



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**TALITA NUNES CARDOSO**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL IMUNOINFLAMATÓRIO SÉRICO EM IDOSOS  
HOSPITALIZADOS COM COVID-19 GRAVE**

**CAMPINA GRANDE**

**2022**

**TALITA NUNES CARDOSO**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL IMUNOINFLAMATÓRIO SÉRICO EM IDOSOS  
HOSPITALIZADOS COM COVID-19 GRAVE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador:  
Prof. Dr. Lúcio Roberto Cançado Castellano

**CAMPINA GRANDE**

**2022**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

C268a Cardoso, Talita Nunes.  
Avaliação do perfil imunoinflamatório sérico em idosos hospitalizados com covid-19 grave [manuscrito] / Talita Nunes Cardoso. - 2022.  
64 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.  
"Orientação : Prof. Dr. Lúcio Roberto Cançado Castellano, UFPB - Universidade Federal da Paraíba."  
1. Senescência. 2. SARS-CoV. 3. Biomarcadores imunoinflamatório. I. Título

21. ed. CDD 610

**TALITA NUNES CARDOSO**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL IMUNOINFLAMATÓRIO SÉRICO EM IDOSOS  
HOSPITALIZADOS COM COVID-19 GRAVE**

Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador:

Prof. Dr. Lúcio Roberto Cançado Castellano

APROVADO EM: 22/03/2022

**BANCA EXAMINADORA**



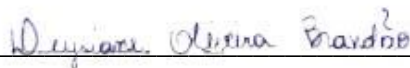
---

Prof. Dr. Lúcio Roberto Cançado Castellano  
(Orientador)



---

Prof.ª Dr.ª Vanda Lúcia dos Santos  
(Examinador interno)



---

Prof.ª Dr.ª Deysiane Oliveira Brandão  
(Examinador Externo)

**CAMPINA GRANDE**

**2022**

Á Deus pelo Seu cuidado e por me  
permitir chegar até aqui, DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por cada vitória alcançada em minha vida e por ter permitido que eu chegasse até aqui, comandando e direcionando os meus passos e me levando além do que posso idealizar, e me ensinando, que em meio as dificuldades e desafios, eu nunca estive sozinha.

Aos meus avós, Gilvanira e Josino (*in memoriam*), por toda dedicação e cuidado durante toda a minha vida, por nunca ter medido esforços para proporcionar o melhor a mim e ao meu irmão. Quero dar a vocês o meu muito obrigada, por tudo o que hoje sou, por terem sido a base e o alicerce para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu esposo (Adnelson José) por toda a sua paciência, companheirismo e cumplicidade. Por todo o seu amor e dedicação, e por não medir esforços para me dar o seu melhor. Estou muito Feliz em compartilhar mais essa vitória ao seu lado. Te amo!

A minha mãe pelo dom da vida e aos meus irmãos Tarcísio Junior, Tales Davi, Gustavo e Ricardo, pelo amor, carinho e confiança.

Ao meu orientador Lúcio Roberto Caçado Castellano, pela confiança em mim depositada, por sua amizade, paciência e solicitude, e pela oportunidade de ter compartilhado os seus conhecimentos e por tornar possível a realização deste trabalho. Fica a minha admiração e respeito pelo profissional e pessoa que és.

As professoras Vanda Lúcia dos Santos e Deysiane Oliveira Brandão por ter aceito compor a banca deste trabalho e por todas as contribuições de grande valia.

Aos meus amigos da graduação onde juntos formamos uma família: Marina, Moema, Carmélia, Alana, Ana Maria, Agélise, Felipe. Lembrarei de vocês sempre com muito carinho e gratidão por tudo que vivenciamos.

Aos meus amigos do mestrado: Amanda, Antônio, Daniela, Demis, Dorian, Karen, Lucas, Mariana Calixto, Mariana Moraes, Priscila, Rafaela, Rômulo e Thamires. Pelo suporte, companheirismo e por estarmos compartilhando as conquistas um dos outros. Em especial agradeço a Mariana Moraes pela amizade, companheirismo, solicitude e empatia.

Aos que fazem o PPGCF em especial nosso secretário Thiago pela paciência e disponibilidade em nos servir.

A todos que acompanharam essa trajetória e que contribuíram de alguma forma para a concretização desse sonho. Aos meus amados Moisés, Lucas, Sofia, Maya, Sara, André, Lázaro, Arthur, Samantha que apesar da pouca idade, ressignificam diariamente o real sentido

da vida para mim. A minha tia Déborah , aos meus sogros Adnelson e Elba, e meus cunhados, pela amizade, companheirismo e cumplicidade. A Deysi e Fernando por me incentivarem a continuar a carreira acadêmica e por acreditarem em mim. A Eulália pela parceria e companheirismo nos trabalhos que realizamos juntas na Pós-graduação.

