).

Por outro lado, em uma pesquisa realizada com uma população do Laboratório Central do Rio Grande do Sul, que envolveu 210 pacientes não internados e 217 internados, o *rs1800795* não foi significativo (FEIRA; KOWALSKI; VIANNA, 2022). Uma meta-análise identificou que o alelo “C” está correlacionado com maiores concentrações de PCR e IL-6. Entretanto, não encontrou associação com gravidade e evolução ao óbito, porém possível explicação para não associação com gravidade pode ser devido ao baixo número de pessoas incluídos (DENG *et al.*, 2024). Outra meta-análise, também não encontrou maior predisposição a covid-19 grave causado pelo *rs1800795* (REN *et al.*, 2024).

A revisão da literatura indicou que o *rs1143627* (G>A) é de interesse. O estudo que incluiu pacientes japoneses de três hospitais, onde 211 foram genotipados, recrutados entre março de 2020 e março de 2021, identificou que o genótipo “GG” no modelo dominante aumenta em cerca de quatro vezes a suscetibilidade à forma grave da covid-19 (TANIMINE *et al.*, 2021).

De forma intrigante, Liu *et al.* (2013) descobriram que o alelo “C” (equivalente ao “G” na *forward strand*) aparece com mais frequência em casos de influenza A(H1N1)pdm09 do que em indivíduos controle. Além disso, como levantado pela literatura por eles, é sugerido que o alelo “T” (equivalente ao “A” na *forward strand*) provoca um aumento na expressão de IL-1 β . Os pesquisadores postulam que o alelo “C” possa debilitar o sistema imunológico durante infecções virais (LIU *et al.*, 2013). De fato, observou-se o alelo “T”, por meio da ação sinérgica entre C/EBP β e PU.1, intensifica a expressão de IL-1 β . Ademais, o alelo “T” potencializa a produção da citocina mencionada no cenário de infecção por *Mycobacterium tuberculosis* (ZHANG *et al.*, 2014).

Considerando isso, a descoberta de que o genótipo “GG” aumenta a suscetibilidade à covid-19 grave em uma população japonesa, conforme apontado por Tanimine *et al.* (2021), pode ser devido a uma produção mais baixa de IL-1 β . Se realmente produzem menos dessa citocina devido a essa variação genética, isso poderia permitir que o vírus se replicasse com mais facilidade. Alternativamente, pode haver um papel trans-regulatório ainda não

explorado, ou uma interação específica entre o SARS-CoV-2 e esse genótipo. O contexto genético e as condições epigenéticas também podem influenciar a produção de IL1 β . A quantificação da transcrição específica do alelo, juntamente com a análise do haplótipo, podem ser empregadas para descartar a influência de fatores trans (IDRIS *et al.*, 2021)..

Por outro lado, um estudo realizado com uma população do Laboratório Central do Rio Grande do Sul, que envolveu 210 pacientes não internados e 217 internados, não identificou o *rs1143627* como significativo (FEIRA; KOWALSKI; VIANNA, 2022).

A revisão da literatura apontou que o *rs1800872* (T>G), localizado na posição -592, é um alvo de interesse. O estudo realizado em um hospital na Índia, que recrutou pacientes, dos quais 85 apresentavam uma forma leve e 75 uma forma grave da doença, identificou que o genótipo “CC” (equivalente ao “GG” na forward strand) oferece proteção contra a gravidade da doença (RIZVI *et al.*, 2022). Um estudo adicional reforça a relevância do *rs1800872* para a covid-19. A pesquisa envolveu 3184 pacientes, dos quais 1450 evoluíram para óbito e 1750 receberam alta. Foi observada uma correlação entre o genótipo “GT” e a evolução para óbito nas variantes Delta e Alfa. Já o genótipo “TT” foi associado a esse desfecho nas variantes Omicron BA.5 e Alfa (ABBOOD; ANVARI; FATEH, 2023). Além disso, outro estudo que englobou 301 pacientes com um quadro severo da doença e 142 com a forma leve, foi visto correlação entre o genótipo “TT” e a severidade da doença. Ademais, foi evidenciada uma correlação entre o *rs1800872* e concentrações de D-dímero e a severidade da doença. (YESSENBAYEVA *et al.*, 2023).

Por outro lado, o *rs1800872* não foi identificado como significativo em uma população de 193 pacientes do México (AVENDAÑO-FÉLIX *et al.*, 2021).

Na regulação da transcrição de IL-10, as variações *rs1800896*, *rs1800871* e *rs1800872* desempenham um papel fundamental. Caracterizado por uma expressão elevada, o haplótipo GCC, por uma expressão intermediária, o ACC, e por uma expressão reduzida, o ATA (LI *et al.*, 2022). Foi evidenciado que o *rs1800872* causa alteração no sítio de ligação do PARP-1, com o alelo "A" ("T" na *forward strand*) promovendo maior afinidade, e o alelo "C"("G" na *forward strand*) menor afinidade, sendo que PARP-1 possui função regulatória negativa do IL-10, porém isso foi evidenciado no contexto de sinais derivados de células apoptóticas (CHUNG; LIU; ZHANG; MA, 2007).

Postula-se aqui então que razão pela qual RIZVI *et al.*, (2022) identificaram um possível papel protetor do genótipo “CC” em sua população foi devido a maior de produção de IL-10. Essa maior produção de IL-10 poderia permitir um maior controle da inflamação evitando e uma reação inflamatória exagerada tardia. Por outro lado, o estudo por ABBOOD,

ANVARI e FATEH (2023) observaram que o genótipo “GT” aumenta a predisposição a evolução a óbito pela variante Delta e Alfa, enquanto o genótipo “TT” aumentou a predisposição ao óbito nas variantes Alfa e Omicron BA.5. É possível então que neste caso haja uma menor produção de IL-10, dificultando então o controle da inflamação. Estas hipóteses levam em conta apenas o papel cis-regulador da *rs1800872*.

A revisão bibliográfica apontou o *rs3819025* (G>A), variação intrônica, como alvo de interesse para nosso estudo. O estudo brasileiro envolveu 20 amostras pulmonares post-mortem resultantes do SARS-CoV-2, além de 11 amostras pulmonares de indivíduos que faleceram por motivos não relacionados à covid-19. Foi observado que o “G” poderia ser um potencial intensificador da suscetibilidade à morte. Os genótipos “GA” e “GG” foram associados a um aumento na expressão tecidual de IL-17A (AZEVEDO *et al.*, 2021).

Em contrapartida, uma pesquisa envolvendo 260 pacientes provenientes de um hospital tailândes, sendo 21 com quadro grave e 239 com quadro leve, não encontrou significância estatística para o *rs3819025* (UDOMSINPRASERT *et al.*, 2023).

O estudo de AZEVEDO *et al.* (2021) mostrou que o alelo ‘G’ parece alterar a expressão da citocina, como visto pelos genótipos ‘GG’ e ‘GA’. Este estudo sugere que há uma probabilidade de que este alelo esteja envolvido na progressão para óbito por covid-19. Isso abre caminho para o estudo de SNPs intrônicos em genes de citocinas e seu papel em doenças virais, e nos lembra de não apenas estudar SNPs em regiões regulatórias, mas também explorar mecanismos de como SNPs intrônicos podem afetar a produção de citocinas.

Além das variações genéticas no hospedeiro, outros fatores desempenham um papel na patogênese de infecções virais. Estes incluem comorbidades, a composição do microbioma, coinfeções, o sexo biológico, a imunidade, a idade e a virulência viral (MORRISON; HEISE, 2024).

