



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA

**O POLIMORFISMO rs187238 NO GENE DA INTERLEUCINA-18 ESTÁ
ASSOCIADO A ALTERAÇÕES NAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDADE EM
PACIENTES AMBULATORIAIS COM COVID-19**

FORTALEZA

2024

GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA

O POLIMORFISMO rs187238 NO GENE DA INTERLEUCINA-18 ESTÁ ASSOCIADO A
ALTERAÇÕES NAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDADE EM PACIENTES
AMBULATORIAIS COM COVID-19

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, visando obter o grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia. Linha de pesquisa: Farmácia Clínica e Vigilância Sanitária.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz

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)

- V667p Viana, Glautemberg de Almeida.
O polimorfismo rs187238 no gene da interleucina-18 está associado a alterações nas lipoproteínas de alta densidade em pacientes ambulatoriais com Covid-19 / Glautemberg de Almeida Viana. – 2024.
111 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.
Coorientação: Prof. Dr. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.
1. SARS-CoV-2. 2. Tempestade de citocinas. 3. Inflamação. 4. Interleucina-18. 5. Lipoproteína de alta densidade. I. Título.

CDD 615

GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA

O POLIMORFISMO rs187238 NO GENE DA INTERLEUCINA-18 ESTÁ ASSOCIADO A
ALTERAÇÕES NAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDADE EM PACIENTES
AMBULATORIAIS COM COVID-19

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, visando obter o grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia. Linha de pesquisa: Farmácia Clínica e Vigilância Sanitária.

Aprovada em: 07/05/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio (Orientador)
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Renata de Sousa Alves
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Jamile Magalhães Ferreira
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ramon Róseo Paula Pessoa Bezerra de Menezes
Universidade Federal do Ceará

A DEUS

Aos meus pais Antônio Nedilson e Margarida

Aos meus Avós José Batista e Joana

- Ambos *in memoriam*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e resiliência.

Aos meus pais, Antônio Nedilson e Margarida de Almeida (ambos *in memoriam*). Mas até quando existiram em minha vida nunca deixaram de investir na educação dos filhos e serem exemplos de amor, luta e superação.

Aos meus avós José Batista e Joana Rodrigues (ambos *in memoriam*), por terem me acolhido após a partida prematura de meus pais e por terem dado continuidade na educação e serem exemplos de tudo que hoje sou como pessoa.

Aos meus queridos irmãos, Guttemberg, Janaína e Jacqueline, pela amizade, confiança e incentivo.

À minha tia/mãe Vilanir pelo amor, carinho, acolhimento e principalmente pela minha educação e por acreditar em mim em todas as fases de minha vida

Aos meus filhos, Marcus Vinícius e Maria Valentina, por dividir nosso precioso tempo e me proporcionar o incondicional amor da paternidade que sempre com um carisma inigualável torna meus dias melhores de serem vividos.

À minha digníssima esposa, Luciana, obrigado por seu amor incondicional, pela sua compreensão e por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis, sobretudo, por ser uma presença constante em minha vida e poder contar com você em todas as circunstâncias.

Ao meu sogro e minha sogra por estarem sempre presente nos momentos importantes da minha família, celebrando as conquistas e apoiando nas dificuldades.

Ao prof. Dr. Tiago Lima Sampaio, por ter sido além de ser um excelente professor e orientador, foi um amigo, um irmão e verdadeiro mentor. Sou eternamente grato por seus ensinamentos e principalmente, pela confiança em aceitar me orientar.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz, por me incentivar, orientar e viabilizar a execução deste trabalho. Além de tudo por ter me dado a oportunidade de poder trabalhar em uma área tão nobre que é a pesquisa científica e por ser um exemplo pessoal e profissional.

Aos professores que compuseram a banca, pela disponibilidade e pelas preciosas considerações que auxiliaram na lapidação desse trabalho.

Ao médico Dr. Rui e a Enfermeira Arethusa, ambos do Programa Saúde da Família da Prefeitura de Fortaleza, que tão atenciosamente me receberam na Secretaria de Saúde de Fortaleza e contribuíram na autorização e seleção das Unidades Sentinela de Covid-19, locais utilizados para esta pesquisa.

Aos participantes desta pesquisa, por gentilmente e pacientemente contribuírem para a sua execução.

Aos amigos farmacêuticos Mateus Edson, Adriana Matos, Jânio Emanuel, Ederson Laurindo, Duaran Lopes e Bruna pela parceria e imensurável ajuda desenvolvida durante a condução dessa pesquisa.

Ao meu grande amigo farmacêutico Mac Dionys, uma pessoa a qual tenho enorme admiração, sou muito grato pela parceria, ajuda e companheirismo ao longo dessa pesquisa.

À Profa. Dra. Renata de Sousa Alves, por ter disponibilizado a infraestrutura do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Prof. Dr. Eurico Litton Pinheiro de Freitas (LACT) para a realização desse trabalho.

À Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins, por ter disponibilizado a infraestrutura do Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) para a realização desse trabalho.

A todos os funcionários e amigos do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Prof. Dr. Eurico Litton Pinheiro de Freitas, pela paciência, disponibilidade e ajuda na minha ausência no laboratório e na realização desse trabalho.

À Prefeitura de Fortaleza, por disponibilizar a infraestrutura da UAPS Anastácio Magalhães e os serviços dos seus profissionais para a realização desse trabalho.

À Fundação Cearense de Pesquisa e Cultura (FCPC) e ao Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Prof. Dr. Eurico Litton Pinheiro de Freitas (LACT) da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo financiamento dessa pesquisa e disponibilizar a infraestrutura para realização desse trabalho.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original” (Albert Einstein).

RESUMO

A Covid-19 é uma doença respiratória infecciosa caracterizada pela produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, que tem levado a distúrbios de múltiplos órgãos e sistemas, sendo as complicações cardiovasculares a principal causa de morte. A interleucina-18 (IL-18) desempenha um papel importante na imunopatogênese da Covid-19, estando associada à disfunção endotelial e instabilidade da placa aterosclerótica. Dentre os fatores que podem influenciar a produção de citocinas, destaca-se os polimorfismos genéticos, especialmente os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) são os mais comuns. Considerando os SNP relatados no gene da IL-18, o polimorfismo rs187238 impacta na substituição citosina/guanina (C/G) na região promotora do gene da IL-18. Portanto, este estudo busca avaliar a associação entre o SNP rs187238 e parâmetros do metabolismo lipídico em pacientes com Covid-19 atendidos em unidade sentinela de Fortaleza-CE. O recrutamento dos pacientes ocorreu entre fevereiro e agosto de 2021, de todos os pacientes foram coletados secreção nasal com auxílio de um *swab* nasofaríngeo e submetido ao teste RT-qPCR (Reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase quantitativa) para detecção do SARS-CoV-2. Além disso, foram coletadas amostras de soro para determinação do colesterol total (CT), suas frações e triglicerídeos (TG) por ensaio enzimático-colorimétrico, apolipoproteínas A-I (ApoA-I) e B (ApoB) por imunoturbidimetria e IL-18 por ensaio imunoenzimático (ELISA). Amostras de sangue total foram coletadas para a obtenção do DNA genômico (gDNA), que foi utilizado para a análise dos SNP rs187238 por meio da utilização de sondas TaqMan® fluorescentes (VIC - verde e FAM - azul) RT-qPCR. Dos 250 pacientes avaliados, 90 (36%) foram positivos para Covid-19 e 160 (64%) foram negativos. Entre os pacientes com Covid-19 houve uma predominância do sexo feminino ($n = 63$; 70,00%), com idade média de $40,29 \pm 14,51$ anos e índice de massa corpórea (IMC) médio de $27,89 \pm 5,81$ kg/m², apresentando distribuição similar entre os grupos. Observou-se que os pacientes com Covid-19 apresentaram uma diferença nos níveis plasmáticos do CT [183 (151-217) vs. 194 (160,5-237,5) mg/dL] e do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) [107 (77-129) vs. 51 (44-60) mg/dL] em comparação com as concentrações do grupo negativo para Covid-19. Além disso, constatou-se uma correlação negativa entre os níveis séricos de IL-18 e HDL-c em pacientes com Covid-19 ($p = 0,0028$; $r = -0,3169$), bem como uma correlação positiva com a razão ApoB/A-I, um importante marcador de risco cardiovascular ($p = 0,041$; $r = 0,217$). Foi verificado que pacientes com genótipos CC estariam associados a uma redução de HDL-c ($p = 0,029$) e ApoA-I ($p = 0,047$) quando acometidos com Covid-19. Indivíduos com alelo G e níveis de HDL-c abaixo de 40 mg/dL apresentavam níveis séricos de IL-18 mais elevados quando expostos à Covid-19. Considerando isso, pode-se concluir que a resposta inflamatória causada pelo SARS-CoV-2 em pacientes ambulatoriais com Covid-19 pode ser influenciada pelo SNP rs187238 e pelos níveis séricos de HDL-c. Futuramente outros estudos poderão explorar os mecanismos que regulam a expressão gênica e a descoberta deste trabalho configura um importante passo para uma compreensão mais profunda da fisiopatologia da doença.

Palavras-chaves: SARS-CoV-2; Tempestade de citocinas; Inflamação; Interleucina-18; Lipoproteína de alta densidade.

ABSTRACT

Covid-19 is an infectious respiratory disease characterized by the excessive production of pro-inflammatory cytokines, which has led to disorders of multiple organs and systems, with cardiovascular complications being the main cause of death. Interleukin-18 (IL-18) plays an important role in the immunopathogenesis of Covid-19, being associated with endothelial dysfunction and atherosclerotic plaque instability. Among the factors that can influence the production of cytokines, genetic polymorphisms stand out, especially single nucleotide polymorphisms (SNP) which are the most common. Considering the SNPs reported in the IL-18 gene, the rs187238 polymorphism impacts the cytosine/guanine (C/G) substitution in the promoter region of the IL-18 gene. Therefore, this study seeks to evaluate the association between the SNP rs187238 and parameters of lipid metabolism in patients with Covid-19 treated in a sentinel unit in Fortaleza-CE. Patient recruitment took place between February and August 2021, nasal secretions were collected from all patients using a nasopharyngeal swab and submitted to the RT-qPCR (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction) test to detect SARS-CoV -two. In addition, serum samples were collected to determine total cholesterol (TC), its fractions and triglycerides (TG) by enzymatic-colorimetric assay, apolipoproteins A-I (ApoA-I) and B (ApoB) by immunoturbidimetry and IL-18 by assay. immunoenzymatic (ELISA). Whole blood samples were collected to obtain genomic DNA (gDNA), which was used to analyze the rs187238 SNP using fluorescent TaqMan® probes (VIC - green and FAM - blue) RT-qPCR. Of the 250 patients evaluated, 90 (36%) were positive for Covid-19 and 160 (64%) were negative. Among patients with Covid-19, there was a predominance of females (n = 63; 70.00%), with an average age of 40.29 ± 14.51 years and an average body mass index (BMI) of 27.89 ± 5.81 kg/m², showing a similar distribution between the groups. It was observed that patients with Covid-19 showed a difference in plasma CT levels [183 (151-217) vs. 194 (160.5-237.5) mg/dL] and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) [107 (77–129) vs. 51 (44-60) mg/dL] compared to the concentrations of the Covid-19 negative group. Furthermore, a negative correlation was found between serum levels of IL-18 and HDL-c in patients with Covid-19 ($p = 0.0028$; $r = -0.3169$), as well as a positive correlation with the ratio ApoB/A-I, an important marker of cardiovascular risk ($p = 0.041$; $r = 0.217$). It was found that patients with CC genotypes would be associated with a reduction in HDL-c ($p = 0.029$) and ApoA-I ($p = 0.047$) when affected by Covid-19. Individuals with the G allele and HDL-c levels below 40 mg/dL had higher serum IL-18 levels when exposed to Covid-19. Considering this, it can be concluded that the inflammatory response caused by SARS-CoV-2 in outpatients with Covid-19 can be influenced by the rs187238 SNP and serum HDL-c levels. In the future, other studies may explore the mechanisms that regulate gene expression and the discovery of this work represents an important step towards a deeper understanding of the pathophysiology of the disease.

Keywords: SARS-CoV-2; Cytokine storm; Inflammation; Interleukin-18; High-density lipoprotein.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	-	Estrutura do SARS-CoV-2.....	20
Figura 2	-	Ilustração esquemática das etapas de infecção pelo SARS-CoV-2.....	22
Figura 3	-	Envolvimento cardiovascular na Covid-19.....	26
Figura 4	-	Cascata de sinalização da IL-18.....	29
Figura 5	-	Mecanismo de disfunção endotelial decorrente do aumento da IL-18.....	33
Figura 6	-	Sítio polimórfico rs187238 no gene da IL-18.....	35
Figura 7	-	Polimorfismo de nucleotídeo único rs187238.....	36
Figura 8	-	Ilustração da estrutura e composição das lipoproteínas.....	39
Figura 9	-	Ilustração do metabolismo das lipoproteínas.....	40
Figura 10	-	Sequência gênica do polimorfismo rs187238 da IL-18.....	54
Figura 11	-	Determinação do genótipo CC do polimorfismo rs187238 marcada com fluoróforo FAM.....	55
Figura 12	-	Determinação do genótipo GG do polimorfismo rs187238 marcada com fluoróforo VIC.....	55
Figura 13	-	Determinação heterozigose do genótipo GC do polimorfismo rs187238 marcada com fluoróforo VIC e FAM.....	55
Figura 14	-	Associação entre a IL-18 e o HDL-c em pacientes com Covid-19.....	61
Figura 15	-	Gráfico ternário do equilíbrio de Hardy-Weinberg para SNP rs187238 em pacientes sem Covid-19 (gráfico A) e com Covid-19 (gráfico B).....	62
Figura 16	-	Associação entre os níveis de HDL-c e SNP rs187238 na concentração.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação de sexo, idade, IMC e os parâmetros laboratoriais entre os grupos de pacientes sem Covid-19 e com Covid-19.....	58
Tabela 2 - Distribuição dos pacientes segundo os valores de referências dos parâmetros tradicionais do metabolismo lipídico.....	60
Tabela 3 - Correlação entre a IL-18 e os parâmetros do metabolismo lipídico...	61
Tabela 4 - Frequência alélica e genotípica do SNP rs187238 calculada pela fórmula de equilíbrio de Hardy-Weiberg.....	63
Tabela 5 - Comparação entre os parâmetros laboratoriais de ambos os grupos Covid-19 de acordo com os genótipos do polimorfismo rs187238 da IL-18.....	64
Tabela 6 - Comparação dos parâmetros laboratoriais de cada genótipo entre os grupos.....	65
Tabela 7 - Comparação dos parâmetros laboratoriais segundo a dominância do alelo polimórfico G no SNP rs187238.....	67
Tabela 8 - Comparação dos parâmetros laboratoriais segundo a recessividade do alelo G no SNP rs187238.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACAT	Colesterol aciltransferase
ALT	Alanina aminotransferase
ANG2	Angiotensina 2
AP-1	Proteína ativadora 1
Apo B	Apolipoproteína B
Apo C-II	Apolipoproteína C-II
Apo E	Apolipoproteína E
Apo A-1	Apolipoproteína A-1
AST	Aspartato aminotransferase
BHE	Barreira hematoencefálica
CD147	Cluster de diferenciação 147
CETP	Proteína trocadora de ésteres de colesterol
CK	Creatinofosfoquinase
Covid-19	Doença Coronavírus 19
CT	Colesterol total
CXCL 10	Ligante de quimiocina com motivo C-X-C 10
DAC	Doença cardiovascular
DAMP	Padrões Moleculares Associados a danos
DCC	Doença cardíaca coronária
DCV	Doenças cardiovasculares
DGAT	Enzima diacilglicerol aciltransferase
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2

DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
E	Envelope
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
EDTA-K2	Ácido etilenodiaminotetracético dipotássico
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
eNOs	Enzima óxido nítrico sintase endotelial
Ergic	Compartimento Intermediário Retículo Endoplasmático-Golgi
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FAM	2'-cloro-7'-fenil-1,4-dicloro-6-carboxi-fluoresceína
H4TF-1	Fator de transcrição da histona 4-1
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HSPG	Proteoglicanos de sulfato de heparano
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IFN	Interferons
IFN- γ	Interferon gama
IL-18	Interleucinas 18
IL-18R	Receptor de Interleucina 18
IMC	Índice de massa corpórea
IRA	Quinase 4 associada ao recetor de interleucina 1
IRAK1	Quinase 1 associada ao receptor de interleucina 1

I κ B	Inibidor de κ B
LACT	Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LLA	Leucemia linfocítica aguda
LPL	Lipoproteína lipase
M	Membrana
MERS-CoV	Síndrome respiratória do oriente médio coronavírus
MTV	Meio de transporte viral
N	Nucleocapsídio
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NLRP3	Nucleotídeos contendo o domínio 3 de pirina
NPC1L1	Proteína Niemann-Pick C1-like 1
NRP-1	Neuropilina-1
ON	Óxido nítrico
ORF1a	Quadros de leitura abertos 1a
ORF1b	Quadros de leitura abertos 1b
PAMP	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PCR	Proteína C reativa
PNE	Proteína não estrutural
pp1a	Poliproteínas 1a
pp1ab	Poliproteínas 1ab
RBD	Domínio de ligação ao receptor

RI	Resistência insulínica
RNA	Ácido Ribonucleico
RNAm	RNA mensageiro
RPM	Rotações por minuto
RPS	Receptores de fosfatidilserina
RRP	Receptores de Reconhecimento de Padrões
RT-qPCR	<i>Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
S	Proteína <i>spike</i>
S1	Subunidade 1
S2	Subunidade 2
SARS-CoV	Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus
SARS-CoV 2	Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
SNC	Sistema nervoso central
SNP	<i>Single nucleotide polymorphisms</i>
STAT3	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídeos
TIR	Receptor Toll-IL-1
TLR	Receptores Toll- <i>like</i>
TMPRSS2	Serino protease transmembrana tipo 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TRAF-6	Fator associado ao receptor de TNF

UAPS	Unidade de Atenção Primária à Saúde
VIC	6-carboxifluoresceína
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
κ	Kappa
γ	Gamma
®	Marca registrada
™	Trademark
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	Fisiopatologia da Covid-19.....	19
1.2	Comprometimento do sistema cardiovascular na Covid-19.....	24
1.3	Papel da interleucina-18 na Covid-19.....	28
1.4	IL-18 e risco cardiovascular.....	32
1.5	Polimorfismo de nucleotídeo único no gene da IL-18.....	34
1.6	Metabolismo lipídico e inflamação.....	38
1.6.1	<i>Influência da Covid-19 no metabolismo lipídico.....</i>	44
2	Justificativa.....	46
3	OBJETIVOS.....	48
3.1	Objetivo geral.....	48
3.2	Objetivo específico.....	48
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
4.1	Desenho do estudo.....	49
4.2	Estudo da população.....	49
4.3	Material biológico.....	50
4.4	Critérios para obtenção dos dados demográficos, antropométricos e laboratoriais.....	51
4.4.1	<i>Dados demográficos e antropométricos.....</i>	51
4.4.2	<i>Dados laboratoriais.....</i>	52
4.5	Análises gênica do polimorfismo rs187238 da IL-18.....	53
4.5.1	<i>Extração do DNA.....</i>	53

4.5.2	<i>Genotipagem do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18.....</i>	53
4.6	Análise estatística e genética.....	56
4.7	Considerações éticas.....	56
5	RESULTADOS.....	58
6	DISCUSSÃO.....	70
7	CONCLUSÃO.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	105
	ANEXO B – CARTA DE ANUÊNCIA DA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE FORTALEZA.....	106
	ANEXO C – ARTIGO PUBLICADO.....	107
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	108

1. INTRODUÇÃO

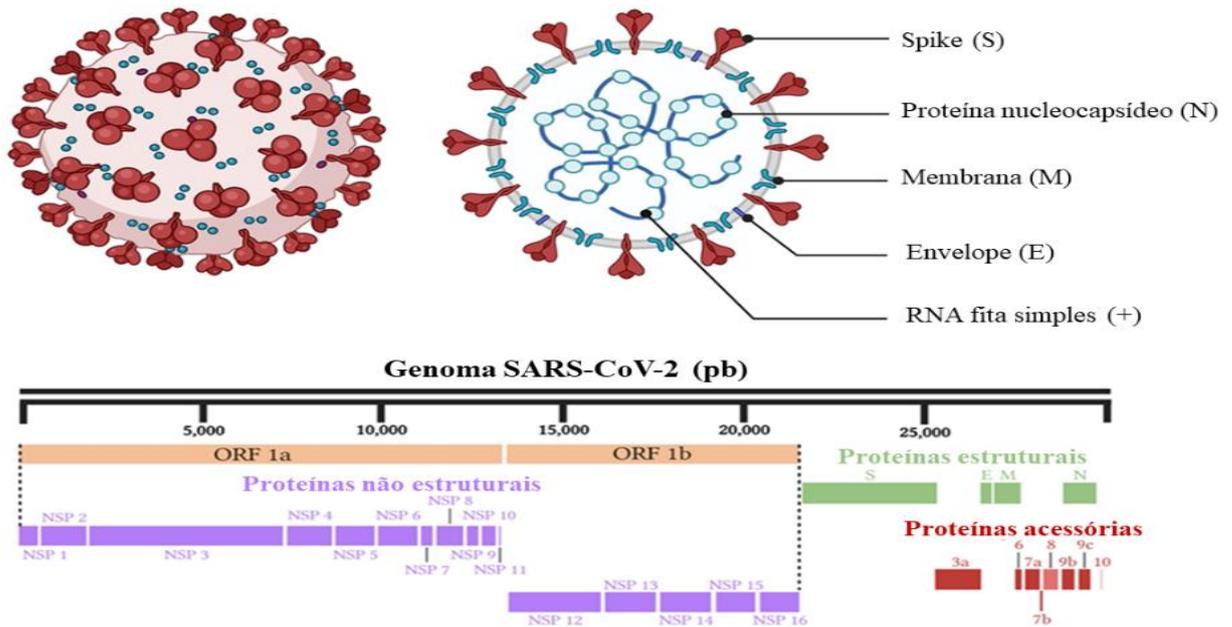
1.1 Fisiopatologia da Covid-19

A Covid-19 é uma doença respiratória aguda que emergiu como uma pandemia em dezembro de 2019 em Wuhan, na China. Causada pelo SARS-CoV-2, sigla do inglês que significa coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave, um vírus de RNA de fita simples e polaridade positiva, classificado como β -coronavírus (Zhu *et al.*, 2020).

Pertencente ao grupo dos vírus envelopados, o SARS-CoV-2 apresenta um formato esférico, embora pleomórfico, com diâmetro variando entre 60 a 220 nm. Em suas micrografias eletrônicas, diferentes elementos estruturais foram revelados, como: lipídios, proteínas e carboidratos (Zhu *et al.*, 2020; Chan *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 apresenta em sua estrutura genômica 29.903 nucleotídeos, tornando o segundo maior RNA conhecido, conforme ilustrado na Figura 1. Esse genoma consiste em duas regiões não traduzidas (UTR) nas extremidade 5' e 3', e 11 quadros de leitura aberto (ORF) que codificam 28 proteínas. O gene *orf1ab* constitui cerca de dois terços do genoma do vírus, codificando 16 proteínas não estruturais (NSPS) dentro do gene *pp1ab*, conforme mostrado em lilás. O outro terço do genoma inclui quatro genes (em verde) que codificam quatro proteínas estruturais (S, M, E, N) e oito genes acessórios (em vermelho) que codificam oito proteínas acessórias (*orf3a*, *orf6*, *orf7a*, *orf7b*, *orf8*, *orf9b*, *orf9c* e *orf10*) (Li *et al.*, 2020; Helmy *et al.*, 2020; Gotardo, 2021; Pereira *et al.*, 2021).

Figura 1 – Estrutura do SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptado de Jamison *et al.* (2022). Elementos estruturais do vírus, incluindo a proteína spike, envelope, membrana e componentes internos, como o RNA de fita simples viral e as proteínas do nucleocapsídeo (acima). Componentes do genoma SARS-CoV-2 (abaixo). NSP – Proteína não estrutural; pb – Pares de base.

Dentre as glicoproteínas estruturais, o vírus possui em seu envelope uma proteína de superfície, a glicoproteína *Spike* (Proteína S), uma típica proteína de fusão do tipo I, que estruturalmente apresenta quatro diferentes regiões: domínio transmembranar; curto domínio citoplasmático e duas subunidades, a S1 (equivalente ao domínio N-terminal) e a S2 (equivalente ao domínio C-terminal), ambas responsáveis pela fixação e entrada do vírus nas células do hospedeiro, desempenhando, dessa forma, um importante papel na fisiopatologia da doença (Letko *et al.*, 2020).

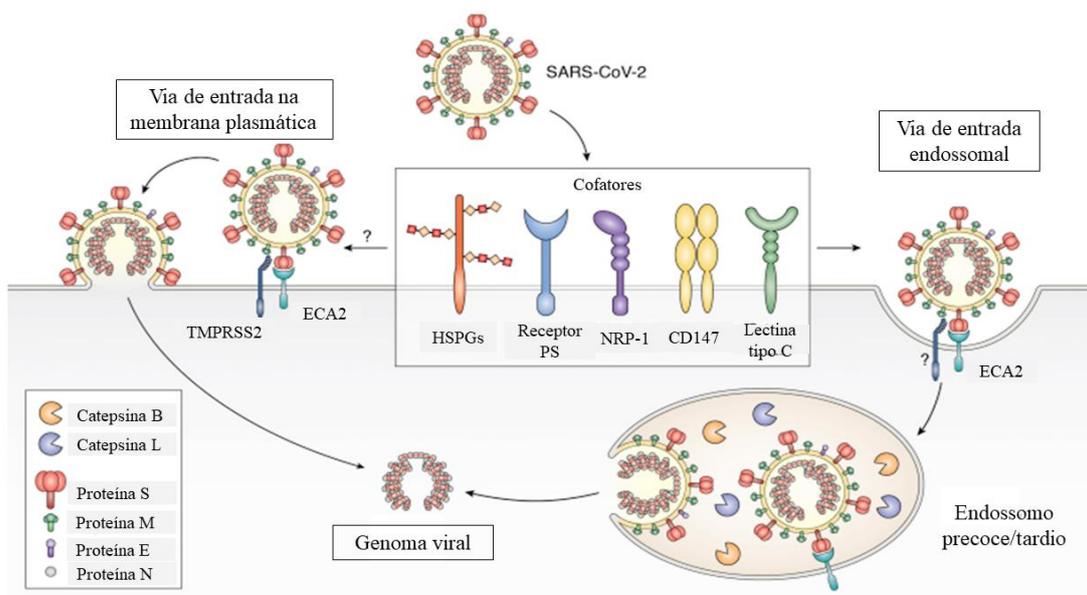
Além da Proteína S, o coronavírus possui também a glicoproteína de envelope (Proteína E), considerada a menor proteína estrutural presente no vírion e está em menor quantidade em relação as demais proteínas estruturais, apesar de ser abundantemente expressa na célula hospedeira durante a replicação. Já a proteína mais abundante no envelope é a glicoproteína de membrana (Proteína M), que desempenha um papel fundamental na montagem da partícula viral, participando diretamente na regulação do tamanho e no formato do vírus. O SARS-CoV-2 tem em sua estrutura também a glicoproteína N, molécula importante na formação do nucleocapsídeo, que é responsável pelo armazenamento do material genético e onde ocorre a síntese e tradução do RNA, favorecendo assim a replicação viral (Cui; Li; Shi,

2019; Neuman *et al.* 2011; Li, 2016; Ceraolo; Giogi, 2020; Malik, 2020; Uzuniam 2020; Yan *et al.*, 2020).

Para entrar nas células hospedeiras, o SARS-CoV-2 utiliza uma enzima transmembranar que é altamente expressa em diferentes tecidos de órgãos como pulmão, intestino, sistema nervoso central, rins e coração. A Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2) é usada como seu principal receptor de entrada, por meio da interação entre a enzima e uma região específica da proteína S, nomeada como domínio de ligação ao receptor (RBD) (Kumar *et al.*, 2020; Lopes-Pacheco *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2020). A Proteína S através de seus dois domínios funcionais, interage com o receptor ECA2 através da subunidade de superfície S1, enquanto a ancoragem e a fusão entre a membrana celular humana e o envelope viral, fica sob a responsabilidade da subunidade S2 (Li, 2016).

Inicialmente, o ciclo replicativo do SARS-CoV-2 (Figura 2) ocorre a partir da interação entre o receptor ECA2 com a subunidade S1, que irá desencadear uma reorganização estrutural da proteína S, expondo o sítio interno da subunidade S2 após clivagem mediada por proteases virais, como a furina e a Serino Protease Transmembrana tipo 2 (TMPRSS2) presente na membrana da célula hospedeira. Após clivagem, a subunidade S2 estará finalmente ativada para promover a fusão do envelope viral à membrana celular ou por meio de endocitose – via alternativa utilizada pelo vírus para entrar na célula. Dentro do endossoma, o vírus sofrerá ação de clivagem através da catepsina lisossomal B/L e passará a liberar seu material genético no citoplasma, onde passará a utilizar a maquinária celular para sua replicação (Glowacka *et al.*, 2011; Fehr; Perlman, 2020; Muralidar *et al.*, 2020).

Figura 2 – Ilustração esquemática das etapas de infecção pelo SARS-CoV-2.



Fonte: adaptado de Evans; Liu, (2021). A ligação de vírions aos cofatores de ligação representativos pode facilitar a ligação da proteína S do SARS-CoV-2 ao ACE2. Então, a clivagem subsequente pela superfície celular TMPRSS2 pode levar à fusão da membrana celular, ou a endocitose do SARS-CoV-2 permite o processamento da catepsina B/L do SARS-CoV-2 S e a fusão subsequente, ambas de maneira dependente de ACE2. Se o processamento do TMPRSS2 poderia ou não influenciar a entrada endossômica é atualmente desconhecido. TMPRSS2 – Serino Protease Transmembrana tipo 2; ECA2 – Enzima Conversora de Angiotensina 2; HSPGs - Proteoglicanos de sulfato de heparano; Receptor PS - receptores de fosfatidilserina; NRP1 - Neuropilina-1; CD147 - Cluster de diferenciação 147.