Um agradecimento especial à direção do meu trabalho André Ramos e Maísa Soares por todo apoio e por me proporcionar um grande crescimento profissional e pessoal.

Um agradecimento especial a Yette Soares pela sua amizade, disponibilidade e companheirismo, por todas as vezes que precisei trocar horário de trabalho com você para assistir aula, meu muito obrigada. Um abraço especial nas minhas amigas e companheiras Marta, Layla ,Nifrance, Cristina e a todos que fazem parte dessa equipe maravilhosa.

A querida instituição, UEPB, por ter me acolhido, possibilitado a minha formação e a todos os professores, que me instigaram durante toda a caminhada acadêmica.

## RESUMO

A doença de coronavírus 2019 (COVID-19) é uma das principais doenças respiratórias emergentes graves em humanos, sendo reconhecida como pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em Março de 2020. A pandemia tem evidenciado a vulnerabilidade dos idosos, principalmente aqueles acima de 75 anos, que apresentam maior probabilidade de desenvolver a doença grave e evoluir para óbito. Numerosos estudos delinearam a ação da patogênese do SARS-CoV-2 com a indução de tempestade de citocinas e quimiocinas durante a fase progressiva da infecção como resultado de uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada na senescência. O estudo de novos biomarcadores imunoinflamatórios em idosos é essencial para auxiliar no desfecho do prognóstico em tempo hábil e no manejo desses pacientes. Portanto, este estudo teve como objetivo realizar uma análise do perfil imunoinflamatório sérico em idosos hospitalizados diagnosticados com COVID-19 grave. Foi realizado um estudo de coorte observacional, longitudinal e prospectivo, no hospital Metropolitano Dom José Maria Pires, entre junho a agosto de 2020. Foram incluídos 92 pacientes com evolução clínica para internação hospitalar diagnosticados com COVID-19 por RT-PCR, classificados em graves ou críticos. Os idosos do sexo masculino com mais de 60 anos de idade (média 67,14) foram os mais gravemente atingidos, como evidenciado pela morbimortalidade significativamente altas nesse grupo. A IL-17A e a quimiocina CXCL9 foram os biomarcadores mais proeminentes correlacionadas à progressão da doença entre as formas clínicas de apresentação da infecção abordadas nesse estudo. Além disso, os níveis mais baixos da quimiocina CXCL9 nos pacientes que foram a óbito estão correlacionados positivamente com RNL. Perfis semelhantes a este estudo de citocinas pró-inflamatórias foram observados por outros pesquisadores, cuja elevação da IL-17 apresentou uma AUC de 0,926, indicando uma capacidade muito boa de distinguir entre casos graves e leves de COVID-19. Com base nos valores preditivos e prognósticos do perfil imunoinflamatório, a IL-17 A e o CXCL9 devem ser incluídos nos testes clínicos de rotina de pacientes com COVID-19. Uma vez que, esses biomarcadores podem ser uma excelente ferramenta para ajudar na elucidação da patogênese da doença, diagnóstico e prognóstico, auxiliando no manejo clínico de pacientes com COVID-19, contribuindo de forma significativa para a diminuição da morbimortalidade.

**Palavras Chave:** SARS-CoV-2. Biomarcadores imunoinflamatórios. Senescência.



## ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is one of the main emerging serious respiratory diseases in humans, being recognized as a pandemic by the World Health Organization (WHO) in March 2020. The pandemic has highlighted the elderly vulnerability, especially those above 75 years, who are more likely to develop severe disease and progress to death. Numerous studies have outlined the action of SARS-CoV-2 pathogenesis with the induction of cytokine and chemokine storm during the progressive infection phase as a result of an uncontrolled systemic inflammatory response in senescence. The study of new immunoinflammatory biomarkers in the elderly is essential to assist in the outcome of the prognosis in a timely manner and in the management of these patients. Therefore, this study aimed to perform an analysis of the serum immunoinflammatory profile in hospitalized elderly people diagnosed with severe COVID-19. An observational, longitudinal, and prospective cohort study was carried out at the Metropolitan Hospital Dom José Maria Pires, between June and August 2020. The study includes 92 patients with clinical evolution to hospital admission diagnosed with COVID-19 by RT-PCR test, classified as severe or critics. Elderly males over 60 years old (mean 67.14) were the most severely affected, as evidenced by the significantly high morbidity and mortality in this group. IL-17A and the chemokine CXCL9 were the most prominent biomarkers correlated with the disease progression among the clinical presentations of the infection addressed in this study. In addition, lower CXCL9 chemokine levels in patients who died are positively correlated with LNR. Similar profiles to this study of pro-inflammatory cytokines were observed by other researchers, whose elevation of IL-17 had an AUC of 0.926, indicating a very good ability to distinguish between severe and mild cases of COVID-19. Based on the predictive and prognostic values of the immunoinflammatory profile, IL-17 A and CXCL9 should be included in routine clinical trials of patients with COVID-19. Since these biomarkers can be an excellent tool to help elucidate the pathogenesis of the disease, diagnosis, and prognosis, assisting in the clinical management of patients with COVID-19, contribute significantly to the reduction of morbidity and mortality.