Além disso, diferentes variantes virais do SARS-CoV-2 possuem capacidades patogênicas distintas (NATEKAR *et al.*, 2022). O SARS-CoV-2 possui a habilidade de invadir variados tipos de células, conforme indicado por Domingo *et al.* (2020), Liu *et al.* (2021) e Pontelli *et al.* (2022). Contudo, nem todas as infecções resultam em produção viral. Por exemplo, existe a possibilidade de uma infecção não produtiva em células do sistema imunológico, levando à piroptose e a uma resposta inflamatória intensa (MATVEEVA *et al.*, 2022).

É importante que os estudos com o objetivo de identificar uma variante genética de interesse para uma doença viral colete o máximo de informações possíveis sobre os pacientes e seja transparente em relação aos dados obtidos. Por exemplo, é necessário verificar se o

grupo de pacientes classificados como leves/moderados/não-graves/não-hospitalizados realmente não evoluiu para uma forma mais grave da doença estudada, e foi internado em outro hospital.

É importante verificar se o paciente está fazendo uso de algum medicamento e, se sim, quais. No nosso caso, por exemplo, 15 pacientes leve/moderado estavam sob uso de glicocorticóides. É crucial destacar quando a coleta dos dados dos pacientes foi realizada, pois períodos distintos podem indicar uma variante diferente do vírus em circulação naquela população. Quanto mais informações disponíveis, melhor o conhecimento sobre fatores confundidores, permitindo assim a identificação da variação genética como sendo um fator de proteção ou de risco de fato na população estudada com maior confiabilidade.

Quando se trata do estudo de variações genéticas com o objetivo de identificar uma significativa para a gravidade e/ou evolução ao óbito, diversos fatores podem contribuir para as discrepâncias observadas em certos estudos. Conforme levantado por Idris *et al.* (2021) esses fatores incluem o número do grupo analisado, o procedimento empregado para a identificação genética, o número de indivíduos incluídos no estudo, e as raízes genéticas dos indivíduos analisados.

Este estudo possui limitações importantes. Primeiramente, o total de pacientes é relativamente baixo, somando apenas 122: 40 leve/moderado e 82 grave (destes, 33 evoluíram para óbito e 49 receberam alta). Esta amostra não representa completamente a população do Ceará. Ademais, a desproporção entre os grupos de leve/moderado e grave diminui nossa capacidade estatística de buscar variantes genéticas de interesse e entender seu papel na progressão da doença. Para minimizar a influência de fatores trans, é recomendado realizar uma análise de haplótipo com a quantificação específica da transcrição do alelo, conforme levantado por IDRIS *et al.* (2021). No entanto, esta abordagem não foi utilizada neste estudo.

Adicionalmente, não foi possível avaliar os níveis de citocinas para investigar um possível papel das variantes genéticas analisadas e sua influência na produção dessas citocinas. Esses níveis podem estar associados às manifestações clínicas dos pacientes. Neste estudo, também não foram analisados os haplótipos, embora a literatura já tenha evidenciado o papel dos haplótipos na covid-19 (CHEN *et al.*, 2021; MOCCI *et al.*, 2022). Demonstrando a importância de haplótipos na covid-19 para o entendimento da progressão da doença.

Apesar das limitações, este estudo é, até onde temos conhecimento, o único que investigou esses polimorfismos no contexto da covid-19 e suas consequências em uma população do Ceará. Observamos que a idade e o sexo têm papéis importantes na progressão da doença. Além disso, descobrimos que esses polimorfismos específicos de forma individual

não aumentam a suscetibilidade para a gravidade e evolução fatal da doença, o que nos permite entender melhor a covid-19 no contexto da população cearense. Embora esses polimorfismos específicos não predisponham à mortalidade, isso não exclui a influência de outros polimorfismos nos mesmos genes e seus papéis na covid-19. Identificamos também os genótipos esperados para esses polimorfismos no Ceará. Descobrimos que a HAS aumenta a suscetibilidade à gravidade da doença, e que há uma interação entre HAS e DM, o que aumenta significativamente o risco de gravidade. Além disso, há uma interação entre HAS e o alelo C do *rs1800795*, o alelo G do *rs1800872*, e o alelo A do *rs1143627*, aumentando a suscetibilidade à gravidade da doença.

8. CONCLUSÃO

No contexto da covid-19 na população incluída o sexo masculino apresenta predisposição para o desenvolvimento de formas mais graves da doença. No entanto, não é um fator de risco para a evolução ao óbito. A idade avançada predispões tanto para o desenvolvimento de formas graves da doença quanto para a evolução ao óbito. HAS é fator que aumentam a predisposição à covid-19 grave. As variantes genéticas SNP *rs1143627* (G>A) da IL-1 β , SNP *rs1800872* (T>G) da IL-10, SNP *rs3819025* (G>A) da IL-17A, SNP *rs1800629* (G>A) do TNF, e SNP da IL-6 (*rs1800795*) (C>G) de forma individual não são fatores de risco para gravidade e desfecho na população estudada.

Indivíduos com HAS que também têm DM têm dez vezes mais predisposição para desenvolver casos graves de covid-19. Além disso, aqueles com HAS que possuem o alelo C do gene *rs1800795* têm sete vezes mais chances de desenvolver covid-19 grave. Da mesma forma, a presença do alelo G do gene *rs1800872* aumenta essa probabilidade em três vezes, e o alelo A do gene *rs1143627* aumenta quase nove vezes a chance de desenvolver a doença de forma grave.

REFERÊNCIAS

A BERINGER, et al. Synergistic effect of interleukin-17 and tumour necrosis factor- α on inflammatory response in hepatocytes through interleukin-6-dependent and independent pathways. **Clinical And Experimental Immunology**, [S.L.], v. 193, n. 2, p. 221-233, 31 maio 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/cei.13140>.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. Imunidade Inata. In: ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia Celular e Molecular**. 8. ed. [S. L.]: Elsevier, 2015. Cap. 4. p. 57.

ABBOOD, Sattar Jabbar Abbood; ANVARI, Enayat; FATEH, Abolfazl. Association between interleukin-10 gene polymorphisms (rs1800871, rs1800872, and rs1800896) and severity of infection in different SARS-CoV-2 variants. **Human Genomics**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-9, 7 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40246-023-00468-6>.

A CARSWELL, E et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 72, n. 9, p. 3666-3670, set. 1975. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.72.9.3666>.

A DOLAN, Kimberly *et al.* Structure of SARS-CoV-2 M protein in lipid nanodiscs. **Elife**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-16, 20 out. 2022. ELife Sciences Publications, Ltd. <http://dx.doi.org/10.7554/elife.81702>.

A DINARELLO, C; RENFER, L; WOLFF, S M. Human leukocytic pyrogen: purification and development of a radioimmunoassay.. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 74, n. 10, p. 4624-4627, out. 1977. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.74.10.4624>.

ALIM, Louisa F; KEANE, Colm; SOUZA-FONSECA-GUIMARAES, Fernando. Molecular mechanisms of tumour necrosis factor signalling via TNF receptor 1 and TNF receptor 2 in the tumour microenvironment. **Current Opinion In Immunology**, [S.L.], v. 86, p. 102409, fev. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2023.102409>.

ALSHAMMARY, Amal F. et al. T-Cell Subsets and Interleukin-10 Levels Are Predictors of Severity and Mortality in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers In Medicine**, [S.L.], v. 9, p. 1-23, 28 abr. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2022.852749>.