Como o material genético do SARS-CoV-2 é constituído de uma molécula de RNA de fita simples com polaridade positiva, pode imediatamente ser transcrito pela célula hospedeira, iniciando-se por dois quadros de leitura abertos (ORF1a e ORF1b), que são conservados nos genomas dos nidovírus. O grupo de vírus que inclui os coronavírus, que vão codificar as poliproteínas pp1a e pp1ab, que posteriormente serão traduzidas e clivadas em proteínas não estruturais (PNE) - proteases e enzimas do complexo replicase-transcriptase, favorecendo a síntese do RNA genômico e subgenômico viral. Este último atuará como mRNA, ou seja, como molde para tradução de proteínas estruturais e genes acessórios, que seguem para o compartimento intermediário do retículo endoplasmático-golgi (Cireg) onde, juntamente com o RNA genômico associado à proteína N, vão formar vírions maduros que serão transportado para superfície celular e liberados por exocitose (Fehr; Perlman, 2020).

A interações *Spike*/receptor ACE2 e o processamento da protease viral TMPRSS2 na proteína *Spike* não é o único mecanismo que determina a entrada do SARS-CoV-2 na célula

hospedeira. Diferentes proteínas celulares, denominadas de cofatores, como a NRP-1 (Neuropilina-1), CD147 (Cluster de diferenciação 147), PS (receptores de fosfatidilserina), HSPG (Proteoglicanos de sulfato de heparano) e Lectina tipo C, foram identificadas como importantes moduladores, capazes de aumentar a ligação e a entrada de partículas do coronavírus nas células-alvo (Cantuti-Castelvetri *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020; Clausen *et al.*, 2020; Thepaut *et al.*, 2021).

A resposta imunológica desencadeada pela invasão de um patógeno depende inicialmente do reconhecimento dos Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMP) e dos Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMP), que são liberados pelas células do hospedeiro, durante a invasão do patógeno. Estes padrões são reconhecidos pelos Receptores de Reconhecimento de Padrões (RRP), como os Receptores Toll-like (TLR), um RRP transmembranar que possui um importante papel no reconhecimento de padrões moleculares dos Coronavírus (Birra *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021). Após o reconhecimento dos Padrões moleculares, os TLR ativam as vias de sinalização para a liberação de mediadores como as citocinas e quimiocinas, responsáveis por desencadear a resposta inflamatória, alterar o calibre e a permeabilidade dos vasos sanguíneos e atrair através da quimiotaxia, as células do sistema imune inato e adaptativo (Birra *et al.*, 2020).

Os Interferons (IFN) são os primeiros mediadores químicos liberados pelas células do sistema imune inato, devido ao reconhecimento dos padrões moleculares pelos RRP, fornecendo a primeira linha de defesa. Uma vez produzidos e liberados, os IFN passam a atuar na inibição da replicação do vírus, impedindo o aumento da carga viral e maiores complicações (Sousa *et al.*, 2020). Entretanto, os coronavírus humanos apresentam alguns mecanismos de evasão ao sistema imune, como a capacidade de replicação em vesículas de dupla membrana, que dificulta o reconhecimento do Ácido ribonucleico (RNA) viral pelos receptores (Bordallo *et al.*, 2020). Também foi demonstrado que a proteína Orf3b, presente no capsídeo do SARS-CoV, inibe a fosforilação do fator regulador de IFN 3, interferindo no mecanismo de defesa antiviral (Kopecky-Bromberg *et al.*, 2007).

Com a ausência ou inibição da atuação dos IFN, o seu papel no controle da replicação viral é prejudicado. Além de outros mecanismos de evasão, a perda desse mecanismo de defesa antiviral, considerado por muitos pesquisadores como “linha de frente”, pode acarretar na indução da tempestade de citocinas, uma resposta inflamatória agressiva de

liberação descontrolada de citocinas pró-inflamatórias (Arcanjo *et al.*, 2020; Guihot *et al.*, 2020).

A Síndrome de Tempestade de Citocinas Relacionada a Covid-19 (Covid- CSS) é considerada a principal causa da inflamação patogênica na doença em seus casos graves. Nesse cenário, as citocinas pró-inflamatórias mais prevalentes são Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), Interferon gama (IFN- γ) e diversos tipos de interleucinas (IL) como a IL-1, IL-6 e IL-18. As consequências sistêmicas da cascata de citocinas têm início em um processo inflamatório local que se difunde para a circulação, levando a um quadro de hiperinflamação sistêmica que pode acarretar em complicações graves, como sepse, dano tecidual, falência de múltiplos órgãos e morte (Bordallo *et al.*, 2020; Ragab *et al.*, 2020; Zhao; Wei; Tao, 2021). O que caracteriza essa condição é uma resposta imune descontrolada, em que há uma ativação contínua de macrófagos, linfócitos e células natural *killer*, promovendo um ciclo de *feedback* positivo na liberação abundante de citocinas pró-inflamatórias, consequentemente acarretando no aumento excessivo dessas proteínas de forma sistêmica (Lin *et al.*, 2020).

A liberação exacerbada de citocinas tem levado o paciente a uma disfunção do sistema cardiovascular (coração e vasos sanguíneos), pois a hiperinflamação mediada pela elevação dessas proteínas, pode contribuir para o desenvolvimento de lesão miocárdica, disfunção endotelial e insuficiência cardíaca (Zheng *et al.*, 2020; Tay *et al.*, 2020; Moore; June, 2020).

1.2 Comprometimento do sistema cardiovascular na Covid-19

As complicações cardiovasculares ocasionadas na Covid-19 tornaram-se algumas das principais causas de morte, especialmente em indivíduos de idade superior a 65 anos, com comorbidades como diabetes, hipertensão e obesidade. Dentre as complicações cardiovasculares graves que podem acometer esses pacientes, pode-se listar: insuficiência cardíaca, miocardite, arritmia, infarto agudo do miocárdio e hipercoagulação (Quadri *et al.*, 2020).

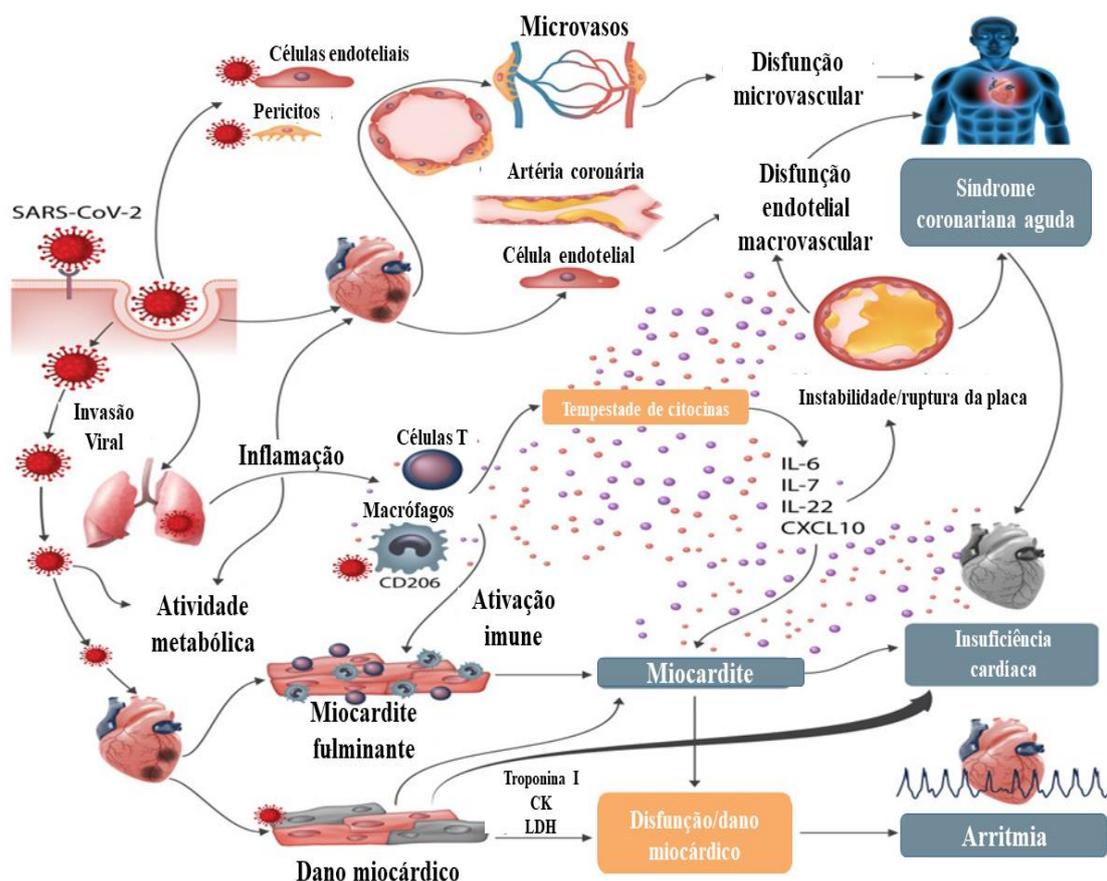
Em um estudo realizado em Wuhan, na China, com 41 pacientes internados com Covid-19, cerca de 12% dos pacientes foram diagnosticados com lesão miocárdica aguda, demonstrado com níveis elevados de troponina I (Huang *et al.*, 2020). Outro estudo, também

realizado em Wuhan, com 138 pacientes hospitalizados com Covid-19, relata, dentre as complicações apresentadas, arritmias (16,7% dos pacientes) e lesões cardíacas agudas (7,2%) (Wang *et al.*, 2020).

O comprometimento cardiovascular pode ser ocasionado diretamente pela infecção viral nas células endoteliais, pericitos e cardiomiócitos, em razão da presença do receptor ECA2 nessas células, que facilita sua entrada levando à inflamação e falência de múltiplos órgãos (Figura 3). Em particular, a infecção de células endoteliais ou pericitos pode levar a graves disfunções microvasculares e macrovasculares (Guzik *et al.*, 2020; Kwenandar *et al.*, 2020). Essa interação do SARS-CoV-2 com ECA2 impede a conversão enzimática da Angiotensina 2 (ANG2) em Angiotensina 1-7, potencializando assim o efeito biológico da ANG2 no sistema cardiovascular, dentre elas a vasoconstrição e a liberação de aldosterona e vasopressina, acarretando no aumento da pressão arterial. Além disso a ANG2 pode regular vários processos que alteram a fisiopatologia vascular, dentre elas a resposta inflamatória e o crescimento e apoptose das células vasculares, visto que esse peptídeo pode ativar células que regulam a expressão de substâncias como fatores de crescimento, citocinas e moléculas de adesão (Lemarié; Schiffrin, 2010; Wu, Lin *et al.*, 2020).

Com ativação da resposta imune pela células vasculares, é possível que células T ativadas e macrófagos possam se infiltrar no miocárdio infectado, resultando no desenvolvimento de miocardite fulminante e dano cardíaco grave. Este processo pode ser ainda mais intensificado pela tempestade de citocinas. Da mesma forma, a invasão viral poderia causar danos aos miócitos cardíacos levando diretamente à disfunção miocárdica e contribuir para o desenvolvimento de arritmia (Guzik *et al.*, 2020).

Figura 3 – Envolvimento cardiovascular na Covid-19.



Fonte: adaptado de Guzik *et al.* (2020). Envolvimento cardiovascular em Covid-19 – principais manifestações e mecanismos hipotéticos. O SARS-CoV-2 ancora-se na ACE2 transmembrana para entrar nas células hospedeiras, incluindo pneumócitos tipo 2, macrófagos, células endoteliais, pericitos e miócitos cardíacos, levando à inflamação e falência de múltiplos órgãos. Em particular, a infecção de células endoteliais ou pericitos pode levar a disfunções microvasculares e macrovasculares graves. Além disso, em conjunto com a hiper-reatividade imunitária, pode potencialmente desestabilizar as placas ateroscleróticas e explicar o desenvolvimento das síndromes coronárias agudas. A infecção do tracto respiratório, particularmente dos pneumócitos tipo 2, pelo SARS-CoV-2 manifesta-se pela progressão da inflamação sistêmica e pela ativação das células imunitárias, levando a uma “tempestade de citocinas”, que resulta em um nível elevado de citocinas como a IL -6, IL-7, IL-22 e CXCL10. Posteriormente, é possível que células T ativadas e macrófagos possam infiltrar-se no miocárdio infectado, resultando no desenvolvimento de miocardite fulminante e danos cardíacos graves. Este processo pode ser ainda mais intensificado pela tempestade de citocinas. Da mesma forma, a invasão viral pode causar danos aos miócitos cardíacos, levando diretamente à disfunção miocárdica e contribuindo para o desenvolvimento de arritmia. CK – Creatinofosfoquinase; LDH – Lactato desidrogenase; IL-6 – Interleucina 6; IL-7 – Interleucina 7; IL-22 – Interleucina 22; CXCL 10 - Ligante de quimiocina com motivo C-X-C 10.

Ademais, o comprometimento cardiovascular pode aparecer como um resultado tardio devido às complicações da infecção respiratória, como a hipoxemia, provocando danos na microvasculatura e tecidos (Kwenandar *et al.*, 2020; Wu, Lin *et al.*, 2020). No que se refere ao comprometimento respiratório, a hipóxia gerada na Covid-19 reduziria a oxigenação do miocárdio, afetando sua ação efetiva. Além disso, o aumento na demanda cardíaca por conta da

insuficiência respiratória, sobrecarregaria o miocárdio, sendo assim, uma possível causa para o comprometimento cardíaco relatado na doença (Kwenandar *et al.*, 2020).

Um terceiro possível mecanismo é a lesão cardíaca ocasionada pela resposta inflamatória sistêmica gerada na infecção da Covid-19, caracterizada pelo excesso de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-7, IL-22 e IL-18 (Bonow *et al.*, 2020). Devido à tempestade de citocinas, espécies reativas de oxigênio (ERO) são geradas e acumuladas nas células dentro da área infectada desencadeando a apoptose dos cardiomiócitos (Wu, Lin *et al.*, 2020). Tao Guo *et al.* (2020) relata que a lesão miocárdica pode estar atrelada à patogênese inflamatória observada na infecção pelo SARS-CoV-2, visto que em seu estudo os níveis plasmáticos de Troponina T, marcador de lesão cardíaca, foi estatisticamente correlacionado de forma linear com os níveis plasmáticos de proteína C reativa, marcador de processo inflamatório. Portanto, a atuação da resposta inflamatória desordenada, devido à tempestade de citocinas, pode ser um dos possíveis mecanismos de lesão aos cardiomiócitos.

Em uma análise anterior, realizada por meio de autópsia nos corações de pacientes que faleceram com SARS (Síndrome Respiratória Aguda Grave), foi identificado a presença do genoma do SARS-CoV (Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus) nos órgãos de 35% dos indivíduos, sugerindo assim que o Coronavírus é capaz de invadir o miocárdio, por meio do seu receptor ECA2, abundante nesse órgão (Oudit *et al.*, 2009).

É possível que o vírus exiba mimetismo molecular com as células cardíacas, um fenômeno de compartilhamento de características entre os antígenos virais com os antígenos de cardiomiócitos, podendo assim provocar uma ação inflamatória e necrótica no tecido. Visto que, na análise das autópsias foi evidenciada a presença de infiltrados mononucleares associados a regiões de necrose de cardiomiócitos (Oudit *et al.*, 2009), presume-se a possibilidade de dano direto nos cardiomiócitos na Covid-19 pelo SARS-CoV-2, uma vez que este e o SARS-CoV são homólogos em seu genoma (Xu *et al.*, 2020).

Em um estudo realizado com 25 pacientes recuperados da SARS-CoV, 12 anos após a infecção, foi possível observar que 68% desses pacientes apresentavam um estado de hiperlipidemia e 44% possuíam anormalidades cardiovasculares, onde o metabolismo lipídico desses pacientes estava significativamente alterado, tendo níveis de lipídios séricos e ácidos graxos livres aumentados. Desse modo, a hiperlipidemia aumenta a chance de aterosclerose, que conseqüentemente, aumentará o risco de doenças cardíacas (infarto do miocárdio) e de

acidente vascular cerebral (Wu, Q *et al.*, 2017).

1.3 Papel da interleucina-18 na Covid-19

Em resposta a infecção causada pelo SARS-CoV-2, múltiplas células como linfócitos, monócitos, neutrófilos e macrófagos interagem para induzir o sistema imune. Glicoproteínas hidrossolúveis denominadas de citocinas têm como uma de suas funções mediar essas interações (Nader *et al.*, 2023). Dentre as citocinas, a interleucina-18 (IL-18) foi um peptídeo descrito em 1989 como uma importante molécula indutora de interferon-gama (IFN γ), sendo semelhante a IL-1 β , sintetizadas como moléculas inativas (Gracie *et al.*, 2003).

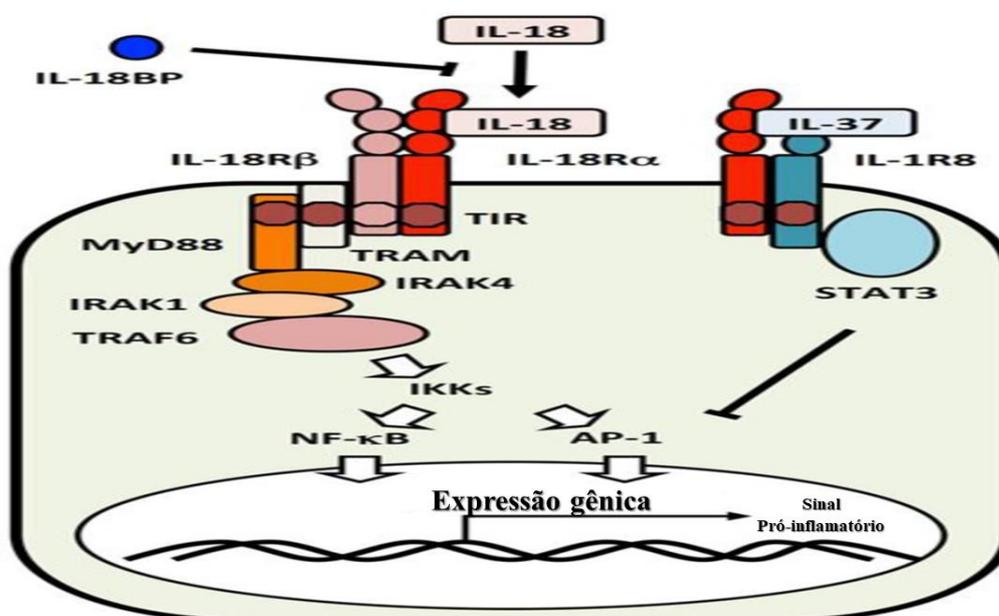
A IL-18 é conhecida como uma citocina pró-inflamatória, sintetizada por diferentes tipos de células da linhagem hematopoiética e não hematopoiética. Primeiramente, a produção de IL-18 foi identificada em células fagocíticas especializadas do sistema fagocitário mononuclear, denominado de células Kupffer, sendo macrófagos que residem no fígado. Posteriormente, outros estudos tem relatado a produção de IL-18 em células endoteliais, epiteliais e queratinócitos, mesmo em fase estacionária (Yasuda *et al.*, 2019).

A síntese da IL-18 ocorre a partir de uma molécula precursora biologicamente inativa (pró-IL-18) (24-kDa), que sofrerá clivagem pela caspase-1 (uma enzima protease de cisteína intracelular), dentro de um complexo proteico denominado inflamassoma, mais especificamente o inflamassoma NLRP3, que se tornará em uma molécula madura ativa e de baixo peso molecular (17,2 kDa) (Nakanishi *et al.*, 2001; Dinarello *et al.*, 2013). Geralmente, as citocinas são secretadas após expressão dos genes correspondentes, como os genes das citocinas do IFN- γ e IL-4, que englobam um peptídeo sinal necessário para sua liberação extracelular através do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi. No entanto, a IL-18 por se tratar de uma citocina semelhante a outros membros da superfamília IL-1, como a IL-1 β , não apresenta em seu gene um peptídeo sinal, acarretando acúmulo de IL-18 no citoplasma da célula (Dinarello *et al.*, 2013; Yasuda *et al.*, 2019).

Os efeitos da IL-18 ocorrem através da sinalização do seu receptor (IL-18R) (Figura 4), estrutura composta por uma cadeia IL-18R α e uma cadeia IL-18R β , que se ligará a IL-18 para formar um complexo trimérico (Nakanishi *et al.*, 2001; Oliveira; Figueredo, 2010). Após trimerização (IL-18/IL-18R α /IL-18R β), a IL-18 se liga ao receptor ligante IL-18R α , induzindo

o recrutamento de IL-18R β que se tornará um complexo de alta afinidade e que sinaliza através do domínio do receptor Toll-IL-1 (TIR). Em decorrência disso, o domínio de sinalização TIR recruta a proteína adaptadora MyD88, que juntamente com a quinase 1 ligada ao receptor de interleucina 1 (IRAK1) e quinase 4 associada ao receptor de interleucina 1 (IRAK4) formará um complexo multiproteico, denominado de Myddosome. Além disso, após se ligar ao TRAF-6 (TNF Receptor Associated Factor 6), o inibidor de κ B (I κ B) será degradado, ativando o processo pró-inflamatório e a via NF- κ B (Hoshino *et al.*, 1999; Yasuda *et al.*, 2019).

Figura 4 – Cascata de sinalização da IL-18.



Fonte: adaptado de Yasuda *et al.* (2019). Transdução de sinal IL-18. Quando a IL-18 se liga à IL-18R α (seta preta), a IL-18R β liga-se ao complexo. A sinalização de IL-18 ativa os fatores de transcrição NF- κ B e AP-1 por meio de moléculas de transdução de sinal, incluindo MyD88, IRAKs e TRAF6 (setas brancas). IL-18BP compete na ligação de IL-18 com IL-18R α . Quando a IL-18R α se liga à IL-37, impede a ligação à IL-18R β , que se liga à IL-1R8 para enviar um sinal inibitório via STAT3. IL-18 – Interleucina 18; IL-18BP – Proteína extracelular de ligação à interleucina-18; IL-18R α – cadeia α do receptor de interleucina-18; IL-18R β - cadeia β do receptor de interleucina-18; MyD88 – fator de diferenciação mielóide 88; TRAM – ; IRAK1 – Quinase 1 associada ao receptor de interleucina 1; IRAK4 – Quinase 4 associada ao receptor de interleucina 1; TRAF6 – Fator 6 associado ao receptor de TNF; IKKs - ; NF- κ B - Fator nuclear kappa B; AP-1 – Proteína ativadora 1; IL-37 – Interleucina 37; STAT3 – Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3.

A atividade pró-inflamatória da IL-18 é suprimida constitutivamente pela proteína extracelular de ligação à interleucina 18 (IL-18BP). Trata-se de uma proteína solúvel endógena, descoberta em urina humana e constituída de 193 aminoácidos. A IL-18BP tem apresentado alta afinidade para a IL-18, inibindo assim a ligação de IL-18 a IL-18R α . Quando o IL-18R α se

liga ao IL-37 (um outro fator endógeno), impedirá a ligação ao IL-18R β , que se ligará no IL-1R8 para enviar um sinal inibitório via STAT3 (Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3), diminuindo ativação do complexo proteico NF- κ B e da proteína ativadora 1 (AP-1), que irá regular a produção de IFN γ (Ushio *et al.*, 1996; Dinarello *et al.*, 2013; Kaplanski, 2018; Jia *et al.*, 2018).

Além de seu papel fisiológico, a IL-18 tem função primordial na defesa do hospedeiro contra agentes patogênicos, aumentando fortemente a indução de IFN- γ , óxido nítrico (NO) e espécie reativa de oxigênio (ERO) em fagócitos, elementos importantes que participam na modulação da resposta imune inata e adaptativa. Um desequilíbrio nesse sistema, tem levado o indivíduo a desenvolver sérios distúrbios autoimunes e inflamatórios, sugerindo que a presença da IL-18, pode ser um grande fator para severidade de muitas patologias (Yasuda *et al.*, 2019).

A IL-18 desempenha um papel efetor e regulador em uma variedade de respostas inflamatórias. Recentemente, tem demonstrado efeitos específicos em doenças pancreáticas, incluindo pancreatite aguda e crônica, bem como câncer pancreático (Li *et al.*, 2019). Na tireoidite de Hashimoto, a causa mais comum de hipotireoidismo autoimune, a IL-18 tem sido apontada como um importante mediador inflamatório da doença (Huang *et al.*, 2010). Níveis elevados de IL-18 também tem se tornado um importante preditor do envolvimento renal no lúpus eritematoso sistêmico (LES) (Wu, CHAO-YI *et al.*, 2016; Yasuda *et al.*, 2019). Além disso, aumenta a produção de beta-amilóide associada à doença de Alzheimer em células neuronais humanas e está amplamente envolvida na resposta neuroinflamatória após hemorragia intracerebral (Sutinen *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2019).

Muitas vezes, a IL-18 desempenha seu papel interagindo com outras citocinas para regular a resposta imunológica. Em combinação com a interleucina 12 (IL-12), a IL-18 induz imunidade mediada por células, como células T CD4, T CD8 e células NK para induzir a produção de IFN γ , que desempenha um papel importante na ativação de macrófagos e outros tipos celulares após infecção por estruturas imunogênicas de microrganismos (Wawrocki *et al.*, 2016; Johnson *et al.*, 2023).

A IL-18 tem desempenhado um papel central na depuração de vírus (Yasuda *et al.*, 2019). Nas infecções virais como influenza e dengue, tem estado diretamente associada ao agravamento e mortalidade de diversos pacientes (Satis *et al.*, 2021). Na Covid-19, a IL-18 foi

relatada como um importante preditor de gravidade da doença (Satis *et al.*, 2021). Em um estudo realizado por Coutinho *et al.* (2022), diferentes biomarcadores séricos inflamatórios foram analisados em pacientes não vacinados e internados na unidade de terapia intensiva (UTI) de um hospital de referência para Covid-19 em Fortaleza-CE. Ao avaliar os resultados, os autores observaram que os níveis séricos de IL-18 estariam mais elevados em indivíduos que evoluíram para óbito.

Estudos têm demonstrado que pacientes com Covid-19 expressam diferentes tipos de inflamassomas. Estes são complexos proteicos citosólicos importantes na resposta imune inata contra padrões moleculares associados a patógenos (PAMP). Quando ocorre a ativação dos inflamassomas, algumas citocinas como a IL-18, são ativadas e liberadas no meio extracelular, levando à morte da célula por lise (piroptose) e a um estado inflamatório. No entanto, quando esse processo está superativado, consequentemente ocorrerá um aumento na inflamação e desencadeará um agravamento da doença (Rodrigues *et al.*, 2020; Cheon; Koo, 2021; Coutinho *et al.*, 2022).

De todos os inflamassomas, o inflamassoma do domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos contendo o domínio 3 de pirina (NLRP3) é um dos componentes da imunidade inata mais importantes, facilitando a inflamação ao produzir diversas citocinas e é amplamente expresso em pacientes com Covid-19 (Zhao *et al.*, 2021). A ativação do inflamassoma NLRP3 durante a Covid-19, tem levado a produção de citocina como IL-1 β e IL-18, facilitando a formação de tempestade de citocinas – resposta imunológica excessiva (Chen *et al.*, 2020; Hu, B *et al.*, 2021). Em pacientes que tem apresentado sintomas respiratórios, as citocinas pró-inflamatórias ativam ainda mais as plaquetas, células endoteliais e neutrófilos. No entanto, níveis elevados de neutrófilos tem resultado na produção crescente de armadilhas extracelulares de netrófilos (NET), causando formação de coágulos, disfunção endotelial e danos alveolares (Oyenebråten *et al.*, 2015; Frantzeskaki *et al.*, 2017; El Haouari, 2019; Boeltz *et al.*, 2019; Zhao 2021).

Alguns pacientes com Covid-19, tem apresentado alterações neurológicas importantes. Estudos tem demonstrado que a IL-18 tem a capacidade de cruzar a barreira hematoencefálica (BHE) para entrar no sistema nervoso central (SNC) e induzir a penetração de glóbulos brancos periféricos e monócitos (Mohammadi *et al.*, 2020; Shin; Cho, 2023). Quando esse processo evolui para uma inflamação sistêmica induzida pelo inflamassoma

NLRP3, pode levar à formação de fibrilas patogênicas, disfunção mitocondrial e apoptose celular, resultando na perda progressiva da estrutura ou funcionamento dos neurônios (neurodegeneração) (Heneka *et al.*, 2013; Yan *et al.*, 2020).

Um envolvimento chave do inflamassoma NLRP3 foi relatado em uma ampla gama de doenças cardiovasculares (DCV) em pacientes com Covid-19. Entretanto, citocinas como a IL-18 ao ser induzida pelo inflamassoma NLRP3 pode promover a disfunção endotelial, miocardite e danos aos cardiomiócitos. Alguns estudos acreditam que a barreira disfuncional da mucosa intestinal pode facilitar o vazamento passivo de produtos microbianos na circulação, resultando na ativação do inflamassoma NLRP3 e conseqüentemente induzindo a produção de IL-18, contribuindo para diferentes manifestações cardiovasculares (Iqubal *et al.*, 2020; Hoel *et al.*, 2021; Farrag *et al.*, 2021; Toldo *et al.*, 2022).

1.4 IL-18 e risco cardiovascular

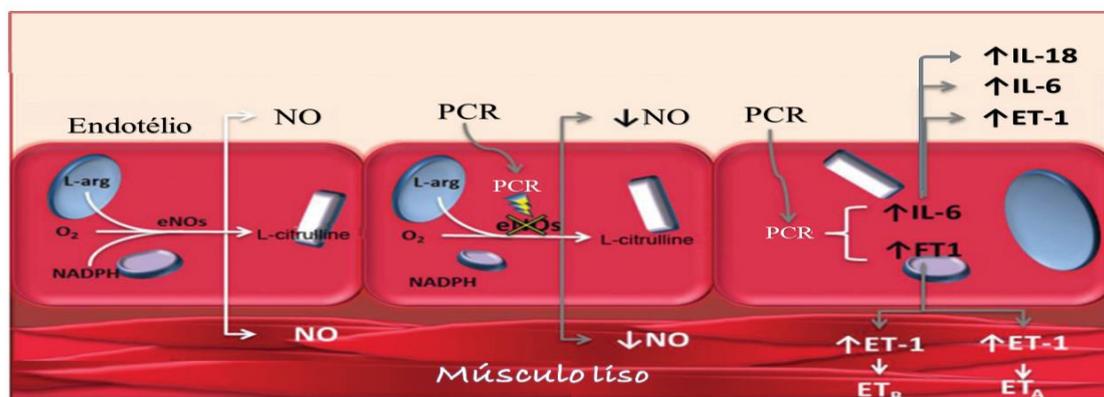
Os processos inflamatórios desempenham um papel importante no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, participando da fisiopatologia de diversos processos como na aterosclerose, em que os mecanismos imunológicos juntamente com os riscos metabólicos contribuem para o desenvolvimento desse processo (Kaptoge *et al.*, 2014). Portanto, estudos recentes sugerem que os níveis de citocinas pró-inflamatórias circulantes podem estar correlacionadas com o risco cardiovascular (Jefferis *et al.*, 2011).