**Keywords:** SARS-CoV-2. Immunoinflammatory Biomarkers. Senescence.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Enzima conversora de angiotensina 2
APC	Células apresentadoras de antígeno
COVID-19	Doença do coronavírus 2019
CXCL9	Ligante de quimiocina da CXC 9
DPOC	doença pulmonar obstrutiva crônica
ESPII	Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional
FiO <sub>2</sub>	Fração inspirada de oxigênio
GSCF	Fator estimulador de colônia de granulócitos
IL-1	Interleucina-1
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
IL-7	Interleucina-7
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
IL-17	Interleucina-17
IL1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-2R	Receptor de IL-2
IL-6R	Receptor de IL-6
IFN	Interferon
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IFN- $\alpha$	Interferon alfa
IP10	Proteína 10 induzida por interferon gama
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MERS-CoV	Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio
MIG	Monocina induzida por interferon gama
MIP1 $\alpha$	Proteína Inflamatória de Macrófagos-1 alfa
NAbs	Anticorpos neutralizantes específicos
NK	Células Natural Killer
NLR	Relação neutrófilo-linfócito

NLRs	Receptores do tipo NOD
NSP	Proteínas não estruturais
ORFs	Quadros de leitura aberta
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PaO <sub>2</sub>	Pressão arterial parcial de oxigênio
PRR	Receptores de Reconhecimento de Padrões
RANTES	Regulador da ativação de células T normais expressas e secretadas
RBD	Domínio de ligação ao receptor
RIG-I	Receptores do tipo RIG-I
ROC	Característica de Operação do Receptor
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa em tempo real.
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV	Coronavírus associado à síndrome respiratória aguda grave
SARS-CoV-2	Síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2
TLRs	Receptores Toll-like
TMPRSS2	Protease transmembrana serina 2
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TNF- $\beta$	Fator de necrose tumoral beta

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da estrutura do SARS-CoV-2.....	20
Figura 2 – Ciclo de vida de coronavírus humanos altamente patogênicos (CoVs) e anticorpos neutralizantes específicos (nAbs) contra esses coronavírus.....	21
Figura 3 – Principais sintomas associados à infecção por SARS-CoV-2.....	26
Figura 4 – Biomarcadores inflamatórios em soro de pacientes idosos diagnosticados com COVID-19 segundo classificação entre graves e críticos.....	42
Figura 5 – Curva de ROC IL-17A.....	43
Figura 6 – Biomarcadores inflamatórios em soro de pacientes idosos diagnosticados com COVID-19 segundo desfecho de sobrevivente ou não sobrevivente.....	45
Figura 7 – Curva de ROC MIG/CXCL9.....	46
Figura 8 – Biomarcadores inflamatórios em soro de pacientes idosos com a forma clínica crítica de COVID-19 segundo desfecho de sobrevivente ou não sobrevivente.....	47
Figura 9 – Correlações entre os biomarcadores inflamatórios séricos e variáveis de interesse clínico em pacientes idosos diagnosticados com COVID-19.....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Proteínas não estruturais do SARS-CoV-2 e suas respectivas funções...	18
Tabela 2 –	Classificação dos sinais e sintomas da infecção pelo SARS-COV-2.....	26
Tabela 3 –	Principais biomarcadores inflamatórios (citocinas e quimiocinas) do SARS-CoV-2 e suas respectivas funções.....	32
Tabela 4 –	Dados sociodemográficos dos idosos com COVID-19 de acordo com desfecho óbito.....	41