ARAÚJO, João Locke Ferreira de *et al.* IFITM3, FURIN, ACE1, and TNF- α Genetic Association With COVID-19 Outcomes: systematic review and meta-analysis. **Frontiers In Genetics**, [S.L.], v. 13, p. 1-12, 1 abr. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2022.775246>.

ARNOLD, Cosby G. *et al.* Immune mechanisms associated with sex-based differences in severe COVID-19 clinical outcomes. **Biology Of Sex Differences**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-5, 4 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13293-022-00417-3>.

ASLAM, Memoona et al. Comparative Analysis and Classification of SARS-CoV-2 Spike Protein Structures in PDB. **Covid**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 452-471, 29 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/covid3040034>.

ATRETKHANY, Kamar-Sulu N. et al. Distinct modes of TNF signaling through its two receptors in health and disease. **Journal Of Leukocyte Biology**, [S.L.], v. 107, n. 6, p. 893-905, 21 fev. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1002/jlb.2mr0120-510r>.

AURON, P e et al. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 81, n. 24, p. 7907-7911, dez. 1984. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.81.24.7907>.

AVENDAÑO-FÉLIX, Mariana et al. Lack of Effects of the Genetic Polymorphisms of Interleukin-10 in Clinical Outcomes of COVID-19. **Viral Immunology**, [S.L.], v. 34, n. 8, p. 567-572, 1 out. 2021. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/vim.2021.0022>.

AZEVEDO, Marina Luise Viola *et al.* Lung Neutrophilic Recruitment and IL-8/IL-17A Tissue Expression in COVID-19. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 12, p. 1-7, 30 mar. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2021.656350>.

BAI, Chongzhi; ZHONG, Qiming; GAO, George Fu. Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. **Science China Life Sciences**, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 280-294, 10 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11427-021-1964-4>.

BALZANELLI, Mario et al. Analysis of Gene Single Nucleotide Polymorphisms in COVID-19 Disease Highlighting the Susceptibility and the Severity towards the Infection. **Diagnostics**, [S.L.], v. 12, n. 11, p. 2824, 16 nov. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics12112824>.

BEIGEL, John H.; UYEKI, Timothy M.. SARS-CoV-2/COVID-19: Clinical Characteristics, Prevention, and Treatment. In: HOWLEY, Peter M.; KNIPE, David M.; WHELAN, Sean; FREED, Eric O.; COHEN, Jeffrey L. (ed.). **Fields Virology: RNA Viruses**. 7. ed. [S. L.]: Wolters Kluwer, 2023. Cap. 22, p. 832.

BEUTLER, B. et al. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. **Nature**, [S.L.], v. 316, n. 6028, p. 552-554, ago. 1985. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/316552a0>.

BIASI, Sara de et al. Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia. **Nature Communications**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-17, 6 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-17292-4>.

BORASCHI, Diana. What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 13, p. 1-12, 6 abr. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.872155>.

BORTOLOTTI, Daria et al. TLR3 and TLR7 RNA Sensor Activation during SARS-CoV-2 Infection. **Microorganisms**, [S.L.], v. 9, n. 9, p. 1820, 26 ago. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9091820>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Brasil confirma primeiro caso do novo coronavírus**. 2020 Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/02/brasil-confirma-primeiro-caso-do-novo-coronavirus>. Acesso em: 04 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Coronavírus: Sintomas**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/sintomas>. Acesso em: 12 out. 2023.

BRASIL. **Orientações para manejo de pacientes com Covid-19**. [S. L.]: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/covid-19/publicacoes-tecnicas/recomendacoes/orientacoes-para-manejo-de-pacientes-com-covid-19/view>. Acesso em: 12 out. 2023.

CALDITO, Natalia Gonzalez. Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 14, p. 1-9, 7 jul. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1213448>.

CARLINI, Valentina *et al.* The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, covid-19 and post-covid conditions. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 14, p. 1-19, 8 jun. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1161067>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **CDC Museum COVID-19 Timeline**. 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/museum/timeline/covid19.html>. Acesso em: 04 out. 2023.

CHANG, Yuanmin; BAI, Mengru; YOU, Qinghai. Associations between Serum Interleukins (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, and IL-10) and Disease Severity of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2022, p. 1-15, 30 abr. 2022. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2022/2755246>.

CHEN, Tao *et al.* A Low-Producing Haplotype of Interleukin-6 Disrupting CTCF Binding Is Protective against Severe COVID-19. **Mbio**, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 1-18, 26 out. 2021. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mbio.01372-21>.

CHEN, Yan-Mei et al. Blood molecular markers associated with COVID-19 immunopathology and multi-organ damage. **The Embo Journal**, [S.L.], v. 39, n. 24, p. 1-23, 14 dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.15252/emboj.2020105896>.

CHOUDHURY, Abhigyan; MUKHERJEE, Suprabhat. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 92, n. 10, p. 2105-2113, 17 maio 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25987>.

CHOY, Ernest; ROSE-JOHN, Stefan. Interleukin-6 as a Multifunctional Regulator: inflammation, immune response, and fibrosis. **Journal Of Scleroderma And Related Disorders**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 1-5, jan. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.5301/jsrd.5000265>.

CHUNG, E y; LIU, J; ZHANG, Y; MA, X. Differential expression in lupus-associated IL-10 promoter single-nucleotide polymorphisms is mediated by poly(ADP-ribose) polymerase-1. **Genes & Immunity**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 577-589, 16 ago. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364420>.

CHUNG, Soo-Hyun; YE, Xiao-Qi; IWAKURA, Yoichiro. Interleukin-17 family members in health and disease. **International Immunology**, [S.L.], v. 33, n. 12, p. 723-729, 6 out. 2021. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxab075>.

CLARKE, Kristie E.N. et al. Seroprevalence of Infection-Induced SARS-CoV-2 Antibodies — United States, September 2021–February 2022. **Mmwr. Morbidity And Mortality Weekly Report**, [S.L.], v. 71, n. 17, p. 606-608, 29 abr. 2022. Centers for Disease Control MMWR Office. <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7117e3>.

CONASS. Painéis - **Situação de Saúde da População: Casos e Óbitos COVID-19**. Disponível em: <https://cieges.conass.org.br/paineis/listagem/situacao-de-saude-da-populacao/casos-e-obitos-covid-19>. Acesso em: 12 de abril de 2024.

COOMES, Eric A.; HAGHBAYAN, Hourmazd. Interleukin-6 in Covid-19: a systematic review and meta :analysis. **Reviews In Medical Virology**, [S.L.], v. 30, n. 6, p. 1-9, 26 ago. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.2141>.

DENG, Xuejun *et al.* Impacts of Inflammatory Cytokines Variants on Systemic Inflammatory Profile and COVID-19 Severity. **Journal Of Epidemiology And Global Health**, [S.L.], p. 1-16, 20 fev. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s44197-024-00204-w>.

DIAS JUNIOR, Antonio Gregorio *et al.* A Balancing Act: mda5 in antiviral immunity and autoinflammation. **Trends In Microbiology**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 75-85, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2018.08.007>.

DIAMOND, Michael S.; KANNEGANTI, Thirumala-Devi. Innate immunity: the first line of defense against sars-cov-2. **Nature Immunology**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 165-176, fev. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-021-01091-0>.

DIEP, Sydney et al. Interleukin-1 and Nuclear Factor Kappa B Signaling Promote Breast Cancer Progression and Treatment Resistance. **Cells**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1673, 18 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells11101673>.