A IL-18 é uma citocina pró-inflamatória e imunomoduladora que desempenha papel significativo na cascata inflamatória (Gracie; Robertson; McInnes, 2003). Expressa principalmente por macrófagos, a IL-18 atua em seus receptores localizados na membrana de células endoteliais, linfócitos e células musculares lisas, além disso desempenha um papel patogênico nas doenças cardiovasculares induzindo a disfunção endotelial, instabilidade de placas ateroscleróticas e a produção de outras citocinas inflamatórias, como o IFN- γ (Sadeghi *et al.*, 2018). A indução da produção do IFN- γ pode ser um dos possíveis mecanismos para os efeitos pró-aterogênicos da IL-18, visto que o IFN- γ potencializa o processo inflamatório da aterosclerose e inibe a formação da capa fibrosa, resultando em placas propensas à ruptura (Leon; Zuckerman, 2005).

Como citocina Th1, a IL-18 induz a produção e liberação de interleucina-6 (IL-6)

por macrófagos e linfócitos (Pedrotti *et al.*, 2016; Hoseini *et al.*, 2018). A IL-6 é uma citocina mediadora central da resposta inflamatória de fase aguda e atua elevando os níveis plasmáticos da proteína C reativa (PCR) (Volp *et al.*, 2008). A PCR é uma proteína sintetizada nos hepatócitos que, em concentrações elevadas pode agir estimulando a produção de endotelina (ET-1) e desregulando a atividade da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOs), processo que reduz a liberação de óxido nítrico (NO) no endotélio (Figura 5) (Tonet *et al.*, 2008; Teixeira *et al.*, 2014; Ridker *et al.*, 2000). O NO age sobre a parede dos vasos sanguíneo e exerce potente efeito antiaterogênico, entretanto, quando reduzido leva a uma menor vasodilatação, ocasionando maior risco de disfunção endotelial e, conseqüentemente, aterosclerose (Teixeira *et al.*, 2014; Westfelt *et al.*, 1995; Rudnicka *et al.*, 2021).

Figura 5 – Mecanismo de disfunção endotelial decorrente do aumento da IL-18.



Fonte: adaptado de Teixeira *et al.* (2014). Mecanismo de redução da produção de óxido nítrico (NO) através da inibição da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) pela proteína C reativa (PCR). ON – Óxido nítrico; PCR – Proteína C Reativa; IL-18 – Interleucina 18; IL-6 – Interleucina 6; ET-1 – Endotelina 1; eNOs - enzima óxido nítrico sintase endotelial; ET_A – Endotelina A; ET_B – Endotelina B; L-arg – L-arginina; NADPH - Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina.

Estudos experimentais realizados em placas ateroscleróticas humanas apontam o papel da IL-18 como desestabilizadora de placas de ateroma, sendo associada à presença de sinais clínicos e patológicos das complicações cardiovasculares (Mallat *et al.*, 2001). Em estudo prospectivo realizado em pacientes com doença arterial coronariana na Alemanha foi possível identificar uma forte associação entre os níveis séricos de IL-18 e o risco de futuros eventos cardiovasculares (Blankenberg *et al.*, 2002).

Níveis circulantes de IL-18 vem desempenhando um papel importante como marcador prognóstico associado à insuficiência cardíaca congestiva, disfunção miocárdica e

morte cardiovascular em decorrência da ativação de células imunológicas (Blankenberg *et al.*, 2002; Hartford *et al.*, 2010). Estudo realizado por Seta *et al.* (2000) revelou que níveis séricos elevados de IL-18 tem sido observados em pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM) e correlacionado com a pior progressão ao dano cardíaco.

Além de induzir a expressão de IFN- γ em células T e macrófagos, a IL-18 também tem a capacidade de induzir apoptose em células T que expressam proteínas de superfície celular como o antígeno Fas (*factor related apoptosis*), importante mediador que participa do processo apoptótico. A apoptose é a principal forma de dano no miocárdio após infarto, uma vez que a expressão do Fas encontra-se elevada nos miócitos de pacientes isquêmicos, consequentemente levará o indivíduo a falência do músculo cardíaco (Itoh *et al.*, 1991; Kajstura *et al.*, 1996; Maisel *et al.*, 1998; Seta *et al.*, 2000).

Estilo de vida e a idade são alguns dos fatores de risco que tem contribuído para o comprometimento cardiovascular. Um estudo associou a IL-18 (proteína implicada na aterosclerose e inflamação) com DCV em uma comunidade de idosos acima de 75 anos. Foram observados que níveis elevados de IL-18, tem aumentado significativamente o risco de doenças cardiovasculares globais (DCVG) (incluindo doença coronariana, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca) e morte durante os próximos 7 anos dos idosos (Xiaoming *et al.*, 2023). As DCV's ocorrem frequentemente em pessoas idosas quando estas “envelhecem rapidamente”, conforme determinado pela metilação do DNA, tornando-as mais susceptíveis a processos inflamatórios que podem levar a doenças cardiovasculares (Huang *et al.*, 2019).

A produção basal de citocinas entre os indivíduos pode variar devido a influências ambientais e genéticas (Smith; Humphries, 2009). Os níveis plasmáticos de IL-18 são influenciados geneticamente, visto que sua liberação extracelular é regulada por meio dos genes transcricionais e através da regulação gênica pós-transcricional e pós-traducional. A presença de alterações genéticas, denominadas de polimorfismos genéticos, no gene promotor de IL-18 podem influenciar na produção dessa interleucina (Yasuda *et al.*, 2019).

1.5 Polimorfismo de nucleotídeo único no gene da IL-18

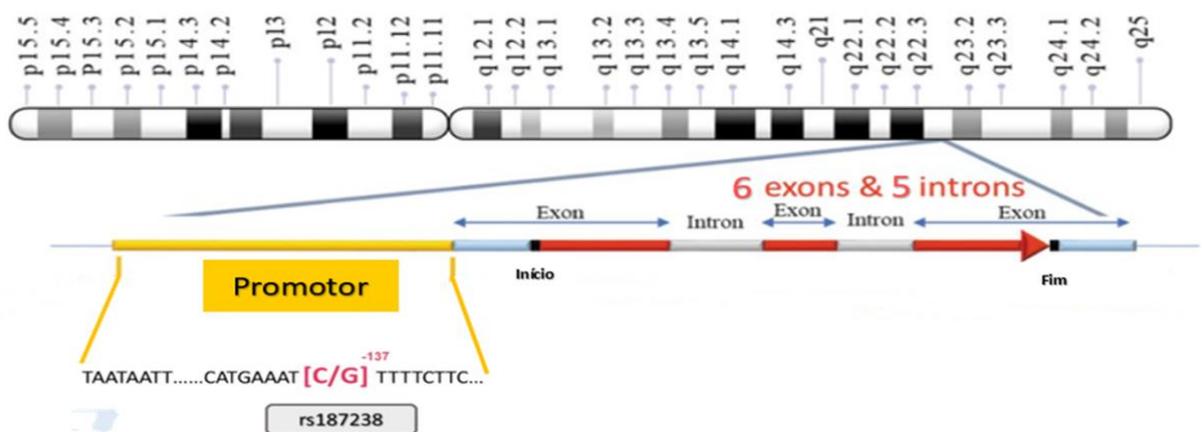
Polimorfismos são variações genéticas na sequência do ácido desoxirribonucleico (DNA) em que a frequência seja superior a 1% dos alelos na população. Dentre os tipos de

polimorfismos genéticos, podem ser elencados os segmentos repetidos, as deleções, inserções e duplicações de segmentos pequenos ou grandes e os polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNP, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*) (Chorley *et al.*, 2008).

O SNP é uma variação pontual na sequência do DNA que difere apenas por um nucleotídeo, ocorrendo uma troca entre as bases nitrogenadas: Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C) e Timina (T). Esse tipo de polimorfismo representa a variação mais comum no genoma humano (Ramírez-Bello; Jiménez-Morales, 2017).

A regulação da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias tem sido extensivamente estudada por diferentes grupos de pesquisas. Em particular, a expressão do gene da IL-18 foi localizado no cromossomo 11 (11q22.2-22.3) (Figura 6), possui seis éxons e sua expressão é regulada por dois promotores a montante do éxon 1 (Promotor 1) e do éxon 2 (Promotor 2) (Hoseini *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2023). Várias regiões do gene da IL-18 têm apresentado diferentes polimorfismos genéticos (-656 G/T, -607 C/A, -137 G/C, +113 T/G e +127 C/T), principalmente na região promotora onde inicia-se a transcrição (Giedraitis *et al.*, 2001; Fatima *et al.*, 2017; Hoseini *et al.*, 2018).

Figura 6 – Sítio polimórfico rs187238 no gene da IL-18.

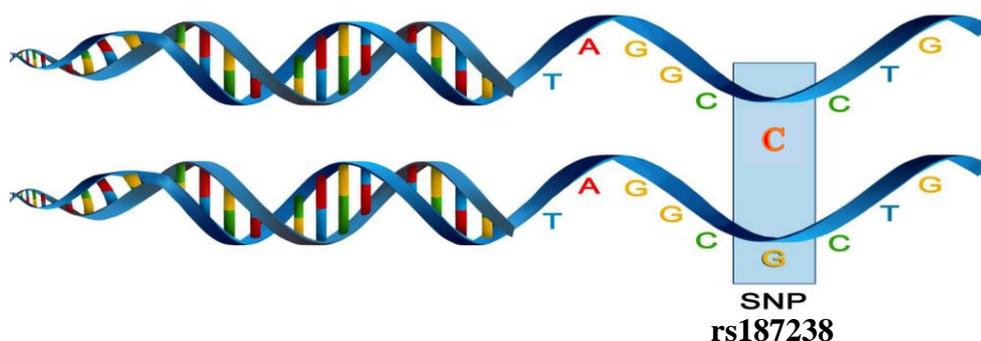


Fonte: adaptado de Chen *et al.* (2022). Locais polimórficos da interleucina-18 (IL-18) rs187238 no cromossomo 11. T – Timina; A – Adenina; C – Citosina; G – Guanina.

De acordo com o Banco de Dados de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (*The Single Nucleotide Polymorphism Database - dbSNP*), o polimorfismo rs187238 promove a

substituição de uma citosina (C) por uma guanina (G) na posição 112164265 (-137) do cromossomo 11 no sentido 5'- 3', conforme demonstrado na Figura 7 (DBSNP, 2021). Essa substituição altera o local de ligação ao fator nuclear do fator de transcrição da histona 4-1 (H4TF-1), o que influencia na atividade transcricional do gene da IL-18 (Giedraitis *et al.*, 2001).

Figura 7 – Polimorfismo de nucleotídeo único rs187238.



Fonte: elaborado pelo autor (2023). T – Timina; A – Adenina; G – Guanina; C – Citosina; SNP - Polimorfismo de nucleotídeo único.

O polimorfismo rs187238 tem sido associado a várias doenças imunológicas e inflamatórias, como doença de Alzheimer (Liu *et al.*, 2020b), diabetes mellitus tipo 2 (Myers *et al.*, 2022) e doenças cardiovasculares (Cavalcante *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2021).

Várias vias de sinalização, que estão associadas à resposta inflamatória, tem sido implicadas na aterosclerose, como o inflamassoma NLRP3, mencionado anteriormente, importante componente do sistema imunológico inato, em que ocorre a produção de IL-18, citocina implicada com a instabilidade de placa aterosclerótica. Assim como outros mediadores químicos, a IL-18 também pode sofrer variações genéticas que contribuem para o desenvolvimento da DAC. Liu *et al.* (2009a) realizaram um estudo com pacientes diagnosticados com DAC na região de Xiangfan, na China, e evidenciaram que o polimorfismo rs187238 pode influenciar nos níveis plasmáticos da IL-18, podendo contribuir de forma significativa para gravidade da doença. Da mesma forma, níveis elevados na expressão do gene da IL-18, com a presença do polimorfismo rs187238, tem levado o indivíduo a ter maior predisposição a desenvolver DAC e morte súbita (Hernesniemi *et al.*, 2009; Hoseini *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2021).

Ademais vale reforçar que uma variedade de sinais de perigo infecciosos e não

infecciosos nos tecidos induzem a inflamação crônica e ativam o inflamassoma NLRP3, de modo que esse complexo proteico é central na patogênese de muitas doenças inflamatórias de baixo grau, como obesidade, DM2 e dislipidemia (Kabakchieva *et al.*, 2022; Zhan *et al.*, 2023). Nessas doenças, a IL-18 – produzida pelo inflamassoma NLRP3 – quando em níveis elevados, tem sido associada a resistência insulínica (RI) e a pior progressão inflamatória em pacientes com DM2 (Giralt *et al.*, 2016; Cavalcante *et al.*, 2020). Alteração como essa, pode estar associada a presença do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18, uma condição que tem levado a população brasileira com DM2 a desenvolver DCV (Ponnana *et al.*, 2017; Cavalcante *et al.*, 2020), bem como risco de acidente vascular cerebral isquêmico (AVC), nefropatia diabética e infarto agudo do miocárdio (IAM) (Zhou *et al.*, 2019; Szeto *et al.*, 2009).

O acúmulo de gordura corporal típico da obesidade também é acompanhado por um estado inflamatório, que se caracteriza por hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo, que consequentemente recruta macrófagos e aumenta a produção de várias adipocinas, como a IL-18 (Silva *et al.*, 2019). A essa molécula tem sido relatado sua importância no controle da homeostase energética, com efeito na modulação da ingestão e no acúmulo da adiposidade (Zorrila; Conti, 2014). Portanto, há evidências de que pessoas obesas estão predispostas a produzir IL-18 através do tecido adiposo e, quando em níveis aumentados, essa adipocina sofre diversas alterações genéticas. Isso já foi relatado por Suazo *et al.* 2014, que demonstrou a influência do polimorfismo rs187238 do gene da IL-18, em componentes da síndrome metabólica (SM) de crianças chilenas com obesidade.

Os distúrbios metabólicos estão fortemente associado ao aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias. Diferentes vias estão envolvidas nas alterações induzidas pela IL-18, sobretudo a via metabólica dos lipídeos. O aumento dessa citocina estimula a produção do fator nuclear kappa B (NF- κ B) e IFN- γ que, juntos, podem interferir no processo de maturação e formação de lipoproteínas, o que afetaria diretamente o transporte reverso do colesterol, resultando em aumento nos níveis plasmáticos de lipídeos ou lipoproteínas aterogênicas (Xiang *et al.*, 2022; Liang *et al.*, 2023). Essas alterações podem estar associadas ao polimorfismo genético.

1.6 Metabolismo lipídico e inflamação

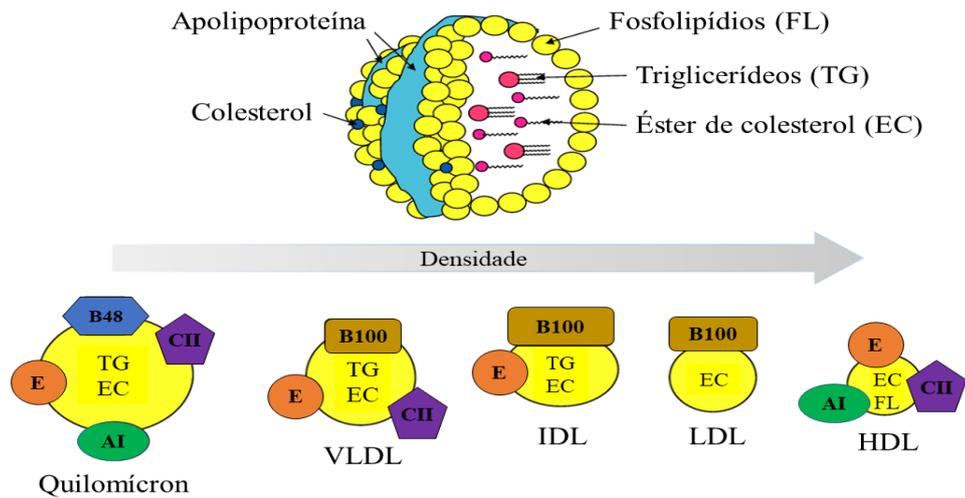
O metabolismo lipídico ou lipoproteico é um mecanismo que envolve a decomposição ou armazenamento de gorduras e a síntese de lipídeos estruturais e funcionais (Real *et al.*, 2021). Os lipídeos são metabólitos essenciais organizados por um grupo de compostos químicos orgânicos naturais que tem um papel importante na manutenção da vida, servindo como hormônio (Craig *et al.*, 2023), armazenamento de energia (Sinturel *et al.*, 2022), auxiliando na digestão (Craig *et al.*, 2023) e atuando como componente estrutural da célula (Luo *et al.*, 2020).

Os lipídeos são compostos solúveis em solventes orgânicos e praticamente insolúveis em água. Essas macromoléculas são subdivididas conforme sua estrutura química, sendo os ésteres de colesterol e os triglicerídeos, as macromoléculas mais encontradas no organismo animal após ingestão (Baynes, 2014; Burtis; Bruns, 2016).

Devido a natureza hidrofóbica dos lipídeos apolares, tanto os triglicerídeos quanto ésteres de colesterol precisam de proteínas especiais como apolipoproteínas para facilitar o transporte desses lipídeos do fígado para os tecidos periféricos, assim como dos tecidos periféricos para o fígado e intestino (transporte reverso) (Feingold *et al.*, 2000; Harris, 2009). Estruturalmente, as lipoproteínas (Figura 8) são partículas esféricas microscópicas complexas que consistem em uma monocamada de lipídios hidrofílicos (fosfolipídios, colesterol livre e apolipoproteínas) envolvendo um núcleo central hidrofóbico constituído de triglicerídeos e ésteres de colesterol (Smith *et al.*, 1978; Genest *et al.*, 1992).

As lipoproteínas plasmáticas são classificadas em sete estruturas e diferenciadas de acordo com seu tamanho, densidade, conteúdo lipídico e apolipoproteínas (Mahley *et al.*, 1984; Feingold *et al.*, 2000). As apolipoproteínas são estruturas particularmente importantes, pois agem como principal componente proteico das lipoproteínas, desempenhando um papel crucial na classificação de algumas lipoproteínas, como quilomícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL) fornecendo estrutura e função ao metabolismo lipoproteico (Bruns; Burtis, 2016; Lent-Schochet, 2023).

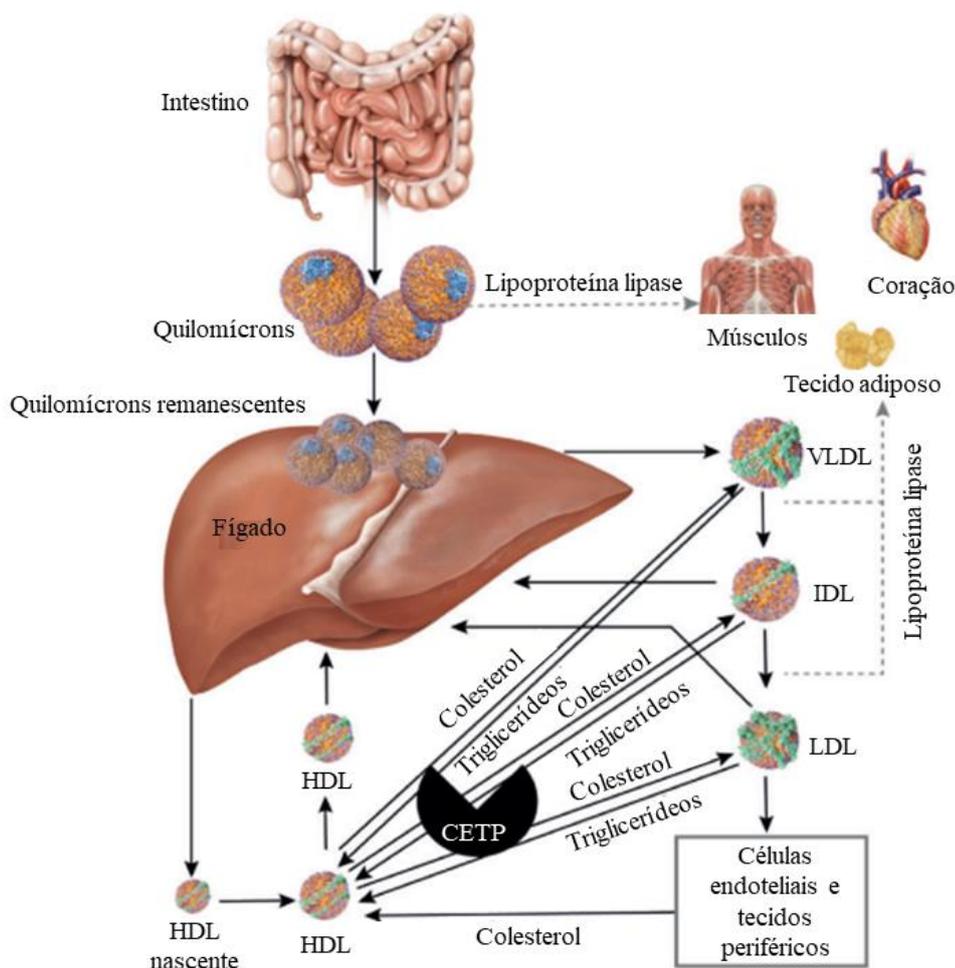
Figura 8 – Ilustração da estrutura e composição das lipoproteínas.



Fonte: Adaptado de Chiang (2014); HDL – lipoproteínas de alta densidade; IDL – lipoproteínas de densidade intermediária; LDL – lipoproteínas de baixa densidade; VLDL – lipoproteínas de muito baixa densidade; B-48 – Apolipoproteína B 48; E – Apolipoproteína E; CII – Apolipoproteína C II; AI – Apolipoproteína A I; B100 – Apolipoproteína B 100.

Os lipídeos derivam de fontes exógenas, como a dieta e de fontes endógenas, como a síntese pelo fígado. No metabolismo das lipoproteínas (Figura 9) a maior parte da digestão e absorção dos lipídeos ocorrem no intestino delgado. Enzimas pancreáticas são secretadas no intestino para hidrolisar ésteres de colesterol em colesterol não esterificado e os triglicerídeos em ácidos graxos e monoglicerídeos. Essas moléculas são absorvidas separadamente e reesterificadas para formar triglicerídeos a partir da ação da enzima diacilglicerol aciltransferase (DGAT) e colesterol através da acil-coenzima A colesterol aciltransferase (ACAT), que entrará no enterócito através de canais denominados de proteína Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) (Jia *et al.*, 2011; Pelley, 2012; Voet *et al.*, 2016; Gudrun *et al.*, 2013; Cohen *et al.*, 2007; Lent-Schochet, 2023).

Figura 9 – Ilustração do metabolismo das lipoproteínas.



Fonte: adaptado de Mach *et al.*, (2020); CETP – proteína de transferência de éster de colesterol; HDL – lipoproteínas de alta densidade; IDL – lipoproteínas de densidade intermediária; LDL – lipoproteínas de baixa densidade; VLDL – lipoproteínas de muito baixa densidade.

No citosol dos enterócitos os triglicerídeos e os ésteres de colesterol da dieta são empacotados nos quilomícrons por meio de interação com a Apo B-48 e secretadas na circulação através dos vasos linfáticos (Jo *et al.*, 2016; Bruns; Burtis, 2016; Cohen *et al.*, 2007; Lent-Schochet, 2023). Na circulação, os quilomícrons vão adquirir do HDL apolipoproteína E (Apo E) para facilitar sua captação pelo fígado e apolipoproteína C-II (Apo C-II) para ativar as lipoproteína lipase (LPL) do endotélio, que irá hidrolisar os triglicerídeos e liberar ácidos graxos. Após esse processo os quilomícrons reduzem seu tamanho e rapidamente são removidos pelo fígado (Bruns; Burtis, 2016).

Os lípidos armazenados no fígado são liberados na circulação através da partícula

de VLDL. Essa lipoproteína apresenta em sua estrutura moléculas de triglicerídeos, colesterol esterificado e algumas apolipoproteínas (Apo B-100, Apo E e Apo C-II) em sua membrana. O triglicerídeo do VLDL é utilizado como fonte de energia pelos tecidos após o reconhecimento da Apo C-II pela LPL, conseqüentemente, o VLDL passará a uma partícula remanescente, denominada de IDL, que retornará ao fígado através da ligação da Apo E ao seu receptor específico nos hepatócitos (Bruns; Burtis, 2016). Como via alternativa, o IDL poderá se transformar em uma partícula de LDL. Isso acontece quando o HDL retira do IDL Apo C, Apo E e triglicerídeos através da proteína trocadora de ésteres de colesterol (CETP). Em contrapartida, a CETP entrega colesterol esterificado ao IDL que se transformará em LDL e permanecerá na circulação (Bruns; Burtis, 2016; Cohen *et al.*, 2007; Lent-Schochet; Jialal, 2023).

O LDL é uma lipoproteína que carece de Apo C e Apo E em sua membrana. Essas apolipoproteínas são estruturas importantes para retirada do LDL da circulação. A remoção do LDL se dar a partir da ligação da Apo B-100 da lipoproteína ao receptor de LDL (LDL-R) na célula. Uma vez dentro da célula, o colesterol esterificado sofrerá ação da enzima esterase, que irá degradar a molécula em ácidos graxos e colesterol livre. Quando ocorre acúmulo de colesterol no interior da célula, a enzima Acil-colesterol Aciltransferase (ACAT) irá esterificar o colesterol, que logo será armazenado em forma de gotícula lipídica no citoplasma celular (Bruns; Burtis, 2016; Cohen *et al.*, 2007; Lent-Schochet; Jialal, 2023).

O excesso de colesterol livre na célula passa a ser tóxico aos tecidos. Entretanto, a remoção dessas partículas ocorre a partir do reconhecimento da proteína transmembranar ABC-A1 pela ApoA-1 do HDL, que transportará o colesterol livre para dentro da lipoproteína. Uma vez dentro do HDL, o colesterol livre sofrerá ação da enzima Lecitina-colesterol Aciltransferase (LCAT) tornando-a uma partícula esterificada, que posteriormente será transportada para o fígado a partir da ligação da ApoA-1 ou Apo E do HDL aos seus receptores nos hepatócitos (Bruns; Burtis, 2016; Cohen *et al.*, 2007; Lent-Schochet; Jialal, 2023).

O colesterol livre é uma molécula lipofílica, propensa a oxidação e a desenvolver sérios distúrbios no metabolismo lipídico. A importância clínica dos lipídeos está principalmente associada à sua contribuição para doença cardíaca coronária (DCC) e diferentes alterações lipoproteicas. Estudos têm demonstrados que, quando o colesterol total e o colesterol LDL (LDL-C) estão em concentrações elevadas (Hipercolesterolemia), a incidência

e a prevalência de DCC são também elavadas (Mortensen *et al.*, 2023; Sundjaja; Pandey, 2023).

A DCC é uma doença na qual a placa de ateroma se acumula no interior das artérias coronárias, sendo o colesterol LDL uma das principais lipoproteínas responsáveis pela doença cardiovascular aterosclerótica (DCVA) (Lin, 2020). As partículas de LDL que se acumulam no compartimento plasmático e não são captadas pelo tecidos podem migrar para íntima do vaso, onde estão sujeitas a oxidação. Quando oxidado, o LDL é fagocitado por macrófagos formando células espumosas (macrófagos ricos em colesterol) e ao sofrer ruptura, podem liberar radicais livres, enzimas proteolíticas e LDL oxidado (Brown; Goldstein, 1986; Burtis; Bruns, 2016; Lent-Schochet; Jialal, 2023).

O LDL oxidado prejudica a função endotelial (inibindo a liberação de óxido nítrico), aumenta a expressão de moléculas de adesão e promove a produção de citocinas inflamatórias que induzem a ativação de células osteoblásticas localizadas na parede arterial, participando da deposição de cálcio, resultando na perda da elasticidade tecidual e posteriormente na formação da aterosclerose (Lieberman *et al.*, 2013; Cohen *et al.*, 2007; Lent-Schochet; Jialal, 2023).

Sabe-se que fatores ligados à idade, sexo e estilo de vida tem contribuído para o acúmulo de LDL plasmático. No entanto, mutações ou polimorfismos genéticos também alteram estruturas ou funções de proteínas que estão envolvidas na síntese, homeostase e no metabolismo da LDL. Mudanças ocasionais nos genes das ApoB, ApoE e do receptor da LDL, são algumas alterações que tem interferido na afinidade da lipoproteína a receptores celulares específicos, contribuindo para o aumento dos níveis de LDL na circulação e favorecendo o desenvolvimento de DAC (Forti *et al.*, 2003).