DIETER, Cristine *et al.* Genetic polymorphisms associated with susceptibility to COVID-19 disease and severity: a systematic review and meta-analysis. **Plos One**, [S.L.], v. 17, n. 7, p. 1-23, 6 jul. 2022. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0270627>.

DINARELLO, Charles A.; MEER, Jos W.M. van Der. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. **Seminars In Immunology**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 469-484, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.008>.

DINARELLO, Charles A.. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. **Immunological Reviews**, [S.L.], v. 281, n. 1, p. 8-27, 16 dez. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imr.12621>.

DOMINGO, Pere *et al.* The four horsemen of a viral Apocalypse: the pathogenesis of sars-cov-2 infection (covid-19). **Ebiomedicine**, [S.L.], v. 58, p. 102887, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102887>.

EL-RAHEEM, Talal Abd *et al.* Tumor necrosis factor (TNF)- α - 308 G/A gene polymorphism (rs1800629) in Egyptian patients with alopecia areata and vitiligo, a laboratory and in silico analysis. **Plos One**, [S.L.], v. 15, n. 12, p. 1-17, 28 dez. 2020. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0240221>.

ELDESOUKI, Raghda E. *et al.* Association of IL-10-592 C > A /-1082 A > G and the TNF α - 308 G > A with susceptibility to COVID-19 and clinical outcomes. **Bmc Medical Genomics**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-11, 29 jan. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12920-023-01793-4>.

FABIÃO, J. *et al.* Why do men have worse COVID-19-related outcomes? A systematic review and meta-analysis with sex adjusted for age. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [S.L.], v. 55, p. 1-8, 2022. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431x2021e11711>.

FADLALLAH, Sukayna; EDDIN, Marcel s Sham; A RAHAL, Elias. IL-17A in COVID-19 Cases: a meta-analysis. **The Journal Of Infection In Developing Countries**, [S.L.], v. 15, n. 11, p. 1630-1639, 30 nov. 2021. Journal of Infection in Developing Countries. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.15285>.

FENG, Emily *et al.* Aging and Interferons: impacts on inflammation and viral disease outcomes. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 708, 23 mar. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells10030708>.

FEIRA, Mariléa Furtado; KOWALSKI, Thayne Woycinck; VIANNA, Fernanda Sales Luiz. **Associação entre variantes nos genes TNF, IL6 e IL1B e gravidade da Covid-19**. 2022. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/265201/001177193.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 08 mar. 2024.

FERICEAN, Roxana Manuela *et al.* COVID-19 Clinical Features and Outcomes in Elderly Patients during Six Pandemic Waves. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 22, p. 6803, 17 nov. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm11226803>.

FIORENTINO, D F; BOND, M W; MOSMANN, T R. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. **The Journal Of**

Experimental Medicine, [S.L.], v. 170, n. 6, p. 2081-2095, 1 dez. 1989. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.170.6.2081>.

FORBESTER, Jessica L.; HUMPHREYS, Ian R.. Genetic influences on viral-induced cytokine responses in the lung. **Mucosal Immunology**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 14-25, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/s41385-020-00355-6>.

FORCINA, Laura; FRANCESCHI, Claudio; MUSARÒ, Antonio. The hormetic and hermetic role of IL-6. **Ageing Research Reviews**, [S.L.], v. 80, p. 1-16, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2022.101697>.

FUNDACAO OSWALDO CRUZ. **Vacinação contra Covid-19 no Brasil completa um ano**. 2022. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/vacinacao-contracovid-19-no-brasil-completa-um-ano>. Acesso em: 04 out. 2023.

GALLUS, Silvano *et al.* The role of smoking in COVID-19 progression: a comprehensive meta-analysis. **European Respiratory Review**, [S.L.], v. 32, n. 167, p. 220191, 8 mar. 2023. European Respiratory Society (ERS). <http://dx.doi.org/10.1183/16000617.0191-2022>.

GE, Yun; HUANG, Man; YAO, Yong-Ming. Biology of Interleukin-17 and Its Pathophysiological Significance in Sepsis. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 11, p. 1-13, 28 jul. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.01558>.

GENG, Jiejie *et al.* CD147 antibody specifically and effectively inhibits infection and cytokine storm of SARS-CoV-2 and its variants delta, alpha, beta, and gamma. **Signal Transduction And Targeted Therapy**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-13, 25 set. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-021-00760-8>.

GIANNITRAPANI, Lydia *et al.* Outcome predictors in SARS-CoV-2 disease (COVID-19): the prominent role of il-6 levels and an il-6 gene polymorphism in a western sicilian population. **Journal Of Infection**, [S.L.], v. 85, n. 2, p. 174-211, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2022.04.043>.

GUPTA, Aakriti *et al.* Extrapulmonary manifestations of COVID-19. **Nature Medicine**, [S.L.], v. 26, n. 7, p. 1017-1032, jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>.

HALIM, Ceria; MIRZA, Audrey Fabianisa; SARI, Mutiara Indah. The Association between TNF- α , IL-6, and Vitamin D Levels and COVID-19 Severity and Mortality: a systematic review and meta-analysis. **Pathogens**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 195, 1 fev. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens11020195>.

HAN, Huan *et al.* Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1123-1130, 1 jan. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129>.

HIRANO, Toshio *et al.* Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. **Nature**, [S.L.], v. 324, n. 6092, p. 73-76, nov. 1986. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/324073a0>.

HIRANO, Toshio. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. **International Immunology**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 127-148, 18 dez. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>.

HO, Jim Q. *et al.* The immune response to COVID-19: does sex matter?. **Immunology**, [S.L.], v. 166, n. 4, p. 429-443, 3 maio 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imm.13487>.

HOLLAND, Dominic *et al.* Beyond SNP heritability: polygenicity and discoverability of phenotypes estimated with a univariate gaussian mixture model. **Plos Genetics**, [S.L.], v. 16, n. 5, p. 1-30, 19 maio 2020. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1008612>.

HOU, Wanqiu *et al.* Interleukin-6 (IL-6) and IL-17 Synergistically Promote Viral Persistence by Inhibiting Cellular Apoptosis and Cytotoxic T Cell Function. **Journal Of Virology**, [S.L.], v. 88, n. 15, p. 8479-8489, ago. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00724-14>

HU, Huating *et al.* Increased Circulating Cytokines Have a Role in COVID-19 Severity and Death With a More Pronounced Effect in Males: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 13, p. 1-15, 14 fev. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.802228>.

HUANG, Yuan *et al.* Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for covid-19. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S.L.], v. 41, n. 9, p. 1141-1149, 3 ago. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4>.

IDRIS, Abeer Babiker *et al.* First insights into the molecular basis association between promoter polymorphisms of the IL1B gene and Helicobacter pylori infection in the Sudanese population: computational approach. **Bmc Microbiology**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 1-15, 7 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-020-02072-3>.

JACKSON, Cody B. *et al.* Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 3-20, 5 out. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>.

JALKANEN, Juho *et al.* Polymorphism in interferon alpha/beta receptor contributes to glucocorticoid response and outcome of ARDS and COVID-19. **Critical Care**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 1-13, 16 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-023-04388-8>.

JIN, Rui *et al.* DNA damage contributes to age-associated differences in SARS-CoV-2 infection. **Ageing Cell**, [S.L.], v. 21, n. 12, p. 1-20, 18 out. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/acel.13729>.

KANEKO, Naoe *et al.* The role of interleukin-1 in general pathology. **Inflammation And Regeneration**, [S.L.], v. 39, n. 1, p. 1-16, 6 jun. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s41232-019-0101-5>.