Em contraste com a LDL, concentração alta de colesterol HDL (HDL-C) se mostra como preventor de DCC, tendo em vista que um dos principais benefícios da HDL é remover o excesso de colesterol acumulado nos tecidos periféricos e transferir para o fígado (Burtis; Bruns, 2016). Esse mecanismo representa a função “boa” da partícula para a prevenção da aterosclerose em humanos. Desta forma, o HDL-C tem sido conhecido como “colesterol bom”, pois níveis elevados dessa lipoproteína estariam associados a um menor risco de DCVA (Ogura, 2022; Eckardstein *et al.*, 2023). Além de seu papel antiaterogênico, a HDL também tem apresentado outras funções protetoras importantes, como anti-inflamatória, antitrombótica, antioxidante, antimicrobiana e imunorreguladora (Rye *et al.*, 2009; Pirillo *et al.*, 2019; Meilhac

et al., 2020; Bhale *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, estudos sobre a HDL vem passando por mudanças de paradigma quanto a sua composição e funcionalidade. Alguns fatores tem levado a HDL perder sua função protetora, como a capacidade reduzida em estimular o efluxo de colesterol dos macrófagos, inibir a oxidação do LDL e regular a apoptose, a produção de NO, a proteína quimiotática-1 de monócitos e a expressão de moléculas de adesão celular vascular em células endoteliais (Besler *et al.*, 2011; Speer *et al.*, 2013; Annema; Eckardstein, 2016; Hirata *et al.*, 2018; Eckardstein *et al.*, 2023; Lent-Schochet; Jialal, 2023). Desse modo, é importante destacar que distúrbios no metabolismo da LDL ou HDL, seja por causa orgânica ou não orgânica, podem levar à dislipidemia.

As dislipidemias, por sua vez, são caracterizadas por um subconjunto de distúrbios do metabolismo lipídico envolvendo níveis plasmáticos alterados ou comprometimento funcional, que podem ser determinadas laboratorialmente pelo aumento plasmático de colesterol associado às lipoproteínas que contêm Apo B (hipercolesterolemia) ou pela diminuição do colesterol associado às lipoproteínas que contêm Apo A-I (hipoalfalipoproteinemia), sejam de forma isolada ou em associação com aumento de triglicerídeos (hipertrigliceridemia). As causas das dislipidemias podem ser de origem primária, quando associadas às mutações ou aos polimorfismos genéticos e, secundária, quando associadas aos fatores ambientais como estilo de vida, idade, medicamentos, alimentação, sedentarismo, dentre outros (Faludi *et al.*, 2017; Mach *et al.*, 2020; Xiang *et al.*, 2022).

Apesar das dislipidemias secundárias serem as mais prevalentes na população, as dislipidemias primárias são irreversíveis e podem ser passadas para as próximas gerações. Podem ser divididas em monogênicas e poligênicas, quando se trata da quantidade de alterações genéticas necessárias para se observar alterações de lipoproteínas. Nesse sentido, as dislipidemias monogênicas são mais rastreáveis clinicamente devido às suas alterações clínicas serem precoces, apresentarem histórico familiar, alterações graves do perfil lipídico com sinais e sintomas patognomônicos e ausência de fatores secundários (Faludi *et al.*, 2017; Mach *et al.*, 2020).

As dislipidemias poligênicas, por outro lado, são causadas pela somatória de variantes genéticas denominadas de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP). Os SNP são variações genéticas que podem ocorrer tanto em regiões codificadoras (éxons) quanto em não

codificadoras (íntrons) de um determinado gene. Embora individualmente essas alterações não exerçam um efeito significativo no perfil lipídico, quando combinadas com outras alterações genéticas ou fatores epigenéticos, como estilo de vida e infecções, um determinado SNP pode estar associado ao desenvolvimento de dislipidemia clínica. Nesse contexto, os SNP que vem sendo bastante investigados e relevantes são aqueles relacionados a proteínas pró-inflamatórias, como a IL-18, que no curso da inflamação tem sido associada a níveis mais baixos de HDL-C (Faludi *et al.*, 2017; Yuan *et al.*, 2020).

Foi descrito anteriormente que a inflamação é uma característica fundamental dos pacientes infectados com Covid-19, e a IL-18 pode estar envolvida na regulação da resposta imunológica. Porém, alterações genéticas como o polimorfismo rs183278 no gene da IL-18 podem influenciar a produção e a atividade dessa citocina que, por sua vez, pode influenciar o processo inflamatório. No entanto, a inflamação é acompanhada por alterações no perfil lipídico. Em resposta a processos inflamatórios, o fígado pode aumentar a produção de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos, e reduzir os níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL), alterações importantes que predizem a gravidade da Covid-19. Portanto, existe uma interação complexa entre inflamação e perfil lipídico (Caterino *et al.*, 2021; Masana *et al.*, 2021).

1.6.1 Influência da Covid-19 no metabolismo lipídico

A Covid-19 tem sido associada a uma série de efeitos no corpo humano, incluindo alterações no metabolismo lipídico. Os lipídios desempenham diferentes papéis metabólicos importantes para as células, servindo como componente estrutural, energético e de sinalização, sobretudo, desempenham um papel fundamental na sobrevivência e no funcionamento dos microorganismos. As infecções causadas por vírus pode ter vários efeitos no perfil lipídico e no metabolismo das células hospedeiras em favor da sua replicação. Na Covid-19, além de induzir a tempestade de citocinas e levar o indivíduo a um estado pró-trombótico, pesquisas sugerem que o SARS-CoV-2 também pode interferir no metabolismo lipídico do hospedeiro, resultando em dislipidemia. A dislipidemia é uma condição caracterizada por níveis anormais de lipídios no sangue, incluindo colesterol e triglicerídeos, parâmetros que podem desempenhar um papel importante na patogênese e evolução da aterosclerose (Rezaei *et al.*, 2022; Yi Li *et*

al., 2021).

A relação entre a dislipidemia e o risco de infecção por Covid-19 e a gravidade da doença ainda não está bem esclarecida cientificamente. No entanto, sabe-se que vários fatores de risco relacionados com a dislipidemia, como doenças cardiovasculares e obesidade, são condições que podem levar o indivíduo a formas mais graves da COVID-19. Além disso, a inflamação crônica associada à dislipidemia pode desempenhar um papel na resposta imunológica do corpo a infecções, sobretudo, a infecções causadas pelo SARS-CoV-2 (Liu *et al.*, 2021; Aparisi *et al.*, 2022).

Em resposta a infecção pelo SARS-CoV-2, o corpo libera citocinas que podem causar um desequilíbrio nos parâmetros lipídicos do sangue, como aumento dos triglicerídeos e diminuição do colesterol. Essas alterações podem ser uma resposta natural do corpo à inflamação. Embora os mecanismos subjacentes não estejam totalmente compreendidos, vários estudos tem relatados associações entre a Covid-19 e os biomarcadores do perfil lipídico. Níveis séricos reduzidos do colesterol total, HDL-c e ApoA1, assim como, valores elevados de LDL-c e dos triglicerídeos estão entre as principais alterações do metabolismo lipídico na Covid-19 (Rezaei *et al.*, 2022; Parra *et al.*, 2023; Surma; Banach; Lewek, 2021).

Um estudo avaliou varios parâmetros do metabolismo lipídico, hepático e inflamatório de pacientes com Covid-19. No entanto, foi observado uma diminuição dos níveis séricos do HDL-c em pacientes críticos e uma redução nos níveis de CT e LDL-c em pacientes com sintomas leves, graves e críticos. No mesmo estudo, também foram observados valores aumentados de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e de interleucina-6. Esses resultados demonstram que a diminuição do perfil lipídico possa estar relacionado a ocorrência de danos hepáticos e ao processo inflamatório decorrente da infecção causada pelo SARS-CoV-2 (Wei *et al.*, 2020; Kočar *et al.*, 2021).

Por fim, reforça-se que a infecção causada pelo SARS-CoV-2 pode desencadear uma resposta inflamatória sistêmica, com elevação de citocinas pró-inflamatórias que, por sua vez, podem aumentar e levar a alterações no metabolismo lipídico. Aliado a isso, os lipídios retroalimentam essa resposta, uma vez que desempenham um papel importante na modulação da inflamação.

2. JUSTIFICATIVA

A pandemia da Covid-19, causada pelo SARS-CoV-2, tornou-se um dos desafios de saúde globais mais importantes da história recente. Dados epidemiológicos relatam que mais de 7 milhões de pessoas morreram em todo o mundo por Covid-19, com o Brasil acumulando pouco mais de 700 mil mortes (OMS, 2024). Esta doença destaca a necessidade de entender os fatores que influenciam a gravidade e os desfechos clínicos da infecção. Entre os diversos fatores estudados, o metabolismo lipídico e o polimorfismo genético de citocinas desempenham um papel significativo na modulação da resposta do hospedeiro ao vírus.

Alterações no perfil lipídico, como aumento do colesterol total, LDL-c, triglicerídeos e diminuição dos níveis de HDL-c, estão associadas à inflamação crônica e ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, fatores que pioram a resposta imunológica ao SARS-CoV-2. Estudos sugerem que a dislipidemia pode desempenhar um papel na gravidade da Covid-19, possivelmente aumentando a resposta inflamatória e prejudicando a função imunológica, e aumentando a liberação de citocinas pró-inflamatórias.

A IL-18 é uma citocina pró-inflamatória que desempenha papel importante na ativação de células imunes e na produção de interferon gama (IFN- γ), fundamental para a resposta antiviral. Um polimorfismo no gene da IL-18 pode alterar a expressão e a atividade desta citocina e afetar a suscetibilidade e a resposta inflamatória do hospedeiro ao SARS-CoV-2. Estudos preliminares sugerem que certos polimorfismos da IL-18 estão associados a uma resposta inflamatória desregulada que pode piorar os resultados clínicos em pacientes com Covid-19.

Investigar a relação entre o metabolismo lipídico e o polimorfismo no gene da IL-18 é importante para compreender como esses fatores combinados afetam a resposta imune ao SARS-CoV-2. Alterações no metabolismo lipídico pode afetar a expressão e a atividade de citocinas inflamatórias, incluindo a IL-18, aumentando a inflamação e contribuindo para a tempestade de citocinas, que pode levar o paciente ao estado mais grave da covid-19.

Este estudo tem como objetivo explorar a relação entre polimorfismos da IL-18 e parâmetros do metabolismo lipídico em pacientes com Covid-19. Portanto, a identificação de biomarcadores lipídicos e genéticos associados a resultados clínicos adversos pode ajudar a

desenvolver estratégias terapêuticas e preventivas, e melhorar o manejo clínico desta doença.

Compreender a interação entre o metabolismo lipídico e o polimorfismo genético da IL-18 no contexto da Covid-19 pode fornecer informações valiosas sobre os mecanismos patogênicos subjacentes à variabilidade na resposta ao SARS-CoV-2. Este conhecimento pode ajudar a identificar novas abordagens terapêuticas e personalizar tratamentos com base no perfil lipídico e na genética do paciente, ajudando assim a reduzir a morbidade e mortalidade associadas à Covid-19.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a associação entre o polimorfismo rs187238 no gene da IL-18 e os parâmetros do metabolismo lipídico em pacientes com Covid-19 atendidos em Unidade Sentinela de Fortaleza.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar os parâmetros antropométricos dos pacientes do estudo;
- Avaliar a influência da Covid-19 nos parâmetros laboratoriais do perfil lipídico;
- Correlacionar os níveis séricos de IL-18 com os parâmetros do metabolismo lipídico;
- Associar o polimorfismo rs187238 aos parâmetros do metabolismo lipídico.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo analítico, observacional e transversal que avaliou a frequência e a associação do polimorfismo rs187238 do gene da IL-18, com alterações no metabolismo lipoproteico na Covid-19. Adicionalmente, buscou-se avaliar o impacto do referido polimorfismo nos níveis séricos da IL-18, em indicadores antropométricos, bioquímicos e do metabolismo lipoproteico de pacientes com síndromes gripais assistidos pela Unidade de Atenção Primária à Saúde Dr. Anastácio Magalhães (UAPS). Essa unidade foi uma das instituições designadas pela Secretaria Municipal de Saúde de Fortaleza (SMS) a atender pacientes com suspeita de Covid-19, de forma que as coletas de dados dos pacientes ocorreram entre fevereiro de 2021 a agosto de 2021, período que antecedeu a disponibilização das vacinas. Um estudo caso-controle foi realizado no mesmo período para comparar a frequência do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18, entre o grupo de pacientes com Covid-19 e o grupo controle composto por indivíduos com síndrome gripal não infectados pelo coronavírus (SARS-CoV-2), respectivamente.

4.2 População estudada

Foram incluídos no estudo um total de 250 indivíduos adultos de ambos os sexos, entre 18 e 60 anos, com suspeita de Covid-19. Os pacientes selecionados foram divididos em dois grupos: o primeiro grupo composto por 90 indivíduos adultos pareados em sexo e idade com Covid-19 (grupo caso) e o segundo grupo constituído por 160 indivíduos sem Covid-19 (grupo controle).

A seleção se deu após os pacientes se queixarem de sintomas no atendimento médico e serem encaminhados para a realização do exame RT-qPCR (*Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction*) para o SARS-CoV-2, porém a alocação nos grupos (caso ou controle) só foram realizadas após o resultado deste exame. Assim, os pacientes com um encaminhamento para a realização do exame supracitado, foram abordados de forma a receber uma breve explicação sobre o estudo proposto e todos os pacientes que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

(Apêndice A). A alocação dos pacientes nos grupos (caso-controle) foi realizada após o resultado do exame RT-qPCR. Todos os procedimentos de obtenção e divulgação de informações seguiram as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde, resolução 466 de 12 de dezembro de 2012, que incorpora projetos de pesquisa envolvendo seres humanos (BRASIL, 2012).

Após assinatura do TCLE, todos os participantes foram encaminhados ao laboratório para coleta de dados antropométricos e realização dos exames laboratoriais (perfil lipídico, inflamatório e genético). A triagem dos participantes da pesquisa se deu a partir do preenchimento do formulário. Foram excluídos pacientes diagnosticados com comorbidades prévias (hipertensão, diabetes, dislipidemias e outras doenças cardiovasculares), reinfeção pelo SARS-CoV e que estivessem em uso de corticosteroides.

4.3 Material biológico

Para identificação e caracterização do SARS-CoV-2, foram coletadas secreções nas cavidades nasais (nasofaringe), com auxílio do *swab* de *rayon*, colocadas em tubo de fundo cônico (FALCON®) com meio de transporte viral (MTV). Depois da coleta as amostras foram armazenadas sob refrigeração entre 2° a 8° C por no máximo 24 horas e após esse período, foram congeladas à -20° C.

Para tipificação do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18, determinação dos marcadores bioquímicos, inflamatórios e de risco cardiovascular, foram coletados 4 mL de sangue total em tubo a vácuo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA-K2) (BD Vacutainer®) e 5 mL em um tubo contendo gel separador (BD Vacutainer®) para obtenção do soro. Depois da coleta, as amostras de sangue total foram aliquotadas em dois microtubos e armazenadas a -80 °C até a extração do DNA genômico dos leucócitos. Já as amostras de soro, foram utilizadas primeiramente para determinação do perfil lipídico e, posteriormente, aliquotadas e armazenadas a -80 °C até a realização das dosagens de IL-18 e análise das Apolipoproteínas (ApoA-I e ApoB).

4.4 Obtenção dos dados demográficos, antropométricos e laboratoriais

Os dados demográficos (sexo e idade) foram obtidos através de entrevista, sendo organizados em um formulário estruturado. Para obtenção dos dados antropométricos (peso, altura e índice de massa corporal, IMC) foi utilizada uma balança de bioimpedância (modelo HBF-514C, OMRON *company*, U.S.A) e registrado na ficha clínica. Os dados laboratoriais para avaliar o perfil lipídico (colesterol total, HDL-c, não HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triglicerídeos), marcador inflamatório (dosagem de IL-18), os parâmetros de riscos cardiovasculares (ApoB e Apo A-I) e análises genética do polimorfismo rs187238 no gene de IL-18, foram realizados no laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Professor Dr. Eurico Litton Pinheiro de Freitas (LACT), vinculado à Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.4.1 Dados demográficos e antropométricos

Para avaliação dos dados demográficos, foram solicitadas duas variáveis para análises, sendo uma a idade, onde considerou-se o intervalo entre a data de nascimento e a data de inclusão no estudo, ficando os resultados reportados em anos. A outra variável foi o sexo, dividido em duas categorias masculino/feminino.

As medidas antropométricas foram realizadas medindo a massa corporal (Kg), mensurada com os participantes utilizando o mínimo de roupas e descalços, através da balança digital com limite de capacidade de 150,0 Kg e precisão de 100,0 g. A medida da estatura (m) foi realizada por meio do estadiômetro portátil com limite de 2,1 m e precisão de 1,0 mm, estando os indivíduos descalços, em posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilha, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro, com a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt. Esses dados foram inseridos em um medidor de composição corpórea por bioimpedância (Modelo HBF 514C, Omron Company, Dalian, U.S.A, Omron) e utilizados para calcular o índice de massa corporal (IMC), definido como a massa corporal em quilogramas pela estatura em metros quadrados (Kg/m^2) (Malachias et al., 2016).

4.4.2 Dados laboratoriais

Os pacientes foram submetidos à coleta de amostras de sangue pelo sistema a vácuo em tubos estéreis. Foram coletados 4 mL de sangue total em tubo a vácuo contendo EDTA-K2 e 5 mL em um tubo contendo gel separador, onde foi submetido a centrifugação à 3.500 RPM (rotações por minuto) por 10 minutos, o soro foi armazenado a -80°C ao abrigo da luz.

O resultado dos parâmetros do perfil lipídico foi analisado após análises das concentrações de Colesterol Total (CT), Colesterol HDL (HDL-c) e triglicerídeos (TG) no soro, dosados no equipamento automatizado BM-200 Vytra diagnósticos, com o uso de reagentes enzimáticos (Bioclin®). O conteúdo de colesterol associado à LDL (LDL-c) foi determinado por meio da fórmula de Friedewald, Levy e Fredrickson (1972), aplicada para os indivíduos com TG < 400,0 mg/dL, conforme a fórmula 1.

$$\text{LDL-c} = \text{CT} - [\text{HDL-c} + (\text{TG}/5)] \quad (1)$$

O perfil lipídico dos pacientes foi avaliado de acordo com os valores de referência propostos pela Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017 (Faludi *et al.*, 2017).

Os níveis séricos das Apolipoproteína A-I (ApoA-I) e B (ApoB) foram determinados por imunoturbidimetria (RANDOX, Reino Unido) em equipamento automatizado BM-200, Vytra diagnósticos®. A classificação do risco para doenças cardiovasculares foi realizada com base na relação ApoB/ApoA-I, de acordo com os valores propostos por Walldius e Jungner (2004).

A análise da interleucina 18 (IL-18) sérica foi realizada a partir ensaio de imunoenzimático (ELISA) de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, Ref. No. BMS267-2MST Viena, Áustria). Foram selecionados aleatoriamente 10% das amostras afim de buscar a reprodutibilidade das dosagens da IL-18.

4.5 Análises gênica do polimorfismo rs187238 da IL-18

4.5.1 Extração do DNA

A extração do DNA foi executada com uso do *Kit PureLink™ “Genomic DNA Mini Kit”*, da Invitrogen/Thermo Fish Scientific (cat no. K1820 01, Carlsbad, CA, EUA). O processo de extração do material genético seguiu quatro etapas: a preparação do lisado (extração), ligação, lavagem e eluição. Todos os processos foram realizados seguindo rigorosamente o protocolo proposto pelo fabricante.

As amostras de DNA foram extraídas de leucócitos da amostra de sangue total e sua concentração e pureza obtidos através da medida da densidade óptica por meio de um espectrofotômetro de microvolumes do tipo Nanodrop. Para verificar a qualidade do DNA extraído, a relação entre a quantidade de DNA (absorção a 260 nm) e proteínas (absorção a 280 nm) foi aferida. Amostras com valores da relação de absorbância 260/280 nm $\geq 1,8$ foram consideradas aceitáveis para posterior genotipagem do polimorfismo abordado nesse estudo (Wilfinger, 1997; Thermo scientific, 2012).

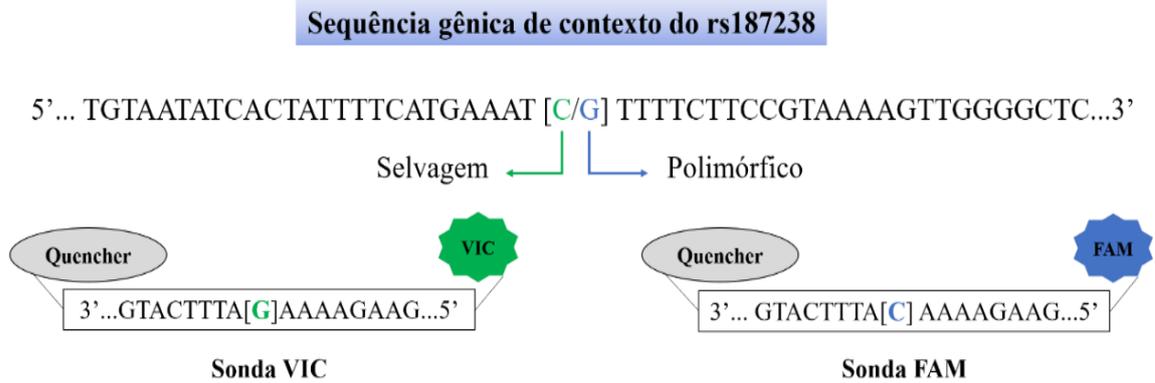
4.5.2 Genotipagem do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18

A genotipagem do polimorfismo rs187238 do gene da IL-18 foi realizada pela técnica de RT-qPCR em tempo real, fazendo uso de sondas comerciais (TaqMan SNP *genotyping*, Applied Biosystems) e termociclador (CFX 96™ *Real Time System*, BIORAD). Esse kit continha 2 iniciadores não marcados e duas sondas, sendo uma para cada alelo, marcadas com os fluoróforos VIC™ (Verde) e FAM™ (Azul) (Figura 10).

O princípio da reação de polimerização em cadeia em tempo real (PCR-qRT) ocorre quando uma sonda de fita simples com dois fluorocromos é adicionada à reação de PCR. O fluorocromos VIC ou FAM precisam permanecer próximos do *quencher* (Q) para atenuar sua fluorescência. A enzima Taq-DNA polimerase (AmpliTaq Gold® DNA Polymerase) separa os dois fluorocromos à medida que cliva a sonda para sintetizar uma nova fita de DNA, devido à atividade exonuclease. O fluorocromo VIC ou FAM recém-liberado da sonda emitem então

um sinal de fluorescência no comprimento de onda característico, demonstrando assim a presença ou não dos alelos e possibilitando a genotipagem do polimorfismo.

Figura 10 – Sequência gênica do polimorfismo rs187238 da IL-18.



Fluoróforos: **FAM** ($\lambda_{\text{Abs}} = 499\text{nm}$; $\lambda_{\text{Emissão}} = 519\text{nm}$): 6-carboxifluoresceína;

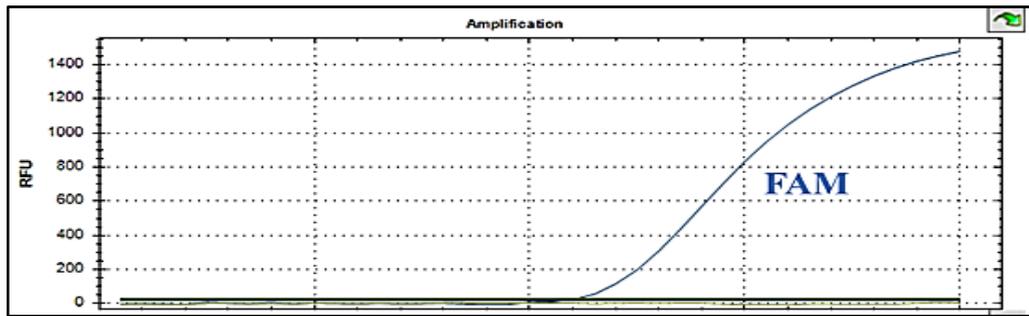
VIC ($\lambda_{\text{Abs}} = 534\text{nm}$; $\lambda_{\text{Emissão}} = 552\text{nm}$): 2'-cloro-7'-fenil-1,4-dicloro-6-carboxi-fluoresceína.

Fonte: Próprio autor. Sequência gênica do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18. A sonda que localiza o alelo G está marcada com o Fluoróforo VIC (cor verde) e a sonda que localiza o alelo C está marcada com o fluoróforo FAM (cor azul).

Para cada reação, foram utilizadas 5,0 μL de TaqMan Universal PCR Master Mix, 2,5 μL de água ultrapura, 0,5 μL da sonda TaqMan e 2,0 μL de DNA da amostra (com concentração de aproximadamente 20 $\text{ng}/\mu\text{L}$). Amostras foram repetidas (5%), com 100% de concordância. Amostras previamente tipificadas para os 3 genótipos do polimorfismo rs187238 no gene de IL 18 (GG, GC e CC) foram utilizadas como controle interno para cada rodada de reações de genotipagem.

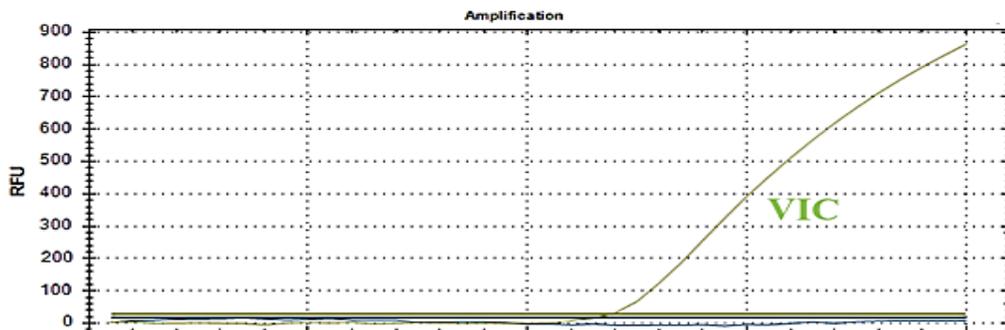
O protocolo usado no termociclador para genotipagem foi: 1) 50° C por 2 minutos; 2) 95°C por 10 minutos; 3) 95°C por 15 segundos e 4) 62°C por 1 minuto (passos 3 e 4 foram repetidos por 50 vezes). As Figuras 11, 12 e 13 mostram a tipificação dos genótipos GG, GC e CC de acordo com a amplificação ou não das sondas especificamente marcadas para identificar o alelo C ou G do polimorfismo rs187238 no gene de IL-18.

Figura 11 – Determinação do genótipo CC do polimorfismo rs187238 marcada com o fluoróforo FAM.



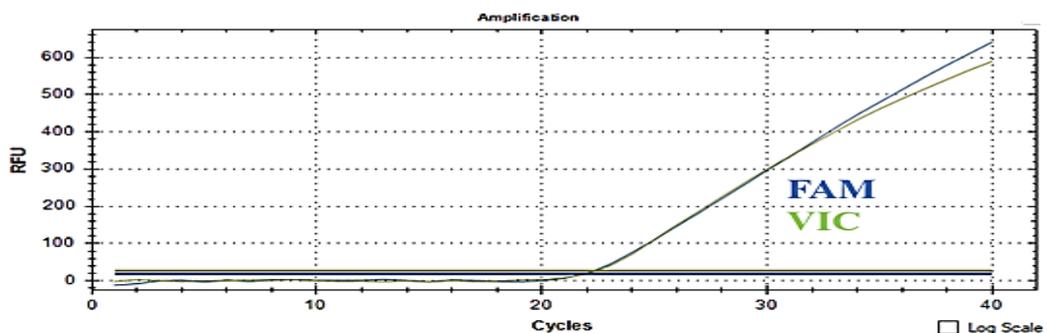
Fonte: Próprio autor. Discriminação alélica por meio da utilização do sistema TaqMan® e amplificação pelo método de PCR em tempo real de fragmento correspondente ao genótipo CC do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18. Apenas a sonda marcada com o fluoróforo FAM (azul) específica para o alelo C amplificou. RFU Unidade de Fluorescência.

Figura 12 – Determinação do genótipo GG do polimorfismo rs187238 marcada com o fluoróforo VIC.



Fonte: Próprio autor. Discriminação alélica por meio da utilização do sistema TaqMan® e amplificação pelo método de PCR em tempo real de fragmento correspondente ao genótipo GG do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18. Apenas a sonda marcada com o fluoróforo VIC (verde) específica para o alelo G amplificou. RFU Unidade de Fluorescência.

Figura 13 – Determinação heterozigose do genótipo GC do polimorfismo rs187238 marcada com o fluoróforo VIC e FAM.



Fonte: Próprio autor. Discriminação alélica por meio da utilização do sistema TaqMan® e amplificação pelo método de PCR em tempo real de fragmento correspondente ao genótipo GC do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18. Apenas as sondas marcadas com os fluoróforos VIC (verde) e FAM (azul) específicas para os alelos G e C respectivamente amplificaram. RFU Unidade de Fluorescência.

4.6 Análise estatística e genética

Os dados foram analisados pelos *softwares* IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM, EUA) e GraphPad Prism 6. A distribuição de frequência das variáveis categóricas foi verificada pelo teste qui-quadrado, enquanto as variáveis numéricas foram analisadas segundo a normalidade verificada pelo Teste Shapiro-Wilk. As variáveis paramétricas foram analisadas pelo teste T de Student ou análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey, enquanto as variáveis não paramétricas foram analisadas por Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis. Todas as variáveis numéricas foram expressas como média \pm desvio padrão. A correlação de Pearson foi utilizada para avaliar a associação entre variáveis numéricas contínuas. Para todos os casos, a significância estatística foi adotada quando $p < 0,05$.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para os alelos C (selvagem) e G (polimórfico) do SNP rs187238 foram verificadas pelo programa HW_TEST_v1.1, aplicando o teste qui-quadrado (X^2) de Pearson (SANTOS *et al.*, 2020). O EHW é usado para estimar o número de portadores de variantes homozigotos e heterozigotos com base em sua frequência de alelos em populações que não estão evoluindo. Baseado no equilíbrio de HW, as frequências alélicas e genotípicas foram calculadas tomando como base as fórmulas 2 e 3, onde “p” seria a frequência do alelo selvagem e “q” seria a frequência do alelo polimórfico.

$$f(\text{alélica}) = p + q = 1 \quad (2)$$

$$f(\text{genotípica}) = p^2 + 2pq + q^2 = 1 \quad (3)$$

4.7 Considerações éticas

O estudo foi submetido a base nacional e unificada de registros de pesquisas envolvendo seres humanos (Plataforma Brasil) e aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal do Ceará/PROPESQ UFC Protocolo nº 40615320.90000.5054 (Anexo A). O projeto também teve anuência da Coordenadoria de Educação em Saúde, Ensino, Pesquisa e Programas Especiais (Anexo B), órgão vinculado à Secretaria Municipal de Saúde de Fortaleza e responsável pela autorização desse estudo na UAPS Dr. Anastácio Magalhães. Todos os pacientes da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(TCLE) (Anexo C), estando em conformidade com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que regulamenta a pesquisa envolvendo seres humanos.

5. RESULTADOS

O presente trabalho avaliou 90 pacientes com Covid-19 e 160 pacientes sem Covid-19, equiparados quanto ao sexo e idade. Entre os pacientes com Covid-19 houve uma predominância do sexo feminino ($n = 63$; 70,00%), com idade média de $40,29 \pm 14,51$ anos e índice de massa corpórea (IMC) médio de $27,89 \pm 5,81$ kg/m², apresentando distribuição similar entre os grupos. Além disso, quando comparados segundo os parâmetros laboratoriais, foi evidenciada diferença no CT = 183 mg/dL (151 – 217; $p = 0,030$) e na fração HDL-c = 47,50 mg/dL (38 – 59; $p = 0,040$) entre os grupos, no qual os pacientes com Covid-19 apresentaram redução desses parâmetros, conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1 – Comparação de sexo, idade, IMC e os parâmetros laboratoriais entre os grupos de pacientes sem Covid-19 e com Covid-19.

		Pacientes sem Covid-19	Pacientes com Covid-19	
		N = 160 (%)	N = 90 (%)	
		$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	<i>p</i>
		Mediana (25 - 75%)	Mediana (25 - 75%)	
Sexo	Feminino	96 (60,00%)	63 (70,00%)	0,133 ^a
	Masculino	64 (40,00%)	27 (30,00%)	
Idade (anos)		$38,58 \pm 15,44$	$40,29 \pm 14,51$	0,390 ^b
	Baixo peso	3 (1,87%)	3 (3,33%)	0,870 ^a
	Peso normal	49 (30,62%)	27 (30,00%)	
	Sobrepeso	63 (39,38%)	37 (41,11%)	
	Obesidade	45 (28,13%)	23 (25,56%)	
IMC(kg/m²)		$38,58 \pm 15,44$	$40,29 \pm 14,51$	0,390 ^b

Parâmetros	CT (mg/dL)	194 (160,5 – 237,5)	183 (151 – 217)	0,030 ^c
	HDL-c (mg/dL)	51 (44 – 60)	47,50 (38 – 59)	0,040 ^c
	LDL-c (mg/dL)	116 (85 – 154)	107 (77 – 129)	0,054 ^c
	Não-HDL-c (mg/dL)	141 (114 – 182)	134 (97 – 165)	0,066 ^c
	TG (mg/dL)	124 (80,5 – 200)	123 (78 – 200)	0,551 ^c
	IL-18 (pg/mL)	395 (316-496)	395 (316 – 496)	0. 684 ^c
	Apo A-I (mg/dL)	153 (132 – 182)	145 (122 – 171)	0.177 ^c
	Apo B (mg/dL)	83,02 ± 20,77	79,41 ± 22,30	0,201 ^b
	Apo B/Apo A-I	0,54 (0,43 – 0,64)	0,53 (0,42 – 0,69)	0,979 ^c

^a Teste de qui-quadrado (X^2); ^b Teste t não pareado; ^c Teste U de Mann-Whitne; DP – Desvio Padrão; IMC – Índice de Massa Corporal; CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos; IL-18 – Interleucina 18; Apo AI – Apolipoproteína AI; Apo B – Apolipoproteína B.

Após verificar diferença nos parâmetros CT e HDL-c entre os grupos, buscou-se verificar a distribuição dos indivíduos de acordo com os níveis séricos dos parâmetros tradicionais do metabolismo lipídico quanto aos valores de referências (Faludi *et al.*, 2017). Verificou-se que a Covid-19 esteve associada com uma maior frequência de indivíduos com o parâmetro HDL-c abaixo do valor de referência (34,44%; $p = 0,002$), enquanto os parâmetros LDL-c (76,67%; $p = 0,008$) e não-HDL-c (72,22%; $p = 0,029$) apresentaram alta frequência dentro dos valores de referência, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes segundo os valores de referência dos parâmetros tradicionais do metabolismo lipídico.

Parâmetros	VR	Pacientes sem	Pacientes com	<i>p</i>
		Covid-19	Covid-19	
		N = 160 (%)	N = 90 (%)	
CT	< 190 mg/dL	73 (45,63%)	50 (55,56%)	0,148
	≥ 190 mg/dL	87 (54,37%)	40 (44,44%)	
HDL-c	≥ 40 mg/dL	133 (83,13%)	59 (65,56%)	0,002
	< 40 mg/dL	27 (16,17%)	31 (34,44%)	
LDL-c	< 130 mg/dL	95 (59,38%)	69 (76,67%)	0,008
	≥ 130 mg/dL	65 (40,62%)	21 (23,33%)	
Não HDL-c	< 160 mg/dL	92 (57,50%)	65 (72,22%)	0,029
	≥ 160 mg/dL	68 (42,50%)	25 (27,78%)	
TG	< 175 mg/dL	109 (68,13%)	64 (71,11%)	0,670
	≥ 175 mg/dL	51 (31,87%)	26 (28,89%)	

Dados: Teste qui-quadrado (X^2); VR – Valores de Referência; CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos.

Apesar de não ter verificado diferença nos níveis da IL-18 entre os grupos, buscou-se verificar se os parâmetros do metabolismo lipídico correlacionam-se com essa citocina. Foi verificado que os níveis de IL-18 se correlacionaram negativamente com HDL-c ($r = -0,317$; $p = 0,003$) e positivamente com a relação Apo B/Apo A-I ($r = 0,217$; $p = 0,041$) nos pacientes com Covid-19, indicando assim, que a citocina está quantitativamente associada a um perfil lipídico mais aterogênico, conforme Tabela 3.

Tabela 3 – Correlação entre a IL-18 e os parâmetros do metabolismo lipídico.

Parâmetros	Pacientes sem Covid-19		Pacientes com Covid-19	
	r	p	r	p
CT	0,039	0,624	-0,139	0,190
HDL-c	-0,103	0,195	-0,317	0,003
LDL-c	0,044	0,579	-0,098	0,360
Não HDL-c	0,067	0,402	-0,057	0,591
TG	0,075	0,348	0,090	0,397
Apo A-I	0,078	0,326	-0,166	0,118
Apo B	0,134	0,092	0,102	0,341
Apo B/Apo A-I	0,053	0,507	0,217	0,041

Dados: Correlação de Pearson; CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos; IL-18 – Interleucina 18; Apo AI – Apolipoproteína A-I; Apo B – Apolipoproteína B.

Observando a correlação entre a IL-18 e o HDL-c ($r = -0,3169$; $p = 0,0028$) (gráfico A na figura 14) nos pacientes com Covid-19, buscou-se verificar se os níveis de HDL-c diferem segundo os tercís de IL-18 (gráfico B da figura 14). Foi verificada diferença entre o tercil baixo e o tercil alto ($p = 0,0194$).

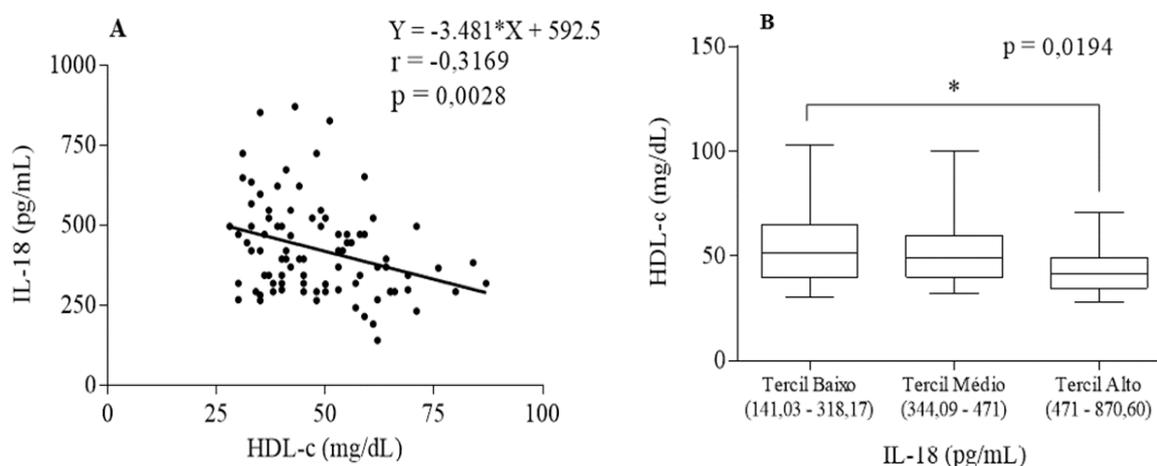
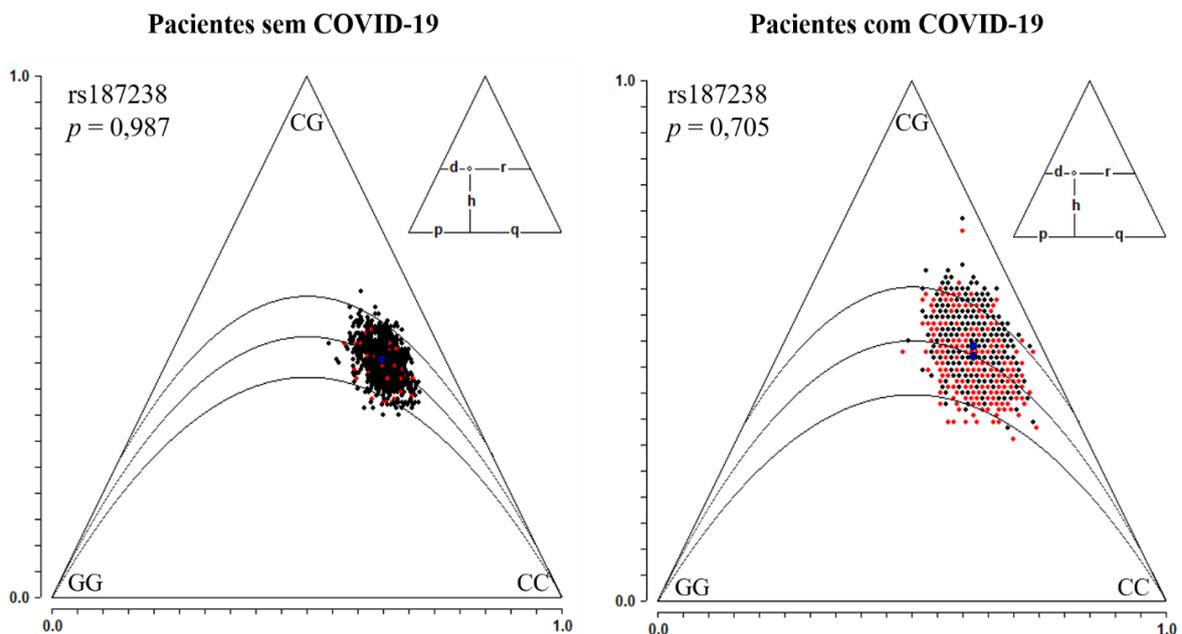
Figura 14 – Associação entre a IL-18 e HDL-c em pacientes com Covid-19.

Gráfico A – Correlação de Pearson; Gráfico B – Teste de Kruskal-Wallis; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; IL-18 – Interleucina 18.

Ao analisar as distribuições genotípicas do SNP rs187238 do gene da IL-18, identificou-se frequência semelhante entre os grupos. Entre os pacientes com Covid-19, havia 34 (37,78%) indivíduos com genótipo CC, 44 (48,89%) com genótipo CG e 12 (13,33%) com genótipo GG. Enquanto entre os pacientes sem Covid-19, havia 67 (41,87%) com genótipo CC, 73 (45,63%) com genótipo CG e 20 (12,50%) com genótipo GG, conforme tabela 4. Tendo as distribuições genotípicas de ambos os grupos, foi verificado se as frequências atendiam ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg para uma população mendeliana. Foi observado que em ambos os grupos, as frequências genotípicas seguiam um Equilíbrio de Hardy-Weinberg, visto que não foi observado diferença entre as distribuições genotípicas observadas (representadas por pontos pretos) e as distribuições esperadas (representadas por pontos vermelhos), conforme a figura 15.

Figura 15 – Gráficos ternários do equilíbrio de Hardy-Weinberg para SNP rs187238 em pacientes sem Covid-19 (gráfico A) e com Covid-19 (gráfico B).



Equilíbrio de Hardy-Weinberg; Gráfico A – pacientes sem COVID-19; Gráfico B – pacientes com COVID-19; Distribuição da genotipagem esperada (pontos vermelhos) e observada (pontos pretos).

Tabela 4 – Frequências alélicas e genótípicas do SNP rs187238 calculadas pela fórmula de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

		Pacientes sem Covid-19	Pacientes com Covid-19	<i>p</i>
		N = 160 (%)	N = 90 (%)	
Alelos	C	64,69%	62,22%	0,818
	G	35,31%	37,78%	
Genótipos	CC	67 (41,87%)	34 (37,78%)	
	CG	73 (45,63%)	44 (48,89%)	
	GG	20 (12,50%)	12 (13,33%)	

Teste qui-quadrado (X^2).

Foi realizada a comparação dos parâmetros laboratoriais de ambos os grupos segundo os genótipos do polimorfismo rs187238, no qual não foi observado diferença conforme a tabela 5.

Ao verificar que não houve diferença nos parâmetros laboratoriais entre os genótipos dentro de cada grupo, foi verificado se esses parâmetros diferem para o mesmo genótipo quando comparados entre os grupos. Foi observado que pacientes com genótipos CC estariam associados a uma redução de HDL-c 44,5 (36,0 – 55,5; $p = 0,029$) e ApoA-I 162,5 (139,2 – 187,7; $p = 0,047$) quando acometidos com Covid-19, conforme tabela 6.

Além de comparar os parâmetros laboratoriais de cada genótipo entre os grupos, buscou-se também investigar associação desses parâmetros segundo a dominância e recessividade do alelo polimórfico G dentro de cada grupo. Entretanto, ao analisar os dados verificou-se que o alelo G e o alelo C no SNP rs187238 não demonstrou associação com os parâmetros, conforme demonstrado na tabela 7 e 8.

Tabela 5 – Comparação entre os parâmetros laboratoriais de ambos os grupos Covid-19 de acordo com os genótipos do polimorfismo rs187238 da IL-18.

Parâmetros	Covid-19 Negativo			<i>p</i>	Covid-19 Positivo			<i>p</i>
	CC	CG	GG		CC	CG	GG	
CT	204,0 (161,0 – 239,0)	190,0 (160,5 – 236,0)	171,5 (146,5 – 237,8)	0,707 ^a	185,5 (152,5 – 222,0)	178,0 (142,5 – 208,0)	192,5 (163,8 – 226,0)	0,516 ^a
HDL-c	54,0 (44,0 – 60,0)	52,0 (40,5 – 60,0)	49,5 (44,0 – 53,8)	0,480 ^a	44,5 (36,0 – 55,5)	48,5 (40,0 – 60,5)	43,0 (37,5 – 52,5)	0,560 ^a
LDL-c	122,0 (84,2 – 154,0)	110,0 (85,9 – 155,0)	106,1 (79,2 – 152,4)	0,864 ^a	106,2 (82,0 – 129,5)	101,8 (74,0 – 127,3)	117,3 (69,0 – 155,2)	0,759 ^a
Não-HDL-c	150,0 (114,0 – 178,0)	141,0 (114,0 – 182,0)	125,5 (99,8 – 191,8)	0,810 ^a	136,5 (101,5 – 177,0)	132,0 (93,8 – 156,3)	140,5 (97,3 – 181,5)	0,609 ^a
TG	117,0 (90,0 – 206,0)	125,0 (73,5 – 205,5)	140,0 (95,8 – 184,0)	0,542 ^a	142,0 (78,0 – 228,0)	108,5 (72,3 – 152,3)	148,0 (91,0 – 208,3)	0,270 ^a
IL-18	420,2 (318,7 – 521,8)	394,9 (293,3 – 456,4)	394,9 (344,1 – 490,0)	0,696 ^a	394,9 (297,7 – 496,4)	420,2 (303,4 – 540,8)	369,5 (318,7 – 483,7)	0,829 ^a
Apo A-I	162,3 (139,2 – 187,7)	148,0 (126,9 – 170,8)	150,8 (131,9 – 175,0)	0,051 ^a	142,4 (108,6 – 179,8)	151,0 (124,7 – 171,2)	128,9 (124,4 – 184,2)	0,615 ^a
Apo B	84,1 ± 19,1	81,3 ± 21,9	85,7 ± 22,2	0,605 ^b	80,6 ± 22,2	76,9 ± 22,8	85,1 ± 21,2	0,498 ^b
Apo B/Apo A-I	0,54 (0,41 – 0,62)	0,54 (0,44 – 0,66)	0,61 (0,47 – 0,65)	0,438 ^a	0,56 (0,43 – 0,73)	0,49 (0,41 – 0,62)	0,56 (0,44 – 0,81)	0,290 ^a

^a Teste de Kruskal-Wallis e ^b ANOVA com pós-teste de Tukey. CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos; IL-18 – Interleucina 18; Apo AI – Apolipoproteína AI; Apo B – Apolipoproteína B.

Tabela 6 – Comparação dos parâmetros laboratoriais de cada genótipo entre os grupos.

Parâmetros	Grupos	Genótipos					
		CC	<i>p</i>	CG	<i>p</i>	GG	<i>p</i>
CT	Covid-19 Negativo	204,0 (161,0 – 239,0)	0,129 ^a	190,0 (160,5 – 236,0)	0,056 ^a	171,5 (146,5 – 237,8)	0,885 ^a
	Covid-19 Positivo	185,5 (152,5 – 222,0)		178,0 (142,5 – 208,0)		192,5 (163,8 – 226,0)	
HDL-c	Covid-19 Negativo	54,0 (44,0 – 60,0)	0,029^a	52,0 (40,5 – 60,0)	0,731 ^a	49,5 (44,0 – 53,8)	0,166 ^a
	Covid-19 Positivo	44,5 (36,0 – 55,5)		48,5 (40,0 – 60,5)		43,0 (37,5 – 52,5)	
LDL-c	Covid-19 Negativo	122,0 (84,2 – 154,0)	0,132 ^a	110,0 (85,9 – 155,0)	0,123 ^a	106,1 (79,2 – 152,4)	0,946 ^a
	Covid-19 Positivo	106,2 (82,0 – 129,5)		101,8 (74,0 – 127,3)		117,3 (69,0 – 155,2)	
Não-HDL-c	Covid-19 Negativo	150,0 (114,0 – 178,0)	0,288 ^a	141,0 (114,0 – 182,0)	0,091 ^a	125,5 (99,8 – 191,8)	0,992 ^a
	Covid-19 Positivo	136,5 (101,5 – 177,0)		132,0 (93,8 – 156,3)		140,5 (97,3 – 181,5)	
TG	Covid-19 Negativo	117,0 (90,0 – 206,0)	0,930 ^a	125,0 (73,5 – 205,5)	0,448 ^a	140,0 (95,8 – 184,0)	0,751 ^a
	Covid-19 Positivo	142,0 (78,0 – 228,0)		108,5 (72,3 – 152,3)		148,0 (91,0 – 208,3)	
IL-18	Covid-19 Negativo	420,2 (318,7 – 521,8)	0,845 ^a	394,9 (293,3 – 456,4)	0,366 ^a	394,9 (344,1 – 490,0)	0,664 ^a
	Covid-19 Positivo	394,9 (297,7 – 496,4)		420,2 (303,4 – 540,8)		369,5 (318,7 – 483,7)	
Apo A-I	Covid-19 Negativo	162,3 (139,2 – 187,7)	0,047^a	148,0 (126,9 – 170,8)	0,603 ^a	150,8 (131,9 – 175,0)	0,358 ^a

	Covid-19 Positivo	142,4 (108,6 – 179,8)		151,0 (124,7 – 171,2)		128,9 (124,4 – 184,2)	
Apo B	Covid-19 Negativo	84,1 ± 19,1	0,407 ^b	81,3 ± 21,9	0,310 ^b	85,7 ± 22,2	0,945 ^b
	Covid-19 Positivo	80,6 ± 22,2		76,9 ± 22,8		85,1 ± 21,2	
Apo B/Apo A-I	Covid-19 Negativo	0,54 (0,41 – 0,62)	0,315 ^a	0,54 (0,44 – 0,66)	0,204 ^a	0,61 (0,47 – 0,65)	0,549 ^a
	Covid-19 Positivo	0,56 (0,43 – 0,73)		0,49 (0,41 – 0,62)		0,56 (0,44 – 0,81)	

^a Teste U de Mann-Whitney e ^b Teste t não pareado. CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos; IL-18 – Interleucina 18; Apo AI – Apolipoproteína AI; Apo B – Apolipoproteína B.

Tabela 7 – Comparação dos parâmetros laboratoriais segundo a dominância do alelo polimórfico G no SNP rs187238.

Parâmetros	COVID-19 Negativo			COVID-19 Positivo		
	Sem G (CC)	Com G (GG/CG)	<i>p</i>	Sem G (CC)	Com G (GG/CG)	<i>p</i>
	N = 66	N = 93		N = 34	N = 56	
CT	203,5 (160,7 – 239,0)	190,0 (160,0 – 237,5)	0,652 ^a	185,5 (152,5 – 222,0)	183,0 (150,2 – 210,0)	0,555 ^a
HDL-c	51,0 (44,0 – 59,2)	52,0 (43,5 – 60,0)	0,560 ^a	44,5 (36,0 – 55,5)	48,0 (39,0 – 59,0)	0,511 ^a
LDL-c	123,5 (83,6 – 154,1)	110,0 (85,0 – 155,0)	0,732 ^a	106,2 (81,9 – 129,4)	108,0 (73,9 – 128,9)	0,881 ^a
Não-HDL-c	154,0 (113,5 – 181,0)	137,0 (114,0 – 186,0)	0,701 ^a	136,5 (101,5 – 177,0)	132,0 (93,7 – 160,2)	0,514 ^a
TG	116,5 (90,7 – 207,7)	135,0 (76,5 – 197,5)	0,477 ^a	142,0 (78,0 – 228,0)	116,0 (74,2 – 162,2)	0,378 ^a
IL-18	407,5 (310,3 – 524,9)	394,8 (317,3 – 471,0)	0,557 ^a	394,8 (297,7 – 496,3)	407,5 (316,6 – 521,6)	0,877 ^a
Apo A-I	162,5 (137,6 – 186,8)	149,6 (131,3 – 172,4)	0,074 ^a	142,3 (108,5 – 179,7)	145,5 (124,4 – 171,2)	0,405 ^a
Apo B	82,6 ± 18,6	83,6 ± 22,1	0,770 ^b	80,5 ± 22,1	78,7 ± 22,6	0,706 ^b
Apo B/Apo A-I	0,53 (0,42 – 0,61)	0,56 (0,45 – 0,66)	0,124 ^a	0,56 (0,42 – 0,72)	0,52 (0,42 – 0,67)	0,347 ^a

^a Teste U de Mann-Whitney e ^b Teste t não pareado. CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos; IL-18 – Interleucina 18; Apo AI – Apolipoproteína AI; Apo B – Apolipoproteína B.

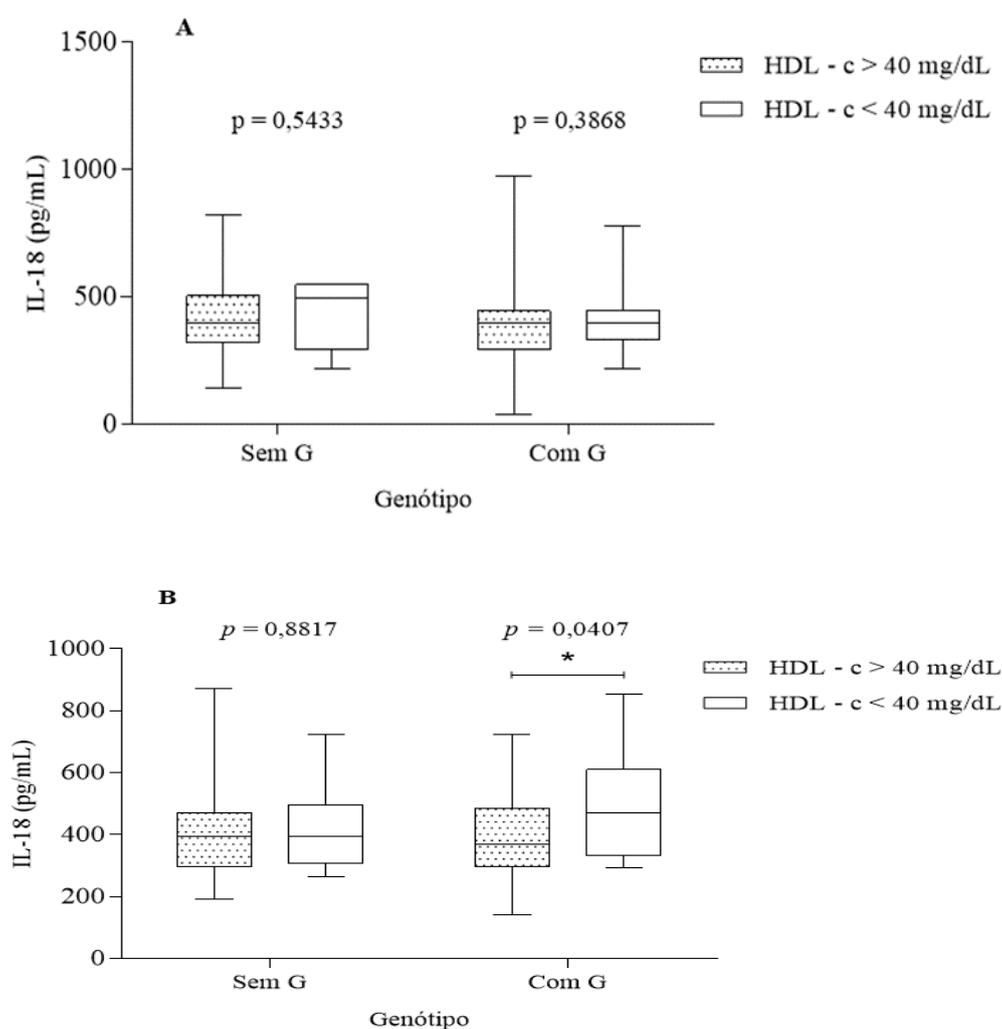
Tabela 8 – Comparação dos parâmetros laboratoriais segundo a recessividade do alelo G no SNP rs187238.

Parâmetros	COVID-19 Negativo			COVID-19 Positivo		
	Sem C (GG)	Com C (CC/CG)	<i>p</i>	Sem C (GG)	Com C (CC/CG)	<i>p</i>
	N = 20	N = 139		N = 12	N = 78	
CT	171,5 (146,0 – 237,7)	201,0 (162,0 – 239,0)	0,250 ^a	192,5 (163,7 – 226,0)	183,0 (149,5 – 217,7)	0,447 ^a
HDL-c	49,0 (44,0 – 54,7)	52,0 (44,0 – 60,0)	0,598 ^a	43,0 (37,5 – 52,5)	48,0 (37,7 – 59,0)	0,541 ^a
LDL-c	97,6 (76,8 – 152,3)	119,6 (87,6 – 154,6)	0,384 ^a	117,3 (68,9 – 155,1)	103,6 (76,9 – 127,8)	0,518 ^a
Não-HDL-c	121,0 (95,7 – 191,7)	148,0 (115 – 180,0)	0,192 ^a	140,5 (97,2 – 181,5)	134,0 (96,7 – 164,2)	0,606 ^a
TG	119,5 (78,7 – 171,5)	128,0 (81,0 – 206,0)	0,477 ^a	148,0 (91,0 – 208,2)	111,0 (76,7 – 200,0)	0,307 ^a
IL-18	394,8 (344,0 – 496,3)	394,0 (315,9 – 496,3)	0,753 ^a	369,4 (318,7 – 386,3)	394,8 (299,1 – 502,7)	0,605 ^a
Apo A-I	152,1 (132,5 – 175,0)	153,0 (132,4 – 181,8)	0,942 ^a	128,8 (124,4 – 184,2)	146,1 (119,2 – 172,5)	0,803 ^a
Apo B	81,1 ± 24,7	83,5 ± 20,1	0,691 ^b	81,1 ± 21,2	78,5 ± 22,4	0,334 ^b
Apo B/Apo A-I	0,51 (0,42 – 0,63)	0,54 (0,43 – 0,64)	0,620 ^a	0,56 (0,44 – 0,80)	0,42 (0,34 – 0,53)	0,361 ^a

^a Teste U de Mann-Whitney e ^b Teste t não pareado. CT – Colesterol Total; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c – colesterol de lipoproteína de baixa densidade; Não HDL-c – colesterol não lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos; IL-18 – Interleucina 18; Apo AI – Apolipoproteína AI; Apo B – Apolipoproteína B.

Após comparar os parâmetros do metabolismo lipídico entre os grupos de acordo com o genótipo rs187238 da IL-18 e ter verificado a associação do HDL-c entre os dois grupos de Covid-19, buscou-se estabelecer uma associação dentro de cada grupo entre HDL-c (≥ 40 mg/dL e < 40 mg/dL) e níveis de IL-18, comparados de acordo com a presença do alelo polimórfico G. Ao analisar os dados, constatou-se que pacientes com níveis mais baixos de HDL -c < 40 mg/dL e portadores de alelos G com Covid-19 apresentaram níveis mais elevados de IL-18 ($p = 0,0407$) (Figura 16, painel B). O mesmo não aconteceu no grupo de pacientes sem Covid-19 (Figura 16, gráfico A).

Figura 16 – Associação entre os níveis de HDL-c e SNP rs187238 na concentração de IL-18.



Teste U de Mann-Whitney; Gráfico A – pacientes sem Covid-19; Gráfico B – pacientes com Covid-19; HDL-c – Colesterol de lipoproteína de alta densidade; IL-18 – Interleucina 18.