KAMATANI, Yoichiro; NAKAMURA, Yusuke. Genetic variations in medical research in the past, at present and in the future. **Proceedings Of The Japan Academy, Series B**, [S.L.], v. 97, n. 6, p. 324-335, 11 jun. 2021. Japan Academy. <http://dx.doi.org/10.2183/pjab.97.018>.

KALTOUM, Ait Boujmia Oum. Mutations and polymorphisms in genes involved in the infections by covid 19: a review. **Gene Reports**, [S.L.], v. 23, p. 1-4, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101062>.

KARKI, Rajendra et al. Synergism of TNF- α and IFN- γ Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damage, and Mortality in SARS-CoV-2 Infection and Cytokine Shock Syndromes. **Cell**, [S.L.], v. 184, n. 1, p. 149-168, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.025>.

KENNEY, Adam D. *et al.* Human Genetic Determinants of Viral Diseases. **Annual Review Of Genetics**, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 241-263, 27 nov. 2017. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genet-120116-023425>.

KHAF AEI, Mostafa *et al.* Impact of IL-6 rs1800795 and IL-17A rs2275913 gene polymorphisms on the COVID-19 prognosis and susceptibility in a sample of Iranian patients. **Cytokine**, [S.L.], v. 174, p. 156445, fev. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156445>.

KHAN, Shahanshah et al. SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF- κ B pathway. **Elife**, [S.L.], v. 10, p. 1-26, 6 dez. 2021. ELife Sciences Publications, Ltd. <http://dx.doi.org/10.7554/elife.68563>.

KIRCHEIS, Ralf; PLANZ, Oliver. The Role of Toll-like Receptors (TLRs) and Their Related Signaling Pathways in Viral Infection and Inflammation. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 6701, 4 abr. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24076701>.

KLEES, Selina *et al.* AgReg-SNPdb: a database of regulatory snps for agricultural animal species. **Biology**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 1-17, 17 ago. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biology10080790>.

KULKARNI, Upasana et al. Excessive neutrophil levels in the lung underlie the age-associated increase in influenza mortality. **Mucosal Immunology**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 545-554, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/s41385-018-0115-3>.

KUO, Chin-Wei *et al.* Cigarette smoke increases susceptibility of alveolar macrophages to SARS-CoV-2 infection through inducing reactive oxygen species-upregulated angiotensin-converting enzyme 2 expression. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-13, 16 maio 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-023-34785-6>.

LAMERS, Mart M.; HAAGMANS, Bart L.. SARS-CoV-2 pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 270-284, 30 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-022-00713-0>.

LA VEGA, Ricardo de; RUÍZ-BARQUÍN, Roberto; BOROS, Szilvia; SZABO, Attila. Could attitudes toward COVID-19 in Spain render men more vulnerable than women? **Global**

Public Health, [S.L.], v. 15, n. 9, p. 1278-1291, 4 jul. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/17441692.2020.1791212>.

LI, Danyang; WU, Minghua. Pattern recognition receptors in health and diseases. **Signal Transduction And Targeted Therapy**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-24, 4 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-021-00687-0>.

LI, Lijun et al. Association of Interleukin-10 Polymorphism (rs1800896, rs1800871, and rs1800872) With Breast Cancer Risk: an updated meta-analysis based on different ethnic groups. **Frontiers In Genetics**, [S.L.], v. 13, p. 1-11, 4 fev. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2022.829283>.

LI, Xiaoxia et al. IL-17 receptor-based signaling and implications for disease. **Nature Immunology**, [S.L.], v. 20, n. 12, p. 1594-1602, 19 nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-019-0514-y>.

LIU, Jia *et al.* SARS-CoV-2 cell tropism and multiorgan infection. **Cell Discovery**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-4, 23 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41421-021-00249-2>.

LIU, Xiaohui *et al.* Association between IL-6 and severe disease and mortality in COVID-19 disease: a systematic review and meta-analysis. **Postgraduate Medical Journal**, [S.L.], v. 98, n. 1165, p. 871-879, 3 jun. 2021. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1136/postgradmedj-2021-139939>.

LIU, Yingxia et al. Genetic variants in IL1A and IL1B contribute to the susceptibility to 2009 pandemic H1N1 influenza A virus. **Bmc Immunology**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-10, 8 ago. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2172-14-37>.

LOWERY, Shea A.; SARIOL, Alan; PERLMAN, Stanley. Innate immune and inflammatory responses to SARS-CoV-2: implications for covid-19. **Cell Host & Microbe**, [S.L.], v. 29, n. 7, p. 1052-1062, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2021.05.004>

LU, Ligong et al. A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. **Trends In Immunology**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 3-5, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2020.10.012>.

MAKAREMI, Shima *et al.* The role of IL-1 family of cytokines and receptors in pathogenesis of COVID-19. **Inflammation Research**, [S.L.], v. 71, n. 7-8, p. 923-947, 25 jun. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00011-022-01596-w>.

MANGALMURTI, Nilam; HUNTER, Christopher A.. Cytokine Storms: understanding covid-19. **Immunity**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 19-25, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2020.06.017>.

MANORE, Sara G. *et al.* IL-6/JAK/STAT3 Signaling in Breast Cancer Metastasis: biology and treatment. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 12, p. 1-17, 15 mar. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2022.866014>.

MARSHALL, Jean S. et al. An introduction to immunology and immunopathology. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 5-14, set. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>.

MATVEEVA, Olga *et al.* SARS-CoV-2 infection of phagocytic immune cells and COVID-19 pathology: antibody-dependent as well as independent cell entry. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 13, p. 1-21, 1 dez. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.1050478>.

MATSUSHITA, Kunihiro *et al.* The Relationship of COVID-19 Severity with Cardiovascular Disease and Its Traditional Risk Factors: a systematic review and meta-analysis. **Global Heart**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 64, 22 set. 2020. Ubiquity Press, Ltd.. <http://dx.doi.org/10.5334/gh.814>.

MAUER, Jan; DENSON, Jesse L.; BRÜNING, Jens C.. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer. **Trends In Immunology**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 92-101, fev. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2014.12.008>.

MCCONNELL, Matthew J. et al. Liver injury in COVID-19 and IL-6 trans-signaling-induced endotheliopathy. **Journal Of Hepatology**, [S.L.], v. 75, n. 3, p. 647-658, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2021.04.050>.

MENG, Yifan et al. Sex-specific clinical characteristics and prognosis of coronavirus disease-19 infection in Wuhan, China: a retrospective study of 168 severe patients. **Plos Pathogens**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 1-13, 28 abr. 2020. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1008520>.

MENEZES, Diego et al. SARS-CoV-2 Genomic Surveillance in Brazil: a systematic review with scientometric analysis. **Viruses**, [S.L.], v. 14, n. 12, p. 2715, 5 dez. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v14122715>.

MEYEROWITZ, Eric A. *et al.* Transmission of SARS-CoV-2: a review of viral, host, and environmental factors. **Annals Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 174, n. 1, p. 69-79, jan. 2021. American College of Physicians. <http://dx.doi.org/10.7326/m20-5008>.

MILLS, Kingston H. G.. IL-17 and IL-17-producing cells in protection versus pathology. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 38-54, 5 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-022-00746-9>.

MITTAL, Sharad K; A ROCHE, Paul. Suppression of antigen presentation by IL-10. **Current Opinion In Immunology**, [S.L.], v. 34, p. 22-27, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2014.12.009>.

MIOSSEC, Pierre. Local and systemic effects of IL-17 in joint inflammation: a historical perspective from discovery to targeting. **Cellular & Molecular Immunology**, [S.L.], v. 18, n. 4, p. 860-865, 10 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-021-00644-5>.

MOCCI, Stefano *et al.* A Protective HLA Extended Haplotype Outweighs the Major COVID-19 Risk Factor Inherited From Neanderthals in the Sardinian Population. **Frontiers In**

Immunology, [S.L.], v. 13, p. 1-10, 19 abr. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.891147>.

MONIN, Leticia; GAFFEN, Sarah L.. Interleukin 17 Family Cytokines: signaling mechanisms, biological activities, and therapeutic implications. **Cold Spring Harbor Perspectives In Biology**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 1-18, 15 jun. 2017. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a028522>.

MORRISON, Thomas E.; HEISE, Mark T.. Pathogenesis of Viral Infection. In: HOWLEY, Peter M. *et al* (ed.). **Fields Virology: Fundamentals**. 7. ed. [S. L.]: Wolters Kluwer, 2024. p. 237.

MUDATSIR, Mudatsir *et al*. Predictors of COVID-19 severity: a systematic review and meta-analysis. **F1000Research**, [S.L.], v. 9, p. 1107, 6 jan. 2021. F1000 Research Ltd. <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.26186.2>.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **Clinical Spectrum of SARS-CoV-2 Infection**. 2023. Disponível em: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum/>. Acesso em: 12 out. 2023.

NAJAFI-FARD, Saeid *et al*. Evaluation of the immunomodulatory effects of interleukin-10 on peripheral blood immune cells of COVID-19 patients: implication for covid-19 therapy. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 13, p. 1-17, 6 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.984098>.

NATEKAR, Janhavi Prasad *et al*. Differential Pathogenesis of SARS-CoV-2 Variants of Concern in Human ACE2-Expressing Mice. **Viruses**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 1139, 25 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v14061139>.

NING, Qin *et al*. The mechanism underlying extrapulmonary complications of the coronavirus disease 2019 and its therapeutic implication. **Signal Transduction And Targeted Therapy**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-33, 23 fev. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-022-00907-1>.

NOGALES, Aitor; DEDIEGO, Marta L.. Host Single Nucleotide Polymorphisms Modulating Influenza A Virus Disease in Humans. **Pathogens**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 168, 30 set. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens8040168>.

OFT, Martin. Immune regulation and cytotoxic T cell activation of IL-10 agonists – Preclinical and clinical experience. **Seminars In Immunology**, [S.L.], v. 44, p. 1-10, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2019.101325>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **WHO declares Public Health Emergency of International Concern over novel coronavirus**. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/news/30-1-2020-who-declares-public-health-emergency-novel-coronavirus>. Acesso em: 04 out. 2023.

O'SHEA, John J.; GADINA, Massimo; SIEGEL, Richard M.. Cytokines and Cytokine Receptors. In: RICH, Robert R.; FLEISHER, Thomas A.; SHEARER, William T.;

SCHROEDER, Harry W.; FREW, Anthony J.; WEYAND, Cornelia M. (ed.). **Clinical Immunology Principles and Practice**. 5. ed. [S. L.]: Elsevier, 2019. Cap. 9, p. 147.

OUYANG, Wenjun; O’GARRA, Anne. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from basic science to clinical translation. **Immunity**, [S.L.], v. 50, n. 4, p. 871-891, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.020>.

PADHAN, Kartika; PARVEZ, Mohammad K; AL-DOSARI, Mohammed s. Comparative sequence analysis of SARS-CoV-2 suggests its high transmissibility and pathogenicity. **Future Virology**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 245-254, mar. 2021. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/fvl-2020-0204>.

PALACIOS, Yadira et al. COVID-19 patients with high TNF/IFN- γ levels show hallmarks of PANoptosis, an inflammatory cell death. **Microbes And Infection**, [S.L.], v. 25, n. 8, p. 1-9, nov. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2023.105179>.

PALUDAN, Søren R.; MOGENSEN, Trine H.. Innate immunological pathways in COVID-19 pathogenesis. **Science Immunology**, [S.L.], v. 7, n. 67, p. 1-20, 7 jan. 2022. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/sciimmunol.abm5505>.

PECKHAM, Hannah et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ICU admission. **Nature Communications**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-10, dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-19741-6>.

PETRUK, Ganna et al. SARS-CoV-2 spike protein binds to bacterial lipopolysaccharide and boosts proinflammatory activity. **Journal Of Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 916-932, 1 dez. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jmcb/mjaa067>.

PIJLS, Bart G *et al.* Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies. **Bmj Open**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-10, jan. 2021. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2020-044640>.

PIZZATO, Massimo *et al.* SARS-CoV-2 and the Host Cell: a tale of interactions. **Frontiers In Virology**, [S.L.], v. 1, p. 1-29, 12 jan. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fviro.2021.815388>.

PLANÈS, Rémi et al. SARS-CoV-2 Envelope (E) Protein Binds and Activates TLR2 Pathway: a novel molecular target for covid-19 interventions. **Viruses**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 999, 8 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v14050999>.

PONTELLI, Marjorie C *et al.* SARS-CoV-2 productively infects primary human immune system cells in vitro and in COVID-19 patients. **Journal Of Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 1-14, abr. 2022. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jmcb/mjac021>.

PORRO, Chiara; CIANCIULLI, Antonia; PANARO, Maria Antonietta. The Regulatory Role of IL-10 in Neurodegenerative Diseases. **Biomolecules**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1017, 9 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom10071017>.

POTERE, Nicola *et al.* Interleukin-1 and the NLRP3 inflammasome in COVID-19: pathogenetic and therapeutic implications. **Ebiomedicine**, [S.L.], v. 85, p. 1-21, nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104299>.

POUWELS, Simon D. *et al.* Smoking increases expression of the SARS-CoV-2 spike protein-binding long ACE2 isoform in bronchial epithelium. **Respiratory Research**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 1-4, 11 maio 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12931-023-02430-5>.

PREEDY, Marcus K.; WHITE, Michael R. H.; TERGAONKAR, Vinay. Cellular heterogeneity in TNF/TNFR1 signalling: live cell imaging of cell fate decisions in single cells. **Cell Death & Disease**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 1-12, 11 mar. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-024-06559-z>.

REHWINKEL, Jan; GACK, Michaela U.. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in rna sensing. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 20, n. 9, p. 537-551, 13 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0288-3>.

REN, Hongyue *et al.* Association of genetic polymorphisms with COVID-19 infection and outcomes: an updated meta-analysis based on 62 studies. **Heliyon**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-13, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23662>.

RIDKER, Paul M *et al.* Effect of interleukin-1 β inhibition with canakinumab on incident lung cancer in patients with atherosclerosis: exploratory results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **The Lancet**, [S.L.], v. 390, n. 10105, p. 1833-1842, out. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)32247-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(17)32247-x).

RIZVI, Saliha *et al.* Implication of single nucleotide polymorphisms in Interleukin-10 gene (rs1800896 and rs1800872) with severity of COVID-19. **Egyptian Journal Of Medical Human Genetics**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 1-8, 1 out. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s43042-022-00344-3>.

ROBERT, Francis; PELLETIER, Jerry. Exploring the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Translation. **Frontiers In Genetics**, [S.L.], v. 9, p. 1-11, 30 out. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2018.00507>.