6. DISCUSSÃO

A Covid-19 é uma doença viral que provoca uma série de sintomas e complicações que pode variar amplamente de pessoa para pessoa. O sistema imunológico em resposta ao SARS-CoV-2, libera citocinas e quimiocinas (tempestade de citocinas) que, em resposta intensa, pode levar a uma inflamação generalizada do trato respiratório ou disfunção sistêmica de múltiplos órgãos. Dentre os sistemas orgânicos, o sistema cardiovascular é o principal envolvido com os eventos adversos que levam às complicações e piores desfechos, visto que é um sistema susceptível a disfunção do sistema imune durante a progressão da Covid-19. No Brasil, a mortalidade por doença cardiovascular em 2020 teve um aumento de 13,3%; isso nos leva a associar que a Covid-19 é uma doença que pode levar o indivíduo a desenvolver sérios problemas cardíacos, como lesão miocárdica, arritmia, infarto, insuficiência cardíaca, miocardite e pericardite (Armstrong *et al.*, 2022; Cesena, 2022; Souza *et al.*, 2023). Além disso, fatores relacionados a idade avançada, imunossupressão e comorbidades como diabetes, hipertensão e obesidade, tem levado muitos pacientes a um estágio mais grave e crítico na Covid-19 (Fauci *et al.*, 2020; Tagarro *et al.*, 2020; Galvão *et al.*, 2020; Zhang JJ *et al.*, 2022). Desta forma, compreender os mecanismos fisiopatológicos, bem como os fatores genéticos e ambientais que influenciam no prognóstico da Covid-19, tem se mostrado imprescindível para entender melhor o curso da doença.

Este estudo avaliou uma população predominantemente do sexo feminino com idade média de 40,29 anos, resultados que corroboram com os dados epidemiológicos divulgado em maio de 2023 pela Secretaria de Saúde do Ceará, no qual a maioria dos casos confirmados de Covid-19 foi representado pelo sexo feminino (60,2%) com faixa etária 30 a 39 anos (22,9%) (Ceará, 2023). Os pacientes com Covid-19 apresentaram sobrepeso e estiveram associados a níveis séricos mais baixos dos parâmetros laboratoriais do metabolismo lipídico, tais como CT e HDL-c, além de uma alta frequência de indivíduos com o HDL-c fora dos valores de referência estabelecidos. Em relação ao biomarcador inflamatório, foi realizado uma comparação dos níveis séricos de IL-18 entre os grupos, porém não houve diferença estatística, pois pacientes do grupo sem Covid-19 apresentavam síndrome respiratória, o que pode ter contribuído para o aumento dos níveis séricos dessa citocina no grupo. A IL-18 é uma citocina pró-

inflamatória produzida pelos macrófagos em resposta as infecções virais, níveis elevados desta citocina estão associados a uma resposta inflamatória mais acentuada (Faludi *et al.*, 2017; Coutinho *et al.*, 2022; Cerato *et al.*, 2023).

Apesar de não ter evidenciado diferença nos níveis séricos da IL-18 entre os grupos, ao correlacioná-lo com os parâmetros do metabolismo lipídico, verificou-se uma correlação negativa com o HDL-c e positiva com a relação Apo B/ApoA-I em pacientes com Covid-19, indicando que a IL-18 está associada a um perfil lipídico mais aterogênico. Em relação ao polimorfismo rs187238 da IL-18, foi verificado que as frequências entre os grupos atendiam ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para uma população mendeliana. Esse equilíbrio permite verificar se a seleção natural ou outros fatores evolutivos estão influenciando uma determinada população. Por meio da equação do EHW, determinou-se a configuração genética (frequência de um alelo ou genótipo) de uma população que não está sofrendo evolução ao longo do tempo (Oliveira *et al.*, 2021). Após verificar que não houve diferença nos parâmetros laboratoriais entre os genótipos dentro de cada grupo, quando analisado se esses parâmetros apresentavam diferença para o mesmo genótipo entre os grupos, observou-se que pacientes com genótipos CC estariam associados a uma redução de HDL-c e ApoA-I quando acometidos com Covid-19.

Evidências científicas crescentes confirmam que a resposta imune desempenha um papel crucial na fisiopatologia da Covid-19, causada pelo SARS-CoV-2. A infecção pelo vírus desencadeia uma série de eventos no sistema imunológico, e a resposta pode variar de pessoa para pessoa. Alguns pacientes desenvolvem uma resposta imunológica hiperativa, conhecida como tempestade de citocinas ou síndrome de liberação de citocinas, evento que se refere a uma resposta imunológica desregulada do organismo que resulta na liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, acompanhada por uma resposta fraca de interferon (IFN). As citocinas pró-inflamatórias são proteínas sinalizadoras do sistema imunológico, secretadas por células Th1 e monócitos que desempenham papéis importantes na regulação da resposta imune e quando em excesso, pode levar o indivíduo a um estado inflamatório persistente (Hu *et al.*, 2021). Desta forma, justifica-se o aumento de IL-18 neste grupo de pacientes.

A inflamação é parte crucial do sistema de defesa do corpo. Quando há produção excessiva de mediadores químicos inflamatórios no organismo, isto leva à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) como parte da resposta imunológica.

As ERO são compostos químicos oxidantes resultantes da ativação ou redução do oxigênio molecular, como superóxido e peróxido de hidrogênio, radicais livres gerados durante vários processos celulares e desempenham um papel essencial na resposta imunológica a combater infecções causadas por diferentes patógenos, como vírus (Barbosa *et al.*, 2010; Gain *et al.*, 2023).

Em condições normais, o corpo consegue controlar a produção de ERO. Entretanto, quando ocorre desequilíbrio entre a produção de compostos oxidantes e a sua remoção através de sistemas que os removam ou reparem os danos por eles causados em situações de estresse oxidativo durante uma resposta inflamatória, a produção de ERO pode aumentar significativamente causando peroxidação lipídica, dano ao DNA e disfunção endotelial (Barbosa *et al.*, 2010; Montiel *et al.*, 2022). O endotélio desempenha um papel crucial na regulação da coagulação, dilatação e contração dos vasos sanguíneos. Quando ocorre dano endotelial induzido por ERO, uma série de consequências prejudiciais pode acontecer ao tecido vascular, como aumento da permeabilidade, predisposição a formação de coágulos e de placas ateroscleróticas (Barbosa *et al.*, 2010; Ekholm *et al.*, 2021; Gain *et al.*, 2023).

Na Covid-19, a hiperinflamação pode levar a um aumento no estresse oxidativo, quando ele é persistente pode contribuir para a perpetuação da inflamação. Esse ciclo pode influenciar significativamente em diversos processos metabólicos, sobretudo no metabolismo lipídico, que envolve processos como lipólise, lipogênese e beta-oxidação. É importante ressaltar que os lipídios são moléculas que desempenham vários papéis biológicos, desde um bloco de construção estrutural até uma molécula sinalizadora, bem como no armazenamento central de energia. Na Covid-19, essas moléculas exercem funções importantes na infecção viral, podendo atuar como receptores diretos e indiretos, assim como cofatores de entrada para internalização do SARS-CoV-2. Durante esse processo, o vírus compromete a síntese lipídica e a sinalização para modificar o metabolismo das células hospedeiras e produzir lipídios para seus envelopes. Entretanto, esse mecanismo tem levado a diversas complicações, como disfunção mitocondrial e estresse oxidativo, induzindo a peroxidação lipídica (Abu-Farha *et al.*, 2020; Montiel *et al.*, 2022; Gain *et al.*, 2023).

A peroxidação lipídica é um processo no qual os lipídios são danificados por ERO. Quando ocorre a oxidação dos lipídios, são formados compostos reativos como os

aldeídos, que comprometem a integridade da membrana celular e alteram a funcionalidade de partículas envolvidas no metabolismo lipídico (Lima *et al.*, 2004; França *et al.*, 2013; Durrington *et al.*, 2023).

Avaliar o perfil lipídico pode ser determinante para entender a fisiopatologia de doenças do sistema cardiovascular e essencial para guiar o tratamento e proteger o sistema contra infecções virais. Dentre as moléculas de interesse nos estudos estão lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas, importantes partículas aterogênicas e antiaterogênicas envolvidas no desenvolvimento e proteção de doenças cardiovasculares (Feingold, 2022).

Em uma meta-análise realizada com 22 estudos de base hospitalar nos anos 2020 e 2021, em que os pacientes foram agrupados de acordo com as concentrações lipídicas, gravidade da Covid-19 e status de sobrevivência, revelou que indivíduos com níveis reduzidos de CT, LDL-C, HDL-C e elevados de triglicérides pertenciam ao grupo de pacientes com maior gravidade da doença, ou seja, indicando que o perfil lipídico está significativamente associado à gravidade e mortalidade na Covid-19 (Zinellu *et al.*, 2021). Além disso, risco aumentado de morte também foi inversamente relacionado aos níveis de apolipoproteína A1 (ApoA-I) de pacientes com Covid-19 (Hilser *et al.*, 2021). Outros estudos também têm relatado que níveis séricos reduzidos de CT e HDL-C não estariam apenas associados a infecção de pacientes, mas passariam a ser importantes preditores de mau prognóstico para pacientes com Covid-19 (Fan *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020; Ressaire *et al.*, 2020; Begue *et al.*, 2021). Esses resultados corroboram com os dados do presente estudo, pois também foi observado níveis reduzidos de CT e HDL-c de pacientes com Covid-19.

Embora haja poucas informações sobre o mecanismo pelos quais as infecções causadas pelo SARS-CoV-2 alteram o perfil lipídico, estudos têm relatado que essas alterações podem resultar de: lesões hepáticas; liberação de citocinas pró-inflamatórias induzidas pela infecção viral, que modulam o metabolismo lipídico, como a oxidação de pequenas partículas densas de LDL, tornando-as mais propensas a aumentarem e se acumularem nas paredes das artérias; e através do aumento da permeabilidade vascular, onde altos níveis de proteína e colesterol são encontrados em fluidos exsudativos provenientes da inflamação gerada pela Covid-19 (Shor *et al.*, 2007; Tian *et al.*, 2020; Fan *et al.*, 2020). Os mecanismos que poderiam explicar os níveis séricos reduzidos da

HDL ainda não estão totalmente esclarecidos, algumas hipóteses subjagam que durante a infecção induzida pelo SARS-CoV-2 essa diminuição seja multifatorial, podendo variar dependendo da gravidade da infecção, do momento das medições e das variáveis do hospedeiro (Khovidhunkit *et al.*, 2004; Feingold, 2023).

As partículas de HDL são frequentemente reconhecidas por seu papel na remoção do excesso de colesterol do corpo, conhecido como transporte reverso de colesterol (TRC). Essa via estabelece o transporte do excesso de colesterol dos macrófagos espumosos, das células musculares lisas e dos tecidos periféricos para o fígado para excreção na bile ou conversão em ácidos biliares (Chiesa *et al.*, 2019; Ouimet *et al.*, 2019). Além do seu papel antiaterogênico, a HDL apresenta efeitos anti-inflamatórios, suprimindo a inflamação das células endoteliais para melhorar sua função celular e reduz ativação de monócitos/macrófagos, bem com seu recrutamento para locais de inflamação (Lotfollahi *et al.*, 202; Endo *et al.*, 2023; Trakaki *et al.*, 2021).

Como atividade antioxidante, a função da HDL é remover o hidroperóxido lipídico (LOOH) e os fosfolípidos oxidados (oxPL) da lipoproteína de baixa densidade oxidada (oxLDL). Por exemplo, hidrolases associadas ao HDL, como a paraoxonase 1 (PON1) ligada à ApoA-1, reduz a peroxidação lipídica e inibe a oxidação do LDL (Brites *et al.*, 2017; Mackness *et al.*, 1991; Endo *et al.*, 2023). Além capacidade de proteger as células contra os efeitos dos radicais livres, a HDL também possui funções antitrombóticas, que modulam a atividade plaquetária e as cascatas de coagulação, afetando a Proteína C e a Proteína S, componentes importantes de um sistema anticoagulante plasmático natural (Van *et al.*, 2014).

Vários mecanismos de alterações na funcionalidade da HDL predizem gravidade na Covid-19. A baixa produção de Apo A-I, LCAT, ABCA1 e ABCG1 levaria a redução no acúmulo de ésteres de colesterol na HDL durante o TRC (Feingold, 2023). Contudo, o aumento na lipase das células endoteliais e fosfolipase A2 secretora do grupo IIA (sPLA2-IIA), enzima essencial que participa da via inflamatória, pode levar ao aumento do catabolismo da HDL (Tan *et al.*, 2017; Reisinger *et al.*, 2021; Feingold, 2023). Outra hipótese sugere que a proteína amilóide A sérica (SAA), uma proteína de fase aguda (PFA), pode modular o metabolismo da HDL, impedindo a função protetora da molécula contra processos inflamatórios induzidos pelo SARS-CoV-2 (Ernst *et al.*, 1993; Feingold, 2023).

Neste estudo não foi observado diferença nos níveis de ApoA-I entre os grupos. No entanto, pacientes com Covid-19 apresentaram valores mais reduzidos dessa apolipoproteína. É importante ressaltar que ApoA-I constitui a principal parte proteica da HDL regulando o transporte e o metabolismo do colesterol, sendo sintetizada e secretada pelos retículos endoplasmáticos hepáticos e intestinais como uma pré-proteína (conhecida pró-apoA-I), no plasma é convertida a ApoA-I pela proteína morfogenética óssea 1 (Bhale; Venkataraman, 2022; Mehta; Shapiro, 2022). A ApoA-I apresenta função importante no TRC, atribuindo a HDL atividade ateroprotetora e, quando reduzida, pode estar associada ao desfecho de pacientes com sepse e síndrome do desconforto respiratório agudo induzida por pneumonia, bem como a pacientes gravemente enfermos (Zhu Z *et al.*, 2021).

Além da função antiaterogênica da ApoA-I, uma série de outras atividades benéficas foram recentemente identificadas. Propriedades antiapoptóticas, antitrombóticas e anti-inflamatórias são algumas das atividades dessa apolipoproteína que conferem à HDL, características imunoreguladoras e cardioprotetoras (Bhale; Venkataraman, 2022). Dada essa estreita relação entre a apoA-I e o número de partículas de HDL, avaliar as alterações séricas dessa apolipoproteína, pode ser um fator de proteção importante para a gravidade na Covid-19, visto que níveis baixos foram associados a maiores chances de desenvolver DCV após infecção pelo SARS-CoV-2 (Ulloque-Badaracco *et al.*, 2021; Hilser *et al.*, 2021).

A relação ApoB/ApoA-I é um forte e importante fator de risco para DCV (McQueen *et al.*, 2008; Catapano *et al.*, 2017). Estudo realizado com pacientes indianos com infarto agudo do miocárdio (IAM) demonstrou que a relação ApoB/ApoA-I representa um preditor de risco de doença arterial coronariana (DAC) melhor do que outras razões lipídicas convencionais, como a razão CT/HDL-C e LDL/HDL-C (Goswami *et al.*, 2008). Recentemente, essa razão foi avaliada como indicador de prognóstico de gravidade em pacientes com Covid-19, visto que, essa relação reflete melhor o equilíbrio do metabolismo lipídico entre partículas com funções pró-aterogênicas e antiaterogênicas e o estado inflamatório (Ulloque-Badaracco *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2023; Mehta; Shapiro, 2022; Li *et al.*, 2023).

Neste contexto, alguns estudos vêm demonstrando uma correlação positiva entre a relação ApoB/ApoA-I com o estado inflamatório de algumas doenças. Como foi

observado em um trabalho realizado por Wang *et al.* (2022), em que realizaram um estudo prospectivo com 288 pacientes psoriáticos, em que observaram uma correlação positiva entre os níveis séricos da proteína C reativa (PCR) e a relação ApoB/ApoA-I. Do mesmo modo foi observado em um estudo realizado por Ohman *et al.* (2014), em que níveis aumentados dessa relação preveem eventos cardiovasculares futuros em pacientes com artrite reumatoide. Dados que reforçam os resultados encontrados nesta pesquisa, em que a IL-18, importante mediador inflamatório, foi correlacionado positivamente com a relação ApoB/ApoA-I em pacientes com Covid-19.

A relação entre a IL-18 e o HDL-C pode estar associada a diferentes condições patológicas. Estudos têm correlacionado negativamente os níveis séricos de IL-18 com os níveis plasmáticos do HDL-C, ou seja, quanto maior os níveis de IL-18, menor os níveis do HDL-C (Hung *et al.*, 2005; Kozacova *et al.*, 2019; Masana *et al.*, 2021; Feingold. 2022). Assim foi demonstrado em um estudo prospectivo realizado por Blankenberg *et al.* (2002) com 1.229 pacientes com DAC, em que os níveis séricos circulantes de IL-18 dosados durante 4 anos estariam negativamente correlacionados com os níveis séricos do HDL-C, resultado que corrobora com o observado no presente estudo.

As citocinas são mediadores químicos que estão diretamente envolvidas nas respostas aos estímulos antigênicos durante os avanços da patogênese viral, visto que a infecção pode induzir, de forma exacerbada, a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-18 (Hawerkamp *et al.*, 2023). Estudos relatam que níveis séricos elevados dessa interleucina estão correlacionados com a gravidade de várias doenças virais, como influenza A, dengue e HIV (Alvarez *et al.*, 2023; Nanda *et al.*, 2021; Poveda *et al.*, 2023). Um estudo clínico realizado com 25 pacientes (1 a 14 anos) com diagnóstico clínico de dengue, em que foram avaliados os níveis séricos de ferritina e IL-18, demonstrou que ambos os biomarcadores foram associados à gravidade da doença, visto que os níveis dessas moléculas aumentavam conforme a evolução clínica dos pacientes (Valero *et al.*, 2019).

Neste contexto, percebe-se que a evolução clínica nas infecções virais pode ser determinada com base no perfil imunológico de cada paciente. Entretanto, correlacionar os níveis séricos de IL-18 com o estado mais grave da Covid-19 vem sendo bastante relatado por alguns estudos durante a pandemia (Volfovitch *et al.*, 2022; Marino *et al.*, 2023). Essa correlação é demonstrada em um estudo transversal realizado com 78

pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, internados em uma unidade de terapia intensivo do Instituto Dr. José Frota (IJF), hospital de referência para Covid-19 em Fortaleza-CE, durante o período de 2020 e 2021, no qual foram analisadas 25 citocinas. Diante dos resultados, pode-se observar que níveis mais elevados de IL-18 estão associados a um curso mais grave da doença, indicando um mau prognóstico para pacientes com Covid-19 (Coutinho *et al.*, 2022).

Desse modo, isso é visto com grande preocupação, pois embora não tenha sido encontrada diferença nos níveis plasmáticos da IL-18 entre os grupos, é importante ressaltar que os pacientes de ambos os grupos se encontravam com síndrome gripal. Entretanto, alguns estudos têm relatado que a IL18, assim como na Covid-19, também pode estar envolvida na resposta imunológica de outras infecções respiratórias virais, como Influenza A (H1N1 e H3N2) e B, Vírus Sincicial Respiratório (VSR), Rinovírus e Adenovírus, agentes virais que também provocam síndromes gripais e que estavam co-circulando durante a pandemia da Covid-19 no Estado do Ceará, segundo informações do boletim epidemiológico da secretaria de saúde do Estado do Ceará (SESA-CE) (Puthothu *et al.*, 2007; Nielsen *et al.*, 2016; Morris *et al.*, 2021; MUDD *et al.*, 2020; KARABA *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2021; Provine *et al.*, 2022; Ceará, 2024).

A variabilidade interindividual na progressão clínica da Covid-19 pode ser explicada pelo comportamento genético do hospedeiro, influenciando qualitativamente e quantitativamente a produção de diferentes citocinas (Choudhri *et al.*, 2023). O perfil imunogenético vem sendo estudado em pacientes com Covid-19, pois as variações genéticas associadas à resposta inflamatória mediada por citocinas podem ser responsáveis por exacerbar a inflamação e agravar a patogênese da doença (Vakil *et al.*, 2022). Um estudo realizado com 240 pacientes Sauditas hospitalizados com Covid-19 entre 2020 e 2021, avaliou os polimorfismos de nucleotídeo único localizados em genes promotores da IL-6 (rs1800795, G/C) e IL-8 (rs2227306, C/T), citocinas pró-inflamatórias, em que o genótipo polimórfico “GG” para IL-6 e “CC” para IL-8 foram relacionados com a gravidade e mau prognóstico da doença e pacientes portadores do alelo selvagem “C” da IL-6 e “T” da IL-8 estão mais protegidos da Covid-19 (Ghazy *et al.*, 2023).

Diante do exposto, avaliar polimorfismo genético em citocinas pró-inflamatórias pode contribuir para uma melhor avaliação prognóstica dos pacientes com

Covid-19. Portanto, mediante uma doença com uma multiplicidade de desfechos clínicos, como a Covid-19, avaliar alterações gênicas na IL-18 pode auxiliar no prognóstico e manejo desses pacientes, como o desenvolvimento de doenças vasculares (Lian *et al.*, 2019; Zheng; Chen; Lin, 2021). O presente trabalho avaliou a frequência do polimorfismo rs187238 no gene da IL-18 e o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi analisado com o objetivo de verificar a ocorrência de segregação mendeliana.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg é a base da genética de populações e foi descrito pelo matemático inglês Godfrey H. Hardy e o médico alemão Wilhelm Weinberg, em 1908. Para os pesquisadores, se não houvesse fator evolutivo atuando sobre uma população que satisfizesse determinadas condições, as frequências de seus alelos permaneceriam inalteradas ao longo das gerações (Oliveira *et al.*, 2021).

Estudos têm avaliado a expressão e a influência do polimorfismo rs187238 em várias doenças. Assim foi observado em um trabalho realizado por Bazgir *et al.* (2018) com 160 pacientes diagnosticados com doença arterial coronariana (DAC), onde verificou-se a influência do polimorfismo rs187238 nos níveis séricos da IL-18 e na incidência de DAC. Da mesma forma também foi verificado a influência desse polimorfismo em doenças como AVC, vasculite, LRA, síndrome metabólica e na mortalidade de pacientes com outras doenças cardiovasculares (Cavalcante *et al.*, 2020; Jung *et al.*, 2020; Suazo *et al.*, 2014; Kadi *et al.*, 2021). Esse mesmo polimorfismo foi avaliado no presente trabalho, portanto os resultados apresentados podem contribuir para o entendimento da fisiopatologia envolvida nas complicações cardíacas relatadas em estudos anteriores, sugerindo o perfil imunológico como um determinante importante dos desfechos clínicos de pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2.

É importante destacar que a IL-18 foi originalmente identificada como sendo uma molécula indutora de interferon gama (IFN- γ), citocina responsável por potencializar a resposta inflamatória em várias doenças, sobretudo em DCV (Tenger *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2019). Em um estudo realizado por Giedraitis *et al.* (2001) avaliaram a presença e a influência do polimorfismo rs187238 no gene promotor da IL-18 e correlacionaram positivamente a expressão de IL-18 com os níveis de IFN- γ em pacientes portadores do alelo G. Diante do exposto, os parâmetros bioquímicos avaliados no presente estudo podem sofrer influência de outros mediadores inflamatórios, correlacionados com a IL-18, como é o caso do IFN- γ , uma molécula reguladora do sistema imune, que se destaca

pela capacidade de produzir alterações degenerativas nas paredes das artérias, determinando um pior desfecho clínico para o paciente.

Embora o polimorfismo rs187238 localizado na região promotora não resulte em mudança estrutural da IL-18 após tradução, estudos ligam polimorfismos nesta região à regulação dos níveis séricos desta interleucina e ao comprometimento do sistema cardiovascular (Giedraitis *et al.*, 2001; Hoseine *et al.*, 2018; Ivanski *et al.*, 2022). Ansari *et al.* (2017), em seu estudo avaliando o polimorfismo rs187238 na região promotora da IL-18, relataram que o SNP estava associado à regulação dos níveis séricos de IL-18 em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e que foi significativamente mais elevado em pacientes com genótipos GG. Esses resultados corroboram com pesquisas publicadas recentemente por Dong *et al.* (2017), em que o genótipo GG do polimorfismo rs187238 influenciou nos níveis séricos da IL-18, tornando-o um fator de risco significativo para doença coronariana em pacientes asiáticos.

No presente estudo, não foi observado efeito do polimorfismo rs187238 nas concentrações plasmáticas de IL-18 quando esta variável foi analisada de forma independente. Porém, ao comparar essa citocina com os níveis de HDL-C, pode-se observar que pacientes com alelos polimórficos G e baixos níveis de HDL-C quando acometidos pela Covid-19 apresentaram níveis mais elevados de IL-18. Resultados semelhantes foram relatados por Suazo *et al.* (2014) após realizarem um estudo transversal em crianças obesas no Chile e observarem uma correlação negativa entre o polimorfismo rs187238 e baixos níveis de HDL (< 40 mg/dL). Portanto, isso sugere uma relação dependente entre essas variáveis, na qual a composição lipídica pode determinar a resposta imunoinflamatória de pacientes com Covid-19. Desse modo, conhecendo as propriedades anti-inflamatórias da HDL, níveis baixos desta lipoproteína podem piorar a inflamação dos pacientes após infecção pelo SARS-CoV-2.

O trabalho realizado apresenta limitações relacionadas a fatores pré-analíticos, pois no momento da coleta os participantes do estudo podem ter se alimentado recentemente, uma vez que o jejum não pôde ser orientado com antecedência, podendo ter influenciado os resultados do perfil lipídico avaliado no estudo. Além disso, por se tratar de um estudo transversal, a avaliação ocorreu apenas nas fases iniciais da doença, não sendo possível monitorar a evolução clínica e os desfechos dos pacientes acometidos pela Covid-19. Porém, o esse estudo é de grande relevância, pois avalia a influência da

composição genética de uma população heterogênea atendida em uma unidade básica de referência, estudando a associação das variações genéticas com a fisiologia da Covid-19.

Juntos, os resultados do presente estudo sugerem que o perfil inflamatório de pacientes com Covid-19 pode ser influenciado pelo perfil genético e lipídico. Através destes resultados pretende-se contribuir para a sociedade científica na compreensão da fisiologia relacionada com a Covid-19, através da identificação de fatores preditivos de mau prognóstico, proporcionando assim para o manejo individualizado destes pacientes.

7. CONCLUSÃO

Diante do exposto, concluiu-se que as pessoas com Covid-19 apresentaram níveis mais baixos de CT e HDL-c em comparação aos parâmetros laboratoriais do perfil lipídico do grupo de pessoas sem Covid-19. Além disso, ao comparar esses parâmetros com os níveis séricos de IL-18, foi possível observar uma correlação negativa entre os níveis de IL-18 e HDL-c em pacientes com Covid-19. Por fim, ao analisar o efeito do polimorfismo genético rs187238 nos níveis de IL-18, foi possível observar que indivíduos acometidos pela Covid-19, portadores do alelo polimórfico e com baixos níveis de HDL-c, apresentam níveis mais elevados de IL-18.

Portanto, o estado inflamatório das pessoas com Covid-19 pode ser influenciado por fatores genéticos e pelos níveis de HDL-c, o que é um achado importante para a compreensão da fisiopatologia desta doença. Estudos adicionais envolvendo diferentes populações e diferentes perfis genéticos podem complementar os resultados aqui apresentados, a fim de contribuir para o cuidado individualizado dos pacientes com Covid-19, por meio da identificação de preditores clínicos de mau prognóstico.

REFERÊNCIAS

- ABU-FARHA, M. *et al.* The Role of Lipid Metabolism in COVID-19 Virus Infection and as a Drug Target. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 10, p. 3544, 17 maio 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21103544>.
- ALVAREZ, F. *et al.* IL-18 is required for the TH1-adaptation of TREG cells and the selective suppression of TH17 responses in acute and chronic infections. **Mucosal Immunology**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 462-475, ago. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mucimm.2023.05.004>.
- ANNEMA, W.; ECKARDSTEIN, A. V. Dysfunctional high-density lipoproteins in coronary heart disease: implications for diagnostics and therapy. **Translational Research**, v. 173, p. 30-57, jul. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2016.02.008>.
- ANSARI, W. M. *et al.* Influence of cytokine gene polymorphisms on proinflammatory/anti-inflammatory cytokine imbalance in premature coronary artery disease. **Postgraduate Medical Journal**, [S.L.], v. 93, n. 1098, p. 209-214, 24 ago. 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1136/postgradmedj-2016-134167>.
- APARISI, Á. *et al.* Dyslipidemia and Inflammation as Hallmarks of Oxidative Stress in COVID-19: a follow-up study. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 23, p. 15350, 5 dez. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232315350>.
- ARCANJO, A. *et al.* The emerging role of neutrophil extracellular traps in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (COVID-19). **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-11, 12 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-76781-0>.
- ARMSTRONG, A. C. *et al.* Excesso de Mortalidade Hospitalar por Doenças Cardiovasculares no Brasil Durante o Primeiro Ano da Pandemia de COVID-19. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 119, p. 37-45, 24 maio 2022. Sociedade Brasileira de Cardiologia. <http://dx.doi.org/10.36660/abc.20210468>.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 629-643, ago. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732010000400013>.
- BAYNES D. Medical Biochemistry. Saunders, **Elsevier Limited**. [S.l.: s.n.] pp. 121–122. 2014. ISBN 978-1-4557-4580-7.
- BAZGIR, A. *et al.* Association of interleukin-18 gene promoter polymorphisms with coronary artery disease in northern Iranian population. **Meta Gene**, [S.L.], v. 16, p. 1-4, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mgene.2018.01.001>.

- BEGUE, Florian *et al.* Altered high-density lipoprotein composition and functions during severe COVID-19. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, 2291, 27 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-81638-1>.
- BESLER, C. *et al.* Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. **Journal of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 121, n. 7, p. 2693-2708, 1 jul. 2011. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci42946>.
- BHALE, A. S. *et al.* Leveraging knowledge of HDLs major protein ApoA1: structure, function, mutations, and potential therapeutics. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 154, p. 113634, out. 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113634>.
- BIRRA, D. *et al.* Covid-19: a clue from innate immunity. **Immunologic Research**, [S.L.], v. 68, n. 3, p. 161-168, jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12026-020-09137-5>.
- BLANKENBERG, S. *et al.* Interleukin-18 Is a Strong Predictor of Cardiovascular Death in Stable and Unstable Angina. **Circulation**, [S.L.], v. 106, n. 1, p. 24-30, 2 jul. 2002. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000020546.30940.92>.
- BLANKENBERG, Stefan *et al.* Interleukin-18 and the Risk of Coronary Heart Disease in European Men. **Circulation**, [S.L.], v. 108, n. 20, p. 2453-2459, 18 nov. 2003. <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000099509.76044.a2>.
- BOELTZ, S. *et al.* To NET or not to NET: current opinions and state of the science regarding the formation of neutrophil extracellular traps. **Cell Death & Differentiation**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 395-408, 8 jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41418-018-0261-x>.
- BONOW, R. O. *et al.* Association of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) With Myocardial Injury and Mortality. **Jama Cardiology**, [S.L.], v. 5, n. 7, p. 751, 1 jul. 2020. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jamacardio.2020.1105>.
- BORDALLO, B. *et al.* Severe COVID-19: what have we learned with the immunopathogenesis? **Advances In Rheumatology**, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 1-13, 22 set. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s42358-020-00151-7>.
- BRASIL, M. D. SAÚDE. RESOLUÇÃO No 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012. Pesquisas e testes em seres humanos. 2012.
- BRITES, F. *et al.* Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): mechanistic insights into potential clinical benefit. **Bba Clinical**, [S.L.], v. 8, p. 66-77, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbacli.2017.07.002>.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A Receptor-Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis. **Science**, [S.L.], v. 232, n. 4746, p. 34-47, 4 abr. 1986. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.3513311>.

CANTUTI-CASTELVETRI, L. *et al.* Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. **Science**, [S.L.], v. 370, n. 6518, p. 856-860, 13 nov. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.abd2985>.

CATAPANO, A. L. *et al.* Vascular inflammation and low-density lipoproteins: is cholesterol the link? a lesson from the clinical trials. **British Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 174, n. 22, p. 3973-3985, 5 maio 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bph.13805>.

CATERINO, Marianna *et al.* Dysregulation of lipid metabolism and pathological inflammation in patients with COVID-19. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 2941, 3 fev. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-82426-7>.

CAVALCANTE, J. E. A. *et al.* Interleukin-18 promoter -137 G/C polymorphism (rs187238) is associated with biochemical markers of renal function and cardiovascular disease in type 2 diabetes patients. **Clinical Biochemistry**, [S.L.], v. 80, p. 1-7, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.03.011>.

CEARÁ. Boletim epidemiológico Doença pelo coronavírus (Covid-19) e vírus respiratórios. Disponível em: https://www.saude.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/9/2020/02/BOLETIM_COVID_N07_02.03.2022_VF.pdf. Acesso em: 18 mar. 2024.

CEARÁ. **COVID-19**. Disponível em: <<https://www.saude.ce.gov.br/download/covid-19/>>. Acesso em: 17 nov. 2023.

CERAOLO, C.; GIORGI, F. M. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. **Journal of Medical Virology**, [S.L.], v. 92, n. 5, p. 522-528, 19 fev. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25700>.

CERATO, J. A. *et al.* Breaking Bad: inflammasome activation by respiratory viruses. **Biology**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 943, 1 jul. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biology12070943>.

CESENA, F. *et al.* A Pandemia de COVID-19 e a Doença Cardiovascular no Brasil: aprendendo com os dados. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 119, n. 1, p. 46-47, jul. 2022. Sociedade Brasileira de Cardiologia. <http://dx.doi.org/10.36660/abc.20220371>.

CHAN, J. F-W. *et al.* Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 221-236, 1 jan. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2020.1719902>.

CHEN, CHAO-CHUN *et al.* Significant Contribution of Interleukin-18 Genotypes to Childhood Acute Lymphocytic Leukemia Risk in Taiwanese. **Anticancer Research**, [S.L.], v. 42, n. 11, p. 5283-5290, 26 out. 2022. Anticancer Research USA Inc. <http://dx.doi.org/10.21873/anticancerres.16035>.

CHEN, G. *et al.* Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. **Journal of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 130, n. 5, p. 2620-2629, 13 abr. 2020. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci137244>.

CHEON, S. Y. *et al.* Inflammatory Response in COVID-19 Patients Resulting from the Interaction of the Inflammasome and SARS-CoV-2. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 15, p. 7914, 24 jul. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22157914>.

CHIESA, Scott T. *et al.* High-Density Lipoprotein Function and Dysfunction in Health and Disease. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 207-219, 24 jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10557-018-06846-w>.

CHORLEY, B. *et al.* Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current and developing technologies. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, [S.L.], v. 659, n. 1-2, p. 147-157, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.001>.

CHOUDHRI, Y. *et al.* COVID-19 and the Genetics of Inflammation. **Critical Care Medicine**, [S.L.], v. 51, n. 6, p. 817-825, 20 mar. 2023. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ccm.0000000000005843>.

CLAUSEN, T. M. *et al.* SARS-CoV-2 Infection Depends on Cellular Heparan Sulfate and ACE2. **Cell**, [S.L.], v. 183, n. 4, p. 1043-1057, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.033>.

COHEN, D. E. *et al.* Pharmacology of cholesterol and lipoprotein metabolism. **Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy**, 2007.

COUTINHO, L. L. C. *et al.* Elevated IL-18 predicts poor prognosis in critically ill COVID-19 patients at a Brazilian hospital in 2020–21. **Future Microbiology**, v. 17, n. 16, p. 1287–1294, 1 nov. 2022.

CRAIG, M. *et al.* Biochemistry, Cholesterol. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls, StatPearls Publishing, 8 August 2023.

CUI, J.; LI, F.; SHI, Z.-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 181-192, 10 dez. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>.

DBSNP. **rs187238**. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs187238#seq_hash. Acesso em: 29 jun. 2023

DINARELLO, C. A.; NOVICK, D.; KIM, S. et al. Interleukin-18 and IL-18 Binding Protein. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 4, n. 8, p. 289, out. 2013. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2013.00289>.

DURRINGTON, P. N. *et al.* Paraoxonase 1 and atherosclerosis. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, [S.L.], v. 10, p. 960-967, 16 fev. 2023. <http://dx.doi.org/10.3389/fcvm.2023.1065967>.

ECKARDSTEIN, A. V. *et al.* High-density lipoprotein revisited: biological functions and clinical relevance. **European Heart Journal**, [S.L.], v. 44, n. 16, p. 1394-1407, 7 nov. 2022. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehac605>.

EKHOLM, M. *et al.* The Impact of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System on Inflammation, Coagulation, and Atherothrombotic Complications, and to Aggravated COVID-19. **Frontiers in Pharmacology**, [S.L.], v. 12, p. 12-64, 17 jun. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2021.640185>.

ENDO, Y. *et al.* HDL Functions—Current Status and Future Perspectives. **Biomolecules**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 105, 4 jan. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom13010105>.

EVANS, J. P.; LIU, SHAN-LU. Role of host factors in SARS-CoV-2 entry. **Journal of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 297, n. 1, p. 100847, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100847>.

FALUDI, A. *et al.* Diretriz brasileira baseada em evidências sobre prevenção de doenças cardiovasculares em pacientes com diabetes: posicionamento da sociedade brasileira de diabetes (sbd), da sociedade brasileira de cardiologia (sbc) e da sociedade brasileira de endocrinologia e metabologia (sbem). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 109, n. 6, p. 1-76, 2017. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20170188>.

FAN J. Letter to the Editor: Low-density lipoprotein is a potential predictor of poor prognosis in patients with coronavirus disease 2019. **Metabolism**.107:154243.2020.

FARRAG, M. A. *et al.* SARS-CoV-2: an overview of virus genetics, transmission, and immunopathogenesis. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [S.L.], v. 18, n. 12, p. 6312, 10 jun. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph18126312>.

FATIMA, S. S. *et al.* Interleukin-18 polymorphism as an inflammatory index in metabolic syndrome: a preliminary study. **World Journal of Diabetes**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 304, 2017. Baishideng Publishing Group Inc. <http://dx.doi.org/10.4239/wjd.v8.i6.304>.

FAUCI, A. S. *et al.* Covid-19 — Navigating the Uncharted. **New England Journal of Medicine**, [S.L.], v. 382, n. 13, p. 1268-1269, 26 mar. 2020. <http://dx.doi.org/10.1056/nejme2002387>.

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. **Coronaviruses**, [S.L.], v. 1282, p. 1-23, 2015. Springer New York.

http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1.

FEINGOLD K. R. Lipid and Lipoprotein Levels in Patients with COVID-19 Infections. editors. **Endotext Ebook** [Internet]. 21mar 2022.

FORTI, N. *et al.* Alterações genéticas e colesterolemia: recentes estudos brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 80, n. 5, p. 565-571, maio 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2003000500010>.

FRANÇA, B. K. *et al.* Peroxidação lipídica e obesidade: métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **Ge Jornal Português de Gastreenterologia**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 199-206, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpg.2013.04.002>.

FRANTZESKAKI, F. *et al.* Immunothrombosis in Acute Respiratory Distress Syndrome: cross talks between inflammation and oagulation. **Respiration**, [S.L.], v. 93, n. 3, p. 212-225, 21 dez. 2016. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000453002>.

GAIN, Chandrima *et al.* The role of oxidative stress in the pathogenesis of infections with coronaviruses. **Frontiers in Microbiology**, [S.L.], v. 13, p. 13, 13 jan. 2023. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.1111930>.

GALVÃO, M. H. R. *et al.* Fatores associados a maior risco de ocorrência de óbito por COVID-19: análise de sobrevivência com base em casos confirmados. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [S.L.], v. 23, e200106, 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1980-549720200106>.

GHAZY, A. A. *et al.* Influence of IL-6 rs1800795 and IL-8 rs2227306 polymorphisms on COVID-19 outcome. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [S.L.], v. 17, n. 03, p. 327-334, 31 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.17717>.

GIEDRAITIS, V. *et al.* Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. **Journal of Neuroimmunology**, [S.L.], v. 112, n. 1-2, p. 146-152, jan. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-5728\(00\)00407-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-5728(00)00407-0).

GIRALT, M. *et al.* Adipokines and the Endocrine Role of Adipose Tissues. **Metabolic Control**, [S.L.], v. 233, p. 265-282, 2015. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/164_2015_6.

GLOWACKA, I. *et al.* Evidence that TMPRSS2 Activates the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein for Membrane Fusion and Reduces Viral Control by the Humoral Immune Response. **Journal of Virology**, [S.L.], v. 85, n. 9, p. 4122-4134, 14 maio 2011. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02232-10>.

GOLIN, Natalia *et al.* Perfil lipídico de pacientes com diagnóstico de SARS-CoV-2 internados em unidades críticas de um hospital privado. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição - Rasbran**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 88-98, 31 mar. 2022. Revista da Associação Brasileira de Nutricao - RASBRAN. <http://dx.doi.org/10.47320/rasbran.2021.2354>.

GOSWANI, B. *et al.* Apo-B/apo-AI ratio: a better discriminator of coronary artery disease risk than other conventional lipid ratios in indian patients with acute myocardial infarction. **Acta Cardiologica**, [S.L.], n. 6, p. 749-755, 2008. Peeters online journals. <http://dx.doi.org/10.2143/AC.63.6.2033393>.

GOTARDO, P. E. *et al.* AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA À DOENÇAS EM CULTIVARES DE SOJA NORTE DO MATO GROSSO. Connection Line - **Revista Eletrônica do Univag**, [S.L.], v. 0, n. 25, p. 7-24, 16 jun. 2021. Semanal. <http://dx.doi.org/10.18312/connectionline.v0i25.1581>.

GRACIE, J. A. *et al.* Interleukin-18. **Journal of Leukocyte Biology**, [S.L.], v. 73, n. 2, p. 213-224, 1 fev. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0602313>.

GUIHOT, A. *et al.* Cell-Mediated Immune Responses to COVID-19 Infection. **Frontiers in Immunology**, [S.L.], v. 11, 1162, p. 1-8, 3 jul. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.01662>.

GUO, T. *et al.* Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **Jama Cardiology**, [S.L.], v. 5, n. 7, p. 811, 1 jul. 2020. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jamacardio.2020.1017>.

GUZIK, T. J. *et al.* COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. **Cardiovascular Research**, [S.L.], v. 116, n. 10, p. 1666-1687, 30 abr. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvaa106>.

HAOUARI, M. E. Platelet Oxidative Stress and its Relationship with Cardiovascular Diseases in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. **Current Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 26, n. 22, p. 4145-4165, 20 set. 2019. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/0929867324666171005114456>.

HARTFORD, M. *et al.* Interleukin-18 as a Predictor of Future Events in Patients with Acute Coronary Syndromes. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, [S.L.], v. 30, n. 10, p. 2039-2046, out. 2010. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/atvbaha.109.202697>

HAWERKAMP, Heike C. *et al.* Characterisation of the pro-inflammatory cytokine signature in severe COVID-19. **Frontiers in Immunology**, [S.L.], v. 14, p. 1-11, 30 mar. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1170012>.

HELMY, Y. A. *et al.* The COVID-19 Pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. **Journal of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 1225, 24 abr. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm9041225>.

HENEKA, M. T. *et al.* NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. **Nature**, [S.L.], v. 493, n. 7434, p. 674-678, 19 dez. 2012.

Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nature11729>.

HERNESNIEMI, J. A. *et al.* Interleukin 18 gene promoter polymorphism: a link between hypertension and pre-hospital sudden cardiac death. **European Heart Journal**, [S.L.], v. 30, n. 23, p. 2939-2946, 17 ago. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehp316>.

HILSER, James R. *et al.* Association of serum HDL-cholesterol and apolipoprotein A1 levels with risk of severe SARS-CoV-2 infection. **Journal Of Lipid Research**, [S.L.], v. 62, p. 100061, 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jlr.2021.100061>.

HIRATA, A. *et al.* Association of extremely high levels of high-density lipoprotein cholesterol with cardiovascular mortality in a pooled analysis of 9 cohort studies including 43,407 individuals: the epochjapan study. **Journal of Clinical Lipidology**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 674-684, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2018.01.014>.

HOEL, H. *et al.* Elevated markers of gut leakage and inflammasome activation in COVID-19 patients with cardiac involvement. **Journal of Internal Medicine**, [S.L.], v. 289, n. 4, p. 523-531, 8 out. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/joim.13178>.

HOSEINI, F. *et al.* Evaluation of the Role of -137G/C Single Nucleotide Polymorphism (rs187238) and Gene Expression Levels of the IL-18 in Patients with Coronary Artery Disease. **Oman Medical Journal**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 118-125, 29 mar. 2018. Oman Medical Journal. <http://dx.doi.org/10.5001/omj.2018.23>.

HOSHINO, K. *et al.* Cutting edge: generation of IL-18 receptor-deficient mice: evidence for IL-1 receptor-related protein as an essential IL-18 binding receptor. **Journal of immunology** (Baltimore, Md.:1950) vol. 162,9 (1999): 5041-4.

HU, B. *et al.* The cytokine storm and COVID-19. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 93, n. 1, p. 250-256, 30 jan. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.26232>.

HU, H. *et al.* Interleukin-18 Expression Increases in the Aorta and Plasma of Patients with Acute Aortic Dissection. **Mediators of Inflammation**, [S.L.], v. 2019, p. 1-10, 22 jul. 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/8691294>.

HU, X. *et al.* Low Serum Cholesterol Level Among Patients with COVID-19 Infection in Wenzhou, China. **Ssrn Electronic Journal**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 1-21, 21 fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3544826>.

HU, X. *et al.* Declined serum high density lipoprotein cholesterol is associated with the severity of COVID-19 infection. **Clinica Chimica Acta**, [S.L.], v. 510, p. 105-110, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2020.07.015>.

HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, [S.L.], v. 395, n. 10223, p. 497-506, fev. 2020. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30183-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30183-5).

HUANG, HONG-YUAN. *et al.* Eutopic endometrial interleukin-18 system mRNA and protein expression at the level of endometrial-myometrial interface in adenomyosis patients. **Fertility and Sterility**, [S.L.], v. 94, n. 1, p. 33-39, jun. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.01.132>.

HUANG, RAE-CHI *et al.* Epigenetic Age Acceleration in Adolescence Associates with BMI, Inflammation, and Risk Score for Middle Age Cardiovascular Disease. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 104, n. 7, p. 3012-3024, 20 fev. 2019. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2018-02076>.

HUNG, J. *et al.* Elevated Interleukin-18 Levels Are Associated with the Metabolic Syndrome Independent of Obesity and Insulin Resistance. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 1268-1273, jun. 2005. <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.0000163843.70369.12>.

IQUBAL, A. *et al.* Environmental neurotoxic pollutants: review. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.L.], v. 27, n. 33, p. 41175-41198, 20 ago. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-10539-z>.

ITOH, N. *et al.* The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. **Cell**, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 233-243, jul. 1991. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90614-5](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(91)90614-5).

IVANSKI, F. *et al.* Estudo da associação de polimorfismos genéticos da IL-18 na Covid-19. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 26, p. 102593, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2022.102593>.

JAMISON, D. A. *et al.* A comprehensive SARS-CoV-2 and COVID-19 review, Part 1: intracellular overdrive for sars-cov-2 infection. **European Journal of Human Genetics**, [S.L.], v. 30, n. 8, p. 889-898, 16 maio 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41431-022-01108-8>.

JEFFERIS, B.J.M.H. *et al.* Interleukin 18 and coronary heart disease: prospective study and systematic review. **Atherosclerosis**, [S.L.], v. 217, n. 1, p. 227-233, jul. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.03.015>.

JIA, L. *et al.* Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) Protein in Intestinal and Hepatic Cholesterol Transport. **Annual Review of Physiology**, [S.L.], v. 73, n. 1, p. 239-259, 17 mar. 2011. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142233>.

JIA, X. *et al.* Rapamycin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting IL-1 β and IL-18 production. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 67, p. 211-219, fev. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2018.12.017>.

JO, Y. *et al.* Regulation of Lipid Metabolism and Beyond. **International Journal of Endocrinology**, [S.L.], v. 2016, p. 1-2, 2016. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5415767>.

JOHNSON, A. F. *et al.* Constitutive secretion of pro-IL-18 allows keratinocytes to

initiate inflammation during bacterial infection. **Plos Pathogens**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 1011321, 17 abr. 2023. Public Library of Science (PLoS).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1011321>.

JUNG, J. H. *et al.* Associations between interleukin 18 gene polymorphisms and susceptibility to vasculitis: a meta-analysis. **Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Disease**, [S.L.], v. 37, n. 2, p. 203-211, 30 jun. 2020. Mattioli 1885 srl.
<http://dx.doi.org/10.36141/svdld.v37i2.9399>.

KABAKCHIEVA, P. *et al.* Elevated levels of interleukin-18 are associated with several indices of general and visceral adiposity and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, [S.L.], v. 66, n. 1, p. 3-11, 2022. Archives of Endocrinology and Metabolism.
<http://dx.doi.org/10.20945/2359-3997000000442>.

KADI, F. A. *et al.* The Association of rs187238, rs19465518 and rs1946519 IL-8 Polymorphisms with Acute Kidney Injury in Preterm Infants. **Biomedicine**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 4-50, 25 nov. 2021. China Medical University.
<http://dx.doi.org/10.37796/2211-8039.1231>.

KAJSTURA, J. *et al.* Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. **Lab Invest**. 74(1):86-107. Jan. 1996.

KAPLANSKI, G. Interleukin-18: biological properties and role in disease pathogenesis. **Immunological Reviews**, [S.L.], v. 281, n. 1, p. 138-153, 16 dez. 2017. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1111/imr.12616>.

KAPTOGE, S. *et al.* Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. **European Heart Journal**, [S.L.], v. 35, n. 9, p. 578-589, 10 set. 2013. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/eh367>.

KARABA, A. H.; ZHOU, W.; HSIEH, L. L.; *et al.* Differential Cytokine Signatures of SARS-CoV-2 and Influenza Infection Highlight Key Differences in Pathobiology. **Clin Infect Dis**, ciab376. 2021.

KHOVIDHUNKIT, W. *et al.* Thematic review series: the pathogenesis of atherosclerosis. effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism mechanisms and consequences to the host. **Journal of Lipid Research**, [S.L.], v. 45, n. 7, p. 1169-1196, jul. 2004. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1194/jlr.r300019-jlr200>.

KIM, Ji Heui *et al.* Human rhinovirus serotypes induces different immune responses. **Virology Journal**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 232, 27 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12985-021-01701-1>.

KOČAR, E. *et al.* Cholesterol, lipoproteins, and COVID-19: basic concepts and clinical applications. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, [S.L.], v. 1866, n. 2, p. 158849, fev. 2021. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158849>.

KOPECKY-BROMBERG, S. A. *et al.* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Open Reading Frame (ORF) 3b, ORF 6, and Nucleocapsid Proteins Function as Interferon Antagonists. **Journal of Virology**, [S.L.], v. 81, n. 2, p. 548-557, 15 jan. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01782-06>.

KOZAKOVA, Michaela *et al.* Cardiovascular organ damage in type 2 diabetes mellitus: the role of lipids and inflammation. **Cardiovascular Diabetology**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 61, 10. Maio2019. <http://dx.doi.org/10.1186/s12933-019-0865-6>.

KUMAR, M. *et al.* A chronicle of SARS-CoV-2: Part-I - Epidemiology, diagnosis, prognosis, transmission and treatment. **Sci Total Environ**. 2020 Sep 10;734:139278. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139278.

KWENANDAR, F. *et al.* Coronavirus disease 2019 and cardiovascular system: a narrative review. **Ijc Heart & Vasculature**, [S.L.], v. 29, p. 100557, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcha.2020.100557>.

LEMARIÉ, C. *et al.* The angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular disease. **Journal of The Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 19-31, 27 out. 2009. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1177/1470320309347785>.

LENT-SCHOCHET, D.; J, I. Biochemistry, Lipoprotein Metabolism. StatPearls, 16 jan. 2023.

LEON, M. L. A.; ZUCKERMAN, S. H. Gamma interferon: a central mediator in atherosclerosis. **Inflammation Research**, [S.L.], v. 54, n. 10, p. 395-411, out. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00011-005-1377-2>.

LETKO, M. *et al.* Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. **Nature Microbiology**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 562-569, 24 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-020-0688-y>.

LI, F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. **Annual Review of Virology**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 237-261, 29 set. 2016. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>.

LI, G. *et al.* Coronavirus infections and immune responses. **Journal of Medical Virology**, [S.L.], v. 92, n. 4, p. 424-432, 7 fev. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25685>.

LI, Y. *et al.* Lipid metabolism changes in patients with severe COVID-19. **Clinica Chimica Acta**, [S.L.], v. 517, p. 66-73, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2021.02.011>.

LI, Z. *et al.* The role of interleukin-18 in pancreatitis and pancreatic cancer. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, [S.L.], v. 50, p. 1-12, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2019.11.001>.

LIAN, Z. *et al.* Association between polymorphisms in interleukin-18 promoter and risk of coronary artery disease: a meta-analysis. **Bioscience Reports**, [S.L.], v. 39, n. 11, p. 1-17, nov. 2019. Portland Press Ltd. <http://dx.doi.org/10.1042/bsr20192721>.

LIANG, S. *et al.* SARS-CoV-2 spike protein induces IL-18-mediated cardiopulmonary inflammation via reduced mitophagy. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-15, 9 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-023-01368-w>.

LIBERMAN, M. *et al.* Calcificação vascular: fisiopatologia e implicações clínicas. **Einstein (São Paulo)**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 376-382, set. 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082013000300021>.

LIMA S. C. *et al.* Perfil lipídico e peroxidação de lipídeos no plasma em crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade [Plasma lipid profile and lipid peroxidation in overweight or obese children and adolescents]. **J Pediatr (Rio J)**. Jan-Feb;80(1):23-8.2004.

LIN, SHI-HUI. *et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID-19): cytokine storms, hyper-inflammatory phenotypes, and acute respiratory distress syndrome. **Genes & Diseases**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 520-527, dez. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gendis.2020.06.009>.

LIU, FA-RONG *et al.* Plasma levels of Interleukin 18 but not amyloid- β or Tau are elevated in female depressive patients. **Comprehensive Psychiatry**, [S.L.], v. 97, p. 152159, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.comppsy.2020.152159>.

LIU, W. *et al.* Promoter Polymorphism of Interleukin-18 in Angiographically Proven Coronary Artery Disease. **Angiology**, [S.L.], v. 60, n. 2, p. 180-185, 3 jul. 2008. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0003319708319939>.

LIU, Y. *et al.* Association of dyslipidemia with the severity and mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Virology Journal**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 150-157, 27 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12985-021-01604-1>.

LOPES-PACHECO, M. *et al.* Pathogenesis of Multiple Organ Injury in COVID-19 and Potential Therapeutic Strategies. *Frontiers in physiology* vol. 12 593223. 28 Jan. 2021, doi:10.3389/fphys.2021.593223.

LUO, J. *et al.* Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 225-245, 17 dez. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-019-0190-7>.

MACH, F. *et al.* 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, v. 41, n. 1, p. 111–188, 1 nov. 2020.

MACKNESS, M. I. *et al.* Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **Febs Letters**, [S.L.], v. 286, n. 1-2, p. 152-154, 29 jul. 1991. Wiley.

[http://dx.doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80962-3](http://dx.doi.org/10.1016/0014-5793(91)80962-3).

MAHLEY R.W. *et al.* Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. **J Lipid Res.** 1984 Dec 1;25(12):1277-94. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553193/>.

MAISEL, A. *et al.* Experimental Autoimmune Myocarditis Produced by Adoptive Transfer of Splenocytes After Myocardial Infarction. **Circulation Research**, [S.L.], v. 82, n. 4, p. 458-463, 9 mar. 1998. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.res.82.4.458>.

MALIK Y. A. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. **Malays J Pathol.** Apr;42(1):3-11, 2020. PMID: 32342926.

MALLAT, Z. *et al.* Expression of Interleukin-18 in Human Atherosclerotic Plaques and Relation to Plaque Instability. **Circulation**, [S.L.], v. 104, n. 14, p. 1598-1603, 2 out. 2001. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/hc3901.096721>.

MALLE, E. *et al.* Serum amyloid A (SAA): an acute phase protein and apolipoprotein. **Atherosclerosis**, [S.L.], v. 102, n. 2, p. 131-146, set. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150\(93\)90155-n](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150(93)90155-n).

MARINO, Luca *et al.* Interleukin 18 and IL-18 BP response to Sars-CoV-2 virus infection. **Clinical and Experimental Medicine**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 1243-1250, 16 nov. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10238-022-00943-9>.

MASANA, L. *et al.* Low HDL and high triglycerides predict COVID-19 severity. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 7217, 30 mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-86747-5>.

MEHTA, A. *et al.* Apolipoproteins in vascular biology and atherosclerotic disease. **Nature Reviews Cardiology**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 168-179, 8 out. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41569-021-00613-5>.

MEILHAC, O. *et al.* High-Density Lipoproteins Are Bug Scavengers. **Biomolecules**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 598, 12 abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/biom10040598>.

MOHAMMADI, S. *et al.* Understanding the Immunologic Characteristics of Neurologic Manifestations of SARS-CoV-2 and Potential Immunological Mechanisms. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 57, n. 12, p. 5263-5275, 1 set. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-020-02094-y>.

MOLAEI, S. *et al.* The immune response and immune evasion characteristics in SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2: vaccine design strategies. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 92, p. 107051, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107051>.

- MONTIEL, V. *et al.* Oxidative stress-induced endothelial dysfunction and decreased vascular nitric oxide in COVID-19 patients. **Ebiomedicine**, [S.L.], v. 77, p. 103893, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103893>.
- MOORE, J. B.; JUNE, C. H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. **Science**, [S.L.], v. 368, n. 6490, p. 473-474, maio 2020. **American Association for the Advancement of Science (AAAS)**. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb8925>.
- MORRIS, Gerwyn *et al.* The cytokine storms of COVID-19, H1N1 influenza, CRS and MAS compared. Can one sized treatment fit all? **Cytokine**, [S.L.], v. 144, p. 155593, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155593>.
- MORTENSEN, M. B. *et al.* Low-Density Lipoprotein Cholesterol Is Predominantly Associated with Atherosclerotic Cardiovascular Disease Events in Patients with Evidence of Coronary Atherosclerosis: the western denmark heart registry. **Circulation**, [S.L.], v. 147, n. 14, p. 1053-1063, 4 abr. 2023. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.122.061010>.
- MUDD, P. A.; CRAWFORD, J. C.; TURNER, J. S.; et al. Distinct inflammatory profiles distinguish COVID-19 from influenza with limited contributions from cytokine storm. **Science Advances**, eabe3024. 2020.
- MURALIDAR, S. *et al.* The emergence of COVID-19 as a global pandemic: understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of sars-cov-2. **Biochimie**, [S.L.], v. 179, p. 85-100, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.018>.
- MYERS, J. L. *et al.* A Military Community Cohort Study Reveals Single Nucleotide Polymorphisms in Inflammation Mediator Genes That Associate with Type 2 Diabetes. **Military Medicine**, [S.L.], v. 188, n. 7-8, p. 2026-2034, 24 nov. 2022. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/milmed/usac299>.
- NADER, T. O. *et al.* Covid-19: o papel das citocinas il-1, il-6 e tnf- α na resposta inflamatória. **Brazilian Journal of Health Review**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 225-256, 4 jan. 2023. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv6n1-021>.
- NAKANISHI, K. *et al.* Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 53-72, mar. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1359-6101\(00\)00015-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1359-6101(00)00015-0).
- NAVAB, Mohamad *et al.* HDL and the Inflammatory Response Induced by LDL-Derived Oxidized Phospholipids. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 481-488, abr. 2001. <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.21.4.481>.
- NEUMAN, B.W. *et al.* A. H. et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. **Journal of Structural Biology**, [S.L.], v. 174, n. 1, p. 11-22, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>.

NIELSEN, Carolyn M. *et al.* Synergy between Common γ Chain Family Cytokines and IL-18 Potentiates Innate and Adaptive Pathways of NK Cell Activation. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 7, p. 101, 22 mar. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2016.00101>.

OGURA, M. HDL, cholesterol efflux, and ABCA1: free from good and evil dualism. **Journal of Pharmacological Sciences**, [S.L.], v. 150, n. 2, p. 81-89, out. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphs.2022.07.004>.

ÖHMAN, M *et al.* The apoB/apoA1 ratio predicts future cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 259-264, 2 abr. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/03009742.2013.877158>.