ROBERT, Marie; MIOSSEC, Pierre. IL-17 in Rheumatoid Arthritis and Precision Medicine: from synovitis expression to circulating bioactive levels. **Frontiers In Medicine**, [S.L.], v. 5, p. 1-13, 14 jan. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2018.00364>.

SADEGHI, Armin *et al.* Th17 and Treg cells function in SARS-CoV2 patients compared with healthy controls. **Journal Of Cellular Physiology**, [S.L.], v. 236, n. 4, p. 2829-2839, 14 set. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.30047>.

SATĐđ, Hasan *et al.* Prognostic value of interleukin-18 and its association with other inflammatory markers and disease severity in COVID-19. **Cytokine**, [S.L.], v. 137, p. 1-5, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155302>.

SALEH, Ahmed et al. Association of TNF- α G-308 a Promoter Polymorphism with the Course and Outcome of COVID-19 Patients. **Immunological Investigations**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 546-557, 23 nov. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/08820139.2020.1851709>.

SALOMON, Benoit L.. Insights into the biology and therapeutic implications of TNF and regulatory T cells. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 487-504, 5 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41584-021-00639-6>.

SARAIVA, Margarida; VIEIRA, Paulo; O’GARRA, Anne. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. **Journal Of Experimental Medicine**, [S.L.], v. 217, n. 1, p. 1-19, 14 out. 2019. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20190418>.

SCHMITT, Clemens A. *et al.* COVID-19 and cellular senescence. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 251-263, 5 out. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-022-00785-2>.

SCHÜLKE, Stefan. Induction of Interleukin-10 Producing Dendritic Cells As a Tool to Suppress Allergen-Specific T Helper 2 Responses. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 9, p. 1-18, 19 mar. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.00455>.

SEMIZ, Sabina. COVID19 biomarkers: what did we learn from systematic reviews?. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 12, p. 1-15, 13 dez. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2022.1038908>.

SHEN, Jiaying et al. Innate and adaptive immunity to SARS-CoV-2 and predisposing factors. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 14, p. 1-16, 9 maio 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1159326>.

SLATKIN, Montgomery. Linkage disequilibrium — understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nature Reviews Genetics**, [S.L.], v. 9, n. 6, p. 477-485, jun. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2361>.

SINGH, Romil *et al.* Association of Obesity With COVID-19 Severity and Mortality: an updated systemic review, meta-analysis, and meta-regression. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 13, p. 1-18, 3 jun. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.780872>.

SOMBERG, Noah H. et al. SARS-CoV-2 Envelope Protein Forms Clustered Pentamers in Lipid Bilayers. **Biochemistry**, [S.L.], v. 61, n. 21, p. 2280-2294, 11 out. 2022. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.biochem.2c00464>.

SMAIL, Shukur Wasman *et al.* Serum IL-23, IL-10, and TNF- α predict in-hospital mortality in COVID-19 patients. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 14, p. 1-10, 22 maio 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1145840>.

SZABO, Sandor *et al.* What is really ‘Long COVID’? **Inflammopharmacology**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 551-557, 25 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10787-023-01194-0>.

TAKAHASHI, Takehiro et al. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. **Nature**, [S.L.], v. 588, n. 7837, p. 315-320, 26 ago. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2700-3>.

TAN, Mingkai et al. Immunopathological characteristics of coronavirus disease 2019 cases in Guangzhou, China. **Immunology**, [S.L.], v. 160, n. 3, p. 261-268, jul. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imm.13223>.

TANIMINE, Naoki *et al.* Identification of Aggravation-Predicting Gene Polymorphisms in Coronavirus Disease 2019 Patients Using a Candidate Gene Approach Associated With Multiple Phase Pathogenesis: a study in a Japanese city of 1 million people. **Critical Care Explorations**, [S.L.], v. 3, n. 11, p. 1-9, nov. 2021. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

TSUKAZAKI, Hiroyuki et al. The Role of the IL-23/IL-17 Pathway in the Pathogenesis of Spondyloarthritis. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 17, p. 6401, 3 set. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21176401>.

UFFELMANN, Emil et al. Genome-wide association studies. **Nature Reviews Methods Primers**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 1-21, 26 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s43586-021-00056-9>.

UFFELMANN, Emil; POSTHUMA, Danielle. Emerging Methods and Resources for Biological Interrogation of Neuropsychiatric Polygenic Signal. **Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 89, n. 1, p. 41-53, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.05.022>.

UDOMSINPRASERT, Wanvisa *et al.* Host genetic polymorphisms involved in long-term symptoms of COVID-19. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 1-16, 31 jul. 2023. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2023.2239952>.

ULHAQ, Zulvikar Syambani; SORAYA, Gita Vita. Anti-IL-6 receptor antibody treatment for severe COVID-19 and the potential implication of IL-6 gene polymorphisms in novel coronavirus pneumonia. **Medicina Clínica**, [S.L.], v. 155, n. 12, p. 548-556, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2020.07.002>.

VALLEJOS-VIDAL, Eva *et al.* Single-Nucleotide Polymorphisms (SNP) Mining and Their Effect on the Tridimensional Protein Structure Prediction in a Set of Immunity-Related Expressed Sequence Tags (EST) in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Frontiers In Genetics**, [S.L.], v. 10, p. 1-18, 27 fev. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2019.01406>.

VAN LOO, Geert; BERTRAND, Mathieu J. M.. Death by TNF: a road to inflammation. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 289-303, 15 nov. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-022-00792-3>.

VANDERVAART, Jacob P. *et al.* Serodominant SARS-CoV-2 Nucleocapsid Peptides Map to Unstructured Protein Regions. **Microbiology Spectrum**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 1-16, 15 jun. 2023. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.00324-23>.

VILLAR-FINCHEIRA, Paulina *et al.* Role of Interleukin-6 in Vascular Health and Disease. **Frontiers In Molecular Biosciences**, [S.L.], v. 8, p. 1-11, 16 mar. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2021.641734>.

VORA, Setu M.; LIEBERMAN, Judy; WU, Hao. Inflammasome activation at the crux of severe COVID-19. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 21, n. 11, p. 694-703, 9 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-021-00588-x>.

VELAVAN, Thirumalaisamy P. *et al.* Host genetic factors determining COVID-19 susceptibility and severity. **Ebiomedicine**, [S.L.], v. 72, p. 103629, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103629>.

VELAZQUEZ-SALINAS, Lauro *et al.* The Role of Interleukin 6 During Viral Infections. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 10, p. 1-6, 10 maio 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.01057>.

WANG, Yan *et al.* Modular characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein domain functions in nucleocapsid-like assembly. **Molecular Biomedicine**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-14, 22 maio 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s43556-023-00129-z>.

WANG, XI *et al.* Autoantibodies against type I interferons in COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. **International Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 130, p. 147-152, maio 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2023.03.011>.

WATANABE, Kyoko *et al.* A global overview of pleiotropy and genetic architecture in complex traits. **Nature Genetics**, [S.L.], v. 51, n. 9, p. 1339-1348, 19 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41588-019-0481-0>.

WHITMORE, Mark M. *et al.* Negative Regulation of TLR-Signaling Pathways by Activating Transcription Factor-3. **The Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 179, n. 6, p. 3622-3630, 15 set. 2007. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.6.3622>.

WOLF, Jonas Michel *et al.* Molecular evolution of SARS-CoV-2 from December 2019 to August 2022. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 95, n. 1, p. 1-10, 9 dez. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.28366>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Coronavirus disease (COVID-19): **How is it transmitted?**. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>. Acesso em: 31 out. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it.** Disponível em: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it). Acesso em: 04 out. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Director-General's Opening Remarks at the Media Briefing -5 May 2023.** 2023. Disponível em: <https://www.who.int/director->

general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing---5-may-2023. Acesso em : 4 out. 2023.