OLIVEIRA, T. L.; FIGUEREDO, C. M. IL-18 e sua importância na patogenia das doenças crônico-inflamatórias. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 150, 1 jan. 2010. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v9i2.4950>.

OLIVEIRA, V. F. *et al.* O equilíbrio de Hardy-Weinberg no sistema sanguíneo ABO: um estudo de caso em engenheiro Coelho. **Ciência e Natura**, [S.L.], v. 43, p. 16, 1 mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.5902/2179460x43422>.

OUDIT, G. Y. *et al.* SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. **European Journal of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 39, n. 7, p. 618-625, 5 jun. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x>.

OUIMET, M. *et al.* HDL and Reverse Cholesterol Transport. **Circulation Research**, [S.L.], v. 124, n. 10, p. 1505-1518, 10 maio 2019. <http://dx.doi.org/10.1161/circresaha.119.312617>.

ØYNEBRÅTEN, I. *et al.* Oligomerized, filamentous surface presentation of RANTES/CCL5 on vascular endothelial cells. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 9261, 20 mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep09261>.

PARRA, S. *et al.* Low HDL-c levels at admission are associated with greater severity and worse clinical outcomes in patients with COVID-19 disease. **Atherosclerosis Plus**, [S.L.], v. 52, p. 1-8, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.athplu.2023.01.002>.

PEDROTTI, S. *et al.* Evaluation of the Influence of Experimental Periodontitis on the Sexual Behaviour of Male Wistar Rats. **British Journal of Medicine and Medical Research**, [S.L.], v. 15, n. 9, p. 1-8, 10 jan. 2016. Sciencedomain International. <http://dx.doi.org/10.9734/bjmmr/2016/25998>.

PELLEY J. W. Elsevier's Integrated Review Biochemistry. **Elsevier/Mosby 2nd ed. Philadelphia**: [s.n.], 2012. ISBN 978-0-323-07446-9.

PEREIRA, A. *et al.* Principais aspectos do novo coronavírus SARS-CoV-2: uma ampla revisão. **Arquivos do Mudi**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 73-90, 16 abr. 2021. Universidade Estadual de Maringá. <http://dx.doi.org/10.4025/arqmudi.v25i1.55455>.

PONNANA, M. *et al.* IL-6 and IL-18 cytokine gene variants of pulmonary tuberculosis patients with co-morbid diabetes mellitus and their household contacts in Hyderabad. **Gene**, [S.L.], v. 627, p. 298-306, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2017.06.046>.

PROVINE, Nicholas M. *et al.* Adenovirus vectors activate V δ 2+ γ δ T cells in a type I interferon-, TNF-, and IL-18-dependent manner. **European Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 52, n. 5, p. 835-837, 17 jan. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/eji.202149367>.

PUTHOTHU, Beena *et al.* Interleukin (IL)-18 Polymorphism 133C/G Is Associated With Severe Respiratory Syncytial Virus Infection. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.L.], v. 26, n. 12, p. 1094-1098, dez. 2007. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0b013e3181453579>.

QUADRI, A. *et al.* U. Cardiovascular Manifestations of COVID-19. In: KRIZ, C. I. N. Z. S. (org.). Breaking Down COVID-19. [S. l.]: **First Medicine and Global Clinical Partners**, p. 63–70. 2020.

RAGAB, D. *et al.* The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 11, p. 1-4, 16 jun. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.01446>.

RAMÍREZ-BELLO, J.; JIMÉNEZ-MORALES, M. Functional implications of single nucleotide polymorphisms (SNP) in protein-coding and non-coding RNA genes in multifactorial diseases. **Gac Med Mex**, vol. 153, p. 218–247, 2017.

REAL, J. T.; ASCASO, J. F. Metabolismo lipídico y clasificación de las hiperlipemias. **Clínica e Investigación En Arteriosclerosis**, [S.L.], v. 33, p. 3-9, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2020.12.008>.

REISINGER, A. C. *et al.* Impact of Sepsis on High-Density Lipoprotein Metabolism. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [S.L.], v. 9, p. 1-9, 5 jan. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2021.795460>.

RESSAIRE, Q. *et al.* Low total cholesterol blood level is correlated with pulmonary severity in COVID-19 critical ill patients. **Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine**, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 733-735, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.accpm.2020.07.015>.

RIDKER, P. M. *et al.* C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. **New England Journal of Medicine**, [S.L.], v. 342, n. 12, p. 836-843, 23 mar. 2000. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm200003233421202>.

- RODRIGUES, T. S. *et al.* Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. **Journal of Experimental Medicine**, [S.L.], v. 218, n. 3, p. 20201707, 24 nov. 2020. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20201707>.
- RUDNICKA, E. *et al.* Chronic Low Grade Inflammation in Pathogenesis of PCOS. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 7, p. 3789, 6 abr. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22073789>.
- RYE, KERRY-ANNE. *et al.* The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. **Journal of Lipid Research**, [S.L.], v. 50, p. 195-200, abr. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.r800034-jlr200>.
- SADEGHI, M. *et al.* Serum interleukin-18 and extent of coronary artery disease in unstable angina. **Arya Atherosclerosis**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 122, 25 jun. 2018. Vesnu Publications. <http://dx.doi.org/10.22122/arya.v14i3.1370>.
- SANTOS, F. A. B.; LEMES, R. B.; OTTO, P. A. HW_TEST, a program for comprehensive HARDY-WEINBERG equilibrium testing. **Genetics and Molecular Biology**, v. 43, n. 2, p. e20190380, 11 maio 2020.
- SATIS, H. *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. 155302, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155302>.
- SCHOBBER, G. *et al.* Diacylglycerol acyltransferase-1 inhibition enhances intestinal fatty acid oxidation and reduces energy intake in rats. **Journal of Lipid Research**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 1369-1384, maio 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.m035154>.
- SETA, Y. *et al.* Interleukin 18 in acute myocardial infarction. **Heart**, [S.L.], v. 84, n. 6, p. 668-669, 1 dez. 2000. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/heart.84.6.668>.
- SHIN, S. W. *et al.* Panax ginseng as a potential therapeutic for neurological disorders associated with COVID-19; Toward targeting inflammasome. **Journal of Ginseng Research**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 23-32, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2022.09.004>.
- SHOR, R. Low serum LDL cholesterol levels and the risk of fever, sepsis, and malignancy. **Ann Clin Lab Sci**. Autumn;37(4):343-8.2007.
- SILVA, N. I. *et al.* Adipocinas e sua relação com a obesidade. **Revista Evs - Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, [S.L.], v. 46, n. 1, p. 53-64, 24 jun. 2019. Pontificia Univ. Católica de Goiás -PUC Goiás. <http://dx.doi.org/10.18224/evs.v46i1.7179>.
- SINTUREL, F. *et al.* Circadian rhythm of lipid metabolism. **Biochemical Society Transactions**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 1191-1204, 23 maio 2022. Portland Press Ltd. <http://dx.doi.org/10.1042/bst20210508>.

- SMITH, A. J. P. *et al.* Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 43-59, fev. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.11.006>.
- SMITH, L. C. *et al.* The Plasma Lipoproteins: structure and metabolism. **Annual Review of Biochemistry**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 751-777, jun. 1978. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.47.070178.003535>.
- SNIDERMAN, A. D. *et al.* Errors that result from using the TC/HDL C ratio rather than the apoB/apoA-I ratio to identify the lipoprotein-related risk of vascular disease. **Journal of Internal Medicine**, [S.L.], v. 259, n. 5, p. 455-461, 20 abr. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01649.x>.
- SOUSA, C. P. *et al.* Immune response in SARS-CoV-2 infection: the role of interferons type i and type iii. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 24, n. 5, p. 428-433, set. 2020. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2020.07.011>.
- SOUZA JUNIOR, D. R. *et al.* HDL proteome remodeling associates with COVID-19 severity. **Journal of Clinical Lipidology**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 796-804, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2021.10.005>.
- SOUZA, L.; ZANIN, G. D. Doenças cardiovasculares no contexto do COVID-19: análise epidemiológica do período anterior ao início da pandemia e durante período pandêmico. **Research, Society and Development**, [S.L.], v. 12, n. 8, p. 17812842389, 31 ago. 2023. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i8.42389>.
- SPEER, T. *et al.* Abnormal High-Density Lipoprotein Induces Endothelial Dysfunction via Activation of Toll-like Receptor-2. **Immunity**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 754-768, abr. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.02.009>.
- STOEP, M. V. D. *et al.* High-density lipoprotein as a modulator of platelet and coagulation responses. **Cardiovascular Research**, [S.L.], v. 103, n. 3, p. 362-371, 1 jun. 2014. <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvu137>.
- SUAZO, J. *et al.* Polimorfismos genéticos de interleuquina 6 (IL6), IL6R e IL18: asociación con componentes del síndrome metabólico en niños chilenos con obesidad. **Revista Médica de Chile**, [S.L.], v. 142, n. 3, p. 290-298, mar. 2014. <http://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872014000300002>.
- SUNDJAJA J. H.; PANDEY S. Cholesterol Screening. 2023 May 1. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; 2023 Jan-. PMID: 32809729.
- SURMA, S. *et al.* COVID-19 and lipids. The role of lipid disorders and statin use in the prognosis of patients with SARS-CoV-2 infection. **Lipids in Health and Disease**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-141, 25 out. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-021-01563-0>.
- SUTINEN, E. M. *et al.* Pro-inflammatory interleukin-18 increases Alzheimer's disease-associated amyloid- β production in human neuron-like cells. **Journal of**

- Neuroinflammation**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 199, 16 ago. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-2094-9-199>.
- SZETO, C-C. *et al.* Association of interleukin-18 promoter polymorphism and atherosclerotic diseases in Chinese patients with diabetic nephropathy. **Nephrology**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 606-612, 26 ago. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1797.2008.01075.x>.
- TAGARRO, A. *et al.* Screening and Severity of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Children in Madrid, Spain. **Jama Pediatrics**, [S.L.], v. 175, n. 3, p. 316, 1 mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1001/jamapediatrics.2020.1346>.
- TAN, T. L. *et al.* The role of group IIA secretory phospholipase A2 (sPLA2-IIA) as a biomarker for the diagnosis of sepsis and bacterial infection in adults—A systematic review. **Plos One**, [S.L.], v. 12, n. 7, e0180554, 3 jul. 2017. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0180554>.
- TAY, M. Z. *et al.* The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 363-374, 28 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>.
- TEIXEIRA, B. C. *et al.* Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. **Jornal Vascular Brasileiro**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 108-115, abr. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/jvb.2014.054>.
- THERMO SCIENTIFIC. Interpretation of Nucleic Acid 260/280 Ratios. **Technical Bulletin**. Wilmington, Delaware USA. T123– Rev 1/2012. <http://efaidnbnmnnbpcajpcglcfindmkaj/https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/Product-Bulletins/T123-NanoDrop-Lite-Interpretation-of-Nucleic-Acid-260-280-Ratios.pdf>
- THÉPAUT, M. *et al.* DC/L-SIGN recognition of spike glycoprotein promotes SARS-CoV-2 trans-infection and can be inhibited by a glycomimetic antagonist. **Plos Pathogens**, [S.L.], v. 17, n. 5, e1009576, 20 maio 2021. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1009576>.
- TIAN, S. *et al.* Pulmonary Pathology of Early-Phase 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia in Two Patients with Lung Cancer. **Journal of Thoracic Oncology**, [S.L.], v. 15, n. 5, p. 700-704, maio 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtho.2020.02.010>.
- TOLDO, S. *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases. **Pharmacology & Therapeutics**, [S.L.], v. 236, p. 108053, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.108053>.
- TONET, A. C. *et al.* Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 47-53, 17 dez. 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-879x2006005000190>.
- TRAKAKI, A. *et al.* Current Understanding of the Immunomodulatory Activities of

- High-Density Lipoproteins. **Biomedicines**, [S.L.], v. 9, n. 6, p. 587, 21 maio 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines9060587>.
- ULLOQUE-BADARACCO, J. R. *et al.* Prognostic value of apolipoproteins in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. **Travel Medicine and Infectious Disease**, [S.L.], v. 44, p. 102200, nov. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmaid.2021.102200>.
- USHIO S. *et al.* Cloning of the cDNA for human IFN-g-inducing factor, expression in *Escherichia coli*, and studies on the biologic activities of the protein. **J. Immunol.**156:4274–4279. 1996.
- UZUNIAN, A. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 0, n. 56, p. 1-4, 9 set. 2020. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/1676-2444.20200053>.
- VALERO, N. *et al.* Increased serum ferritin and interleukin-18 levels in children with dengue. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 649-656, 26 jun. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-019-00105-2>.
- VIANA, G. A. *et al.* Serum il-18 and rs187238 single nucleotide polymorphism are associated with high-density lipoprotein changes in covid-19 outpatients. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 122, p. 110645, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110645>.
- VOET, D. Fundamentals of biochemistry: life at the molecular level. **John Wiley & Sons**, 2016.
- VOLFOVITCH, Y. *et al.* The intercorrelations between blood levels of ferritin, sCD163, and IL-18 in COVID-19 patients and their association to prognosis. **Immunologic Research**, v. 70, n. 6, p. 817, 1 dez. 2022.
- VOLP, A. C. P. *et al.* Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [S.L.], v. 52, n. 3, p. 537-549, abr. 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302008000300015>.
- WANG, B. *et al.* The difference of lipid profiles between psoriasis with arthritis and psoriasis without arthritis and sex-specific downregulation of methotrexate on the apolipoprotein B/apolipoprotein A-1 ratio. **Arthritis Research & Therapy**, [S.L.], v. 24, n. 1, 17, 7 jan. 2022. <http://dx.doi.org/10.1186/s13075-021-02715-4>.
- WANG, D. *et al.* Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. **Jama**, [S.L.], v. 323, n. 11, p. 1061, 17 mar. 2020. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2020.1585>.
- WANG, G. *et al.* Low high-density lipoprotein level is correlated with the severity of COVID-19 patients: an observational study. **Lipids in Health And Disease**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 204, 7 set. 2020. <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-020-01382-9>.

WANG, K. *et al.* CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 283, 4 dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-020-00426-x>.

WAWROCKI, S. *et al.* Interleukin 18 (IL-18) as a target for immune intervention. **Acta Biochimica Polonica**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 59-63, 17 fev. 2016. http://dx.doi.org/10.18388/abp.2015_1153.

WEI, X. *et al.* Hypolipidemia is associated with the severity of COVID-19. **Journal of Clinical Lipidology**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 297-304, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2020.04.008>.

WESTFELT, U. N. *et al.* Conversion of inhaled nitric oxide to nitrate in man. **British Journal of Pharmacology**, [S.L.], v. 114, n. 8, p. 1621-1624, abr. 1995. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb14948.x>.

WILFINGER, William W.; MACKEY, Karol; CHOMCZYNSKI, Piotr. Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity. **Biotechniques**, [S.L.], v. 22, n. 3, p. 474-481, mar. 1997. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2144/97223st01>.

WU, CHAO-YI. *et al.* Serum IL-18 as biomarker in predicting long-term renal outcome among pediatric-onset systemic lupus erythematosus patients. **Medicine**, [S.L.], v. 95, n. 40, p. 5037, out. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/md.00000000000005037>.

WU, L. *et al.* SARS-CoV-2 and cardiovascular complications: from molecular mechanisms to pharmaceutical management. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 178, p. 114114, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114114>.

WU, Q. *et al.* Altered Lipid Metabolism in Recovered SARS Patients Twelve Years after Infection. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 9110, 22 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-09536-z>.

XIANG, Q. *et al.* New insight into dyslipidemia-induced cellular senescence in atherosclerosis. **Biological Reviews**, [S.L.], v. 97, n. 5, p. 1844-1867, 15 maio 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/brv.12866>.

XU, X. *et al.* Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. **Science China Life Sciences**, [S.L.], v. 63, n. 3, p. 457-460, 21 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5>.

YAN, R. *et al.* Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. **Science**, [S.L.], v. 367, n. 6485, p. 1444-1448, 27 mar. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb2762>.

YAN, YI-QUN. *et al.* NLRP3 Inflammasomes in Parkinson's disease and their Regulation by Parkin. **Neuroscience**, [S.L.], v. 446, p. 323-334, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.08.004>.

YASUDA, K. *et al.* Interleukin-18 in Health and Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 649, 2 fev. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20030649>.

ZHAN, X. *et al.* The mechanism of NLRP3 inflammasome activation and its pharmacological inhibitors. **Frontiers in Immunology**, [S.L.], v. 13, p. 1-14, 18 jan. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.1109938>.

ZHANG, Jin-Jin *et al.* Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, [S.L.], v. 64, n. 1, p. 90-107, 19 jan. 2022. <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-022-08921-5>.

ZHAO, N. *et al.* The NLRP3 inflammasome and COVID-19: activation, pathogenesis and therapeutic strategies. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, [S.L.], v. 61, p. 2-15, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2021.06.002>.

ZHAO, Z. *et al.* An enlightening role for cytokine storm in coronavirus infection. **Clinical Immunology**, [S.L.], v. 222, p. 108615, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2020.108615>.

ZHENG, J. *et al.* IL-10, IL-18 Gene Polymorphisms Might Influence Predisposition to Coronary Artery Disease in East Asians: a meta-analysis. **Immunological Investigations**, [S.L.], v. 50, n. 1, p. 37-46, 11 mar. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/08820139.2020.1726382>.

ZHENG, YING-YING. *et al.* COVID-19 and the cardiovascular system. **Nature Reviews Cardiology**, [S.L.], v. 17, n. 5, p. 259-260, 5 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41569-020-0360-5>.

ZHOU, L. *et al.* Association between interleukin-18 (137G/C and 607C/A) gene polymorphisms and risk of ischemic stroke. **Neuroreport**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 89-94, 16 jan. 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/wnr.0000000000001165>.

ZHOU, P. *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, H. *et al.* Role and mechanisms of cytokines in the secondary brain injury after intracerebral hemorrhage. **Progress in Neurobiology**, [S.L.], v. 178, p. 101610, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.03.003>.

ZHU, N. *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, Zhe *et al.* Low serum level of apolipoprotein A1 may predict the severity of COVID-19: a retrospective study. **Journal Of Clinical Laboratory Analysis**, [S.L.], v. 35, n. 8, p. 23911, 14 jul. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcla.23911>.

ZINELLU, A. *et al.* Cholesterol and Triglyceride Concentrations, COVID-19 Severity, and Mortality: a systematic review and meta-analysis with meta-regression. **Frontiers in Public Health**, [S.L.], v. 9, 705916, 18 ago. 2021. <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2021.705916>.

ZORRILLA, E. P.; CONTI, B. Interleukin-18 null mutation increases weight and food intake and reduces energy expenditure and lipid substrate utilization in high-fat diet fed mice. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 37, p. 45-53, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2013.12.001>.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



[Esqueceu a senha?](#) [Cadastre-se](#) v3.8.2

Você está em: Público > Buscar Pesquisas Aprovadas > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

— DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: ESTUDO DOS FATORES PREDITIVOS DE RISCO DA PROGRESSÃO CLÍNICA E A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO GENÉTICO DAS CITOCINAS PRO INFLAMATÓRIA NA IMUNOPATOGENESE DA INFECÇÃO PELO COVID-19 DOS PACIENTES ASSISTIDOS NAS UNIDADES SENTINELAS DE PRONTO ATENDIMENTO DA PREFEITURA DE FORTALEZA

Pesquisador Responsável: GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA
Contato Público: GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA

Condições de saúde ou problemas estudados: COVID-19

Descritores CID - Gerais: Síndrome do desconforto respiratório do adulto
 Infecção viral não especificada
 Doença pulmonar obstrutiva crônica com infecção respiratória aguda do trato respiratório inferior

Descritores CID - Específicos: COVID-19, Virus não identificado
 COVID-19, Virus identificado

Descritores CID - da intervenção: COVID-19, Virus não identificado
 COVID-19, Virus identificado

Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 21/01/2021



— DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Cidade: FORTALEZA

— DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 5054 - Universidade Federal do Ceará PROPEQS - UFC
Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Telefone: (85)3366-8344
E-mail: comepe@ufc.br

— CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

— CENTRO(S) COPARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

ANEXO B - CARTA DE ANUÊNCIA DA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE FORTALEZA



**Prefeitura de Fortaleza
Secretaria Municipal da Saúde
Coordenadoria de Educação em Saúde, Ensino, Pesquisa e Programas Especiais**

DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins que, ciente dos objetivos e dos procedimentos metodológicos do Projeto de Pesquisa **“ESTUDO DOS FATORES PREDITIVOS DE RISCO DA PROGRESSÃO CLÍNICA E A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO GENÉTICO DAS CITOCINAS PRÓ INFLAMATÓRIA NA IMUNOPATOGENESE DA INFECÇÃO PELO COVID-19 DOS PACIENTES ASSISTIDOS NAS UNIDADES SENTINELAS DE PRONTO ATENDIMENTO DA PREFEITURA DE FORTALEZA”**, sob a responsabilidade do pesquisador **GLAUTEMBERG DE ALMEIDA VIANA** do **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS** da UFC, sob a orientação do Professor **TIAGO LIMA SAMPAIO** concedemos a anuência para o seu desenvolvimento nas dependências da **COORDENADORIA REGIONAL DE SAÚDE – CORES I, II, III, IV, V E VI** da Secretaria Municipal da Saúde (SMS) de Fortaleza, durante o período de **SETEMBRO/2020 A AGOSTO/2022** não havendo qualquer despesa para esta instituição que seja decorrente da participação dessa pesquisa.

Esta autorização está condicionada ao cumprimento de todas as normas e requisitos das Resoluções do Conselho Nacional de Saúde, notadamente da Resolução CNS/MS nº: 466/2012, e das disposições legais estabelecidas na Constituição Federal Brasileira, artigo 5º, incisos X e XIV e no Novo Código Civil, artigo 20.

O (s) pesquisador (es) acima qualificado (s) se comprometem a obedecerem às disposições éticas de utilizar os dados pessoais dos participantes da pesquisa exclusivamente para fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades; e a salvaguardarem a privacidade das pessoas citadas nos documentos institucionais e/ou contatadas diretamente, de modo a proteger suas imagens, bem como garantem que não utilizarão as informações coletadas em prejuízo dessas pessoas e/ou da instituição.

Informamos ainda que o projeto somente poderá ser iniciado nesta Instituição mediante apresentação do Parecer Consubstanciado, devidamente aprovado e emitido por Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), para o desenvolvimento de pesquisa envolvendo seres humanos, credenciado pelo Sistema CEP/CONEP.

Após a defesa do estudo, o (s) pesquisador (es) deverá (ão) enviar a versão final da pesquisa (em PDF), para o e-mail: ceppes.sms@gmail.com, ficando ciente(s) de que a COEPP/SMS poderá solicitar a apresentação oral dos resultados para técnicos, gestores e/ou sujeitos da referida pesquisa.

No caso do não cumprimento, há liberdade para retirar esta anuência a qualquer momento, sem incorrer em penalização alguma.

Fortaleza, 20 de agosto de 2020


Anamaria Cavalcante e Silva

Anamaria Cavalcante e Silva
Coord. de Pesquisas e
Programas Especiais

Coordenadora de Educação em Saúde, Ensino, Pesquisa e Programas Especiais

Rua Barão do Rio Branco, 910 / 1º andar
Fone: (85) 3105.1473 - Fortaleza - CE

ANEXO C – ARTIGO PUBLICADO

International Immunopharmacology 122 (2023) 110645



Contents lists available at ScienceDirect

International Immunopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/intimp

Serum il-18 and rs187238 single nucleotide polymorphism are associated with high-density lipoprotein CHANGES in covid-19 outpatients

Glautemberg de Almeida Viana^a, Mac Dionys Rodrigues da Costa^a, Mateus Edson da Silva^a, Bruna Ribeiro Duque^b, Erlânia Alves de Siqueira^b, Alice Maria Costa Martins^b, Renata de Sousa Alves^b, Ramon Róseo Paula Pessoa Bezerra de Menezes^b, Maria Goretti Rodrigues de Queiroz^b, Tiago Lima Sampaio^{a,b,*}

^a Program in Pharmaceutical Sciences; Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing; Federal University of Ceará, Brazil

^b Department of Clinical and Toxicological Analysis; Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing; Federal University of Ceará, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Single Nucleotide Polymorphism
Apolipoprotein A-I
High-density lipoprotein

ABSTRACT

Aim: COVID-19 is an inflammatory disease and its prognosis is associated with cardiovascular risk, which can be associated with changes in lipoprotein metabolism. The single nucleotide polymorphism (SNP) rs187238 of Interleukin (IL)-18 is extensively reported in association with worsening inflammatory and cardiovascular disease (CVD). This study evaluated the association of IL-18 levels and its SNP rs187238 with lipoprotein profile changes in COVID-19 outpatients.

Methods: Observational, analytical, cross-sectional study that evaluated 250 patients with respiratory syndrome, 36% (n = 90) with COVID-19. Serum total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), triglycerides (TG), apolipoproteins A-I and B (Apo A-I and Apo B) and IL-18 levels were determined. Polymorphism genotyping was done by real-time polymerase chain reaction (qPCR). The significance level was $p < 0.05$.

Results: Patients with COVID-19 showed a reduction in TC and HDL-c, without difference in IL-18. HDL-c and LDL-c had a high frequency outside the reference values. There was a negative correlation of IL-18 with HDL-c and a positive correlation with Apo B/Apo A-I ratio. The frequencies of the C (wild) and G (polymorphic) alleles between patients with and without COVID-19 followed the Hardy-Weinberg equilibrium. However, COVID-19 was associated with reduced HDL-c and Apo A-I values in patients with the CC genotype.

Conclusion: IL-18 levels and its SNP rs187238 were associated with decreased HDL-c and Apo A-I in COVID-19 outpatients.

1. Introduction

COVID-19 is characterized as an inflammatory disease that clinically occurs according to the preexisting conditions of each individual, such as age, sex, comorbidities, genetics, in addition to the viral strain causing the infection. Initially, the infection activates mechanisms of innate immunity, with increased levels of pro-inflammatory cytokines, such as: Interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-18, and Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α), in addition to chemokines responsible for recruiting immune cells to infected tissues. This response in some cases may be excessive and uncontrolled, causing the known cytokine storm, associated with all cases of severe COVID-19 [1].

IL-18 is a pro-inflammatory cytokine of the IL-1 superfamily, as is IL-1 β , which stands out in the literature as one of the main pro-atherosclerotic cytokines and is associated with adverse cardiovascular events [2,3]. Constitutively present in precursor form in the cytoplasm of various cell types, IL-18 is known for its pleiotropic properties and for mediating Interferon- γ (IFN- γ) production in infections [4]. Although its main effects are known in the short term, when associated with acute infections and cytokine storms, some studies associate IL-18 levels with the development of atherosclerosis and cardiovascular risk [5]. High levels of pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β and IL-6, are associated with disturbances in lipid metabolism and oxidative stress [6]. What we still do not know are the mechanisms involved in the disorders

* Corresponding author at: Rua Pastor Samuel Munguba, 1210 – Rodolfo Teófilo. Fortaleza, Ceará CEP 60430-372, Brazil.
E-mail address: tiagosampaio@ufc.br (T.L. Sampaio).

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110645>

Received 14 March 2023; Received in revised form 6 July 2023; Accepted 10 July 2023

Available online 13 July 2023

1567-5769/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (Doutorando Glautemberg de Almeida Viana) como participante da pesquisa intitulada: “Estudo dos fatores preditivos de risco da progressão clínica e a influência do polimorfismo genético das citocinas pró inflamatória na imunopatogênese da infecção pelo COVID-19 dos pacientes assistidos nas unidades sentinelas de pronto atendimento da Prefeitura de Fortaleza”. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “Estudo dos fatores preditivos de risco da progressão clínica e a influência do polimorfismo genético das citocinas pró inflamatória na imunopatogênese da infecção pelo COVID-19 dos pacientes assistidos nas unidades sentinelas de pronto atendimento da Prefeitura de Fortaleza” através de parâmetros hematológico, imunológicos, bioquímicos não tradicionais, sorológicos e genéticos, que tem como objetivo principal buscar por meios que indiquem se o novo coronavírus causa alterações hepática, renais, lipídicas, sorológicas e se ocorre a influência de polimorfismos gênico de citocinas pró-inflamatórias em pacientes infectados. Será coletado do Sr. (a) uma quantidade de 2 tubos de sangue com volume de 5 ml cada e um tubo contendo *swab* para coleta do conteúdo celular nasal e orofaríngeo. Assim, poderemos analisar se existe diferença na presença de alterações clínicas e laboratoriais em pacientes com casos leves, moderados e graves de COVID-19 e se essas alterações podem agravar o estado de saúde de pessoas que tem o diagnóstico de SARS-CoV-2. Realizaremos uma entrevista de aproximadamente 10 minutos através do uso de um questionário pré-estruturado contendo 20 questões. O paciente terá o benefício de obter mais informações laboratoriais sobre seu estado de saúde. O participante poderá se recusar a participar da pesquisa a qualquer momento sem que isso lhe traga qualquer prejuízo. As informações obtidas na pesquisa não permitirão a identificação do participante, exceto pelos envolvidos na pesquisa. O participante terá acesso às informações obtidas na pesquisa a qualquer momento. Em hipótese alguma o participante receberá pagamento para

participar da pesquisa. A realização do procedimento de coleta de sangue, nasal e nasofaringe é simples e será realizada por equipe devidamente treinada, porém existem riscos mínimos de formação de hematoma no local da coleta de sangue e perda de sigilo das informações clínicas e laboratoriais. Em caso de dúvida, poderá comunicar-se com o pesquisador Glautemberg de Almeida Viana, que reside na rua Estado do Rio, 55. Bairro Bela Vista, Fortaleza- CE. Fone: (085) 98570-1630. O participante receberá uma via desse termo de consentimento.

Nome: Ms. Glautemberg de Almeida Viana

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Rua Estado do Rio, 55. Bairro Bela Vista, Fortaleza- CE

Telefones para contato: (085) 98570-1630 ou (085) 3366-8261 Ou 3366-8271

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8346/44. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

O abaixo assinado _____ anos, RG: _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza, ____/____/____

Nome do participante da pesquisa Data Assinatura

Nome do pesquisador principal Data Assinatura

Nome do profissional Data Assinatura que aplicou o TCLE