WU, Dandan; YANG, Xuexian O.. TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: an emerging target of jak2 inhibitor fedratinib. *Journal Of Microbiology, Immunology And Infection*, [S.L.], v. 53, n. 3, p. 368-370, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.005>.

WRAPP, Daniel et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, [S.L.], v. 367, n. 6483, p. 1260-1263, 13 mar. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb2507>.

WRITING COMMITTEE FOR THE REMAP-CAP INVESTIGATORS. Effect of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor and Angiotensin Receptor Blocker Initiation on Organ Support-Free Days in Patients Hospitalized With COVID-19. *Jama*, [S.L.], v. 329, n. 14, p. 1183-1196, 11 abr. 2023. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2023.4480>.

XIA, Bingqing et al. SARS-CoV-2 envelope protein causes acute respiratory distress syndrome (ARDS)-like pathological damages and constitutes an antiviral target. *Cell Research*, [S.L.], v. 31, n. 8, p. 847-860, 10 jun. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41422-021-00519-4>.

XIE, Meimei et al. Correlations of IL-17 and NF- κ B gene polymorphisms with susceptibility and prognosis in acute respiratory distress syndrome in a chinese population. *Bioscience Reports*, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 1-9, fev. 2019. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/bsr20181987>.

YAMADA, Taisho; TAKAOKA, Akinori. Innate immune recognition against SARS-CoV-2. *Inflammation And Regeneration*, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 1-14, 26 jan. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s41232-023-00259-5>.

YANG, Duo-Meng et al. Differential roles of RIG-I like receptors in SARS-CoV-2 infection. *Military Medical Research*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-3, 7 set. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40779-021-00340-5>.

YANG, Lan *et al.* The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Signal Transduction And Targeted Therapy*, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-20, 7 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-021-00679-0>.

YANG, Jing *et al.* Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *International Journal Of Infectious Diseases*, [S.L.], v. 94, p. 91-95, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.017>.

YANG, Rui et al. Refinement of SARS-CoV-2 envelope protein structure in a native-like environment by molecular dynamics simulations. *Frontiers In Molecular Biosciences*, [S.L.], v. 9, p. 1-15, 10 out. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2022.1027223>.

YESSENBAYEVA, Assiya *et al.* Biomarkers of immunothrombosis and polymorphisms of IL2, IL6, and IL10 genes as predictors of the severity of COVID-19 in a Kazakh population. **Plos One**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 1-9, 30 jun. 2023. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0288139>.

YONG, Shin Jie. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. **Infectious Diseases**, [S.L.], v. 53, n. 10, p. 737-754, 22 maio 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/23744235.2021.1924397>.

YU, Lili *et al.* Obesity and COVID-19: mechanistic insights from adipose tissue. **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 107, n. 7, p. 1799-1811, 9 mar. 2022. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/clinem/dgac137>.

ZAWAWI, Zarina Mohd *et al.* Prospective Roles of Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) in COVID-19: prognosis, therapeutic and management. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 6142, 24 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24076142>.

ZENOBIA, Camille; HAJISHENGALLIS, George. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. **Periodontology 2000**, [S.L.], v. 69, n. 1, p. 142-159, 7 ago. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/prd.12083>.

ZHANG, Guoliang *et al.* Allele-Specific Induction of IL-1 β Expression by C/EBP β and PU.1 Contributes to Increased Tuberculosis Susceptibility. **Plos Pathogens**, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 1-15, 16 out. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004426>.

ZHANG, Shuo *et al.* Are Older People Really More Susceptible to SARS-CoV-2? **Aging And Disease**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 1336, 2022. Aging and Disease. <http://dx.doi.org/10.14336/ad.2022.0130>.

ZHANG, Zhengrong *et al.* SARS-CoV-2 spike protein dictates syncytium-mediated lymphocyte elimination. **Cell Death & Differentiation**, [S.L.], v. 28, n. 9, p. 2765-2777, 20 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41418-021-00782-3>.

ZHENG, Min *et al.* TLR2 senses the SARS-CoV-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines. **Nature Immunology**, [S.L.], v. 22, n. 7, p. 829-838, 7 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-021-00937-x>.

ZHENG, Zhaohai *et al.* Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: a systematic literature review and meta-analysis. **Journal Of Infection**, [S.L.], v. 81, n. 2, p. 16-25, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.021>.

ZHOU, Peng *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, [S.L.], v. 579, n. 7798, p. 270-273, 3 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.

ZHU, Na *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 382, n. 8, p. 727-733, 20 fev. 2020. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa2001017>.

ZHU, Zhoujie *et al.* Therapy Targets SARS-CoV-2 Infection-Induced Cell Death. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 13, p. 1-10, 17 maio 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.870216>.

ZOU, Xin *et al.* Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. **Frontiers Of Medicine**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 185-192, 12 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0>.

ZUO, Wenting *et al.* The persistence of SARS-CoV-2 in tissues and its association with long COVID symptoms: a cross-sectional cohort study in china. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], p. 1-10, abr. 2024. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(24\)00171-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(24)00171-3).

ANEXO A – 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 / PROPEQ-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)3368-8344 **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 resuspensas 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, Biorpur 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
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-275
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3366-8344 E-mail: comape@ufc.br

Continuação do Parecer: 4.346.280

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 próinflamatórias 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 desmaio 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: comepe@ufc.br

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	PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1579446.pdf	14/09/2020 09:26:58		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.pdf	14/09/2020 09:23:56	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_covid.pdf	14/09/2020 09:23:07	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochura.pdf	14/09/2020 09:22:33	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Folha de Rosto	rosto.pdf	05/08/2020 07:45:10	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DACT.pdf	05/08/2020 07:43:18	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	participantes.pdf	05/08/2020 07:34:01	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Outros	questionario_covid.pdf	10/07/2020 16:54:57	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Outros	carta_propesq.pdf	10/07/2020 16:54:38	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Orçamento	orcamento_covid.pdf	10/07/2020 16:52:24	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_covid.pdf	10/07/2020 16:51:49	JULIANA NAVARRO UEDA YAOCHITE	Aceito

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 B – 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:

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:

ANEXO C – ARTIGO CIENTÍFICO

ARTIGO SUBMETIDO

Individuals with COVID-19 have been developing a “cytokine storm,” where cytokines are excessively produced and released, leading to systemic inflammation that can cause various complications and even lead to death. It is recognized that genetic variations have been playing a role in viral pathogenesis, including in COVID-19. Here we aimed to identify genotypes/alleles of polymorphisms in the genes of cytokines rs1800872, rs1800795, rs1143627, rs3819025, and rs1800629 that could be considered as risk factors for death progression in COVID-19. The study has included 122 unvaccinated patients from the state of Ceará, with 40 having mild/moderate cases and 82 having severe cases (33 progressed to death and 49 were discharged). Genotyping was performed by real-time PCR. Our results have shown that male sex predisposes to disease severity but does not predispose to death progression. Age has been predisposing both to disease progression and death progression. None of the studied polymorphisms, either genotype or allele, was evidenced as a risk factor for death progression. In conclusion, these polymorphisms are not considered risk factors for severe disease and death progression in our population. However, age and sex are relevant to understanding how Ceará has been contributing to the mortality rate in Brazil.

Keywords: COVID-19, immune response, cytokines, single nucleotide polymorphisms