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Estrutura molecular e genoma do vírus.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Epidemiologia do COVID-19 no Brasil.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3</b>	<b>Espectro Clínico do COVID-19.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4</b>	<b>COVID-19 Biomarcadores imunoinflamatórios.....</b>	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>Caracterização da pesquisa e da população do estudo.....</b>	<b>38</b>
<b>4.2</b>	<b>Classificação do espectro clínico da doença com base nos sintomas.....</b>	<b>39</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise laboratorial.....</b>	<b>39</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, na província de Hubei, China, pacientes relataram sintomas semelhantes a pneumonia, de etiologia até então desconhecida. A análise de sequenciamento profundo indicou um novo coronavírus, que foi nomeado como síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2) pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus. Pertencente à subfamília *Coronaviridae* e à ordem *Nidovirales*, o Betacoronavírus SARS-CoV-2 desencadeou um surto de doença respiratória grave denominada COVID-19 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (DUAN, et al., 2020; YOSHIMOTO, 2020). Em janeiro de 2020, a OMS considerou a epidemia como uma Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional (ESPII). Posteriormente, em março de 2020, a doença do coronavírus 2019 (COVID-19) foi declarada como uma pandemia, e já causou, até o momento, mais de 469 milhões de infecções, resultando em mais de 6,1 milhões de mortes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022; WILSON e CHEN, 2020).

O SARS-CoV-2 é um vírus envelopado com um genoma de RNA de fita simples de sentido positivo, e pertence ao gênero *betacoronavirus*, juntamente com o SARS-CoV e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (com 80% e 50% de homologia, respectivamente (KIM, et al., 2020). Entre os quatro gêneros existentes do coronavírus, Alfa e Beta podem infectar mamíferos. Inicialmente o vírus se liga às células hospedeiras e, através do processo de replicação do RNA viral, produz vírions e libera por exocitose para novas infecções. Para isso, são necessárias proteínas estruturais para a montagem do vírion, e a glicoproteína spike presente na superfície do vírion é responsável pela sua ligação ao receptor do hospedeiro. Logo, a suscetibilidade ao contágio, assim como a progressão da doença, também pode ser influenciada por aspectos do próprio hospedeiro (MUNIZ et al., 2020; XIA et al., 2020).

Segundo Sette e Crotty et al., (2021) o sistema imunológico é amplamente dividido em sistema imunológico inato e sistema imunológico adaptativo, que estão interligados de maneiras importantes e poderosas, para o desfecho da resposta imunológica. Na resposta imune inata temos três propósitos principais: restrição da replicação viral dentro das células infectadas, criação de um estado antiviral no ambiente tecidual local, incluindo o recrutamento de células efetoras do sistema imune inato e iniciação a resposta imune adaptativa. Sequencialmente a resposta imune adaptativa consiste em três tipos principais de



células: células B, células T CD4<sup>+</sup> e células T CD8<sup>+</sup>, que são importantes para o controle e eliminação de quase todas as infecções virais que causam doenças em humanos, e em conjunto com a memória imunológica são fundamentais para o sucesso de todas as vacinas, bem como a compreensão das respostas adaptativas ao SARS-CoV -2.

Destarte, o SARS-CoV-2 mostrou um padrão semelhante de infecção e características clínicas, mas uma taxa de transmissão ainda mais rápida, quando comparada com os dois surtos anteriores de coronavírus (SARS-CoV e MERS-CoV). Assim, a superação de citocinas pró-inflamatórias mediadas pela resposta imune precoce pode resultar em uma tempestade de citocinas, com aumentos significativos de citocinas como IL-2, IL-7, IL-10, GSCF, IP10, MCP-1, MIP1A e TNF- $\alpha$ , sendo, portanto, conhecida por ser responsável por doenças críticas, falhas inflamatórias, lesão de múltiplos órgãos e, portanto, pela mortalidade em infecções por covid-19, apresentando, assim, pior prognóstico do que aqueles pacientes que não são afetados por eventos hiperinflamatórios (SONG et al., 2020; PUM et al., 2021).

Neste sentido, o estudo dos biomarcadores imunoinflamatórios em idosos hospitalizados diagnosticados com COVID-19, é essencial para auxiliar no desfecho do prognóstico em tempo hábil e no manejo desses pacientes, bem como no direcionamento das pesquisas de tratamentos que sejam eficazes, buscando prevenir a ocorrência de formas graves da doença, contribuindo para um desfecho positivo e diminuição da taxa de mortalidade.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Realizar uma análise do perfil imunoinflamatório sérico em idosos hospitalizados diagnosticados com COVID-19 grave.

### **2.2 Objetivos específicos**

- a) Realizar um estudo clínico-epidemiológico a partir de um banco de dados com as informações clínicas de idosos com diagnóstico de COVID-19 internados em um hospital referência na cidade de João Pessoa/ PB.
- b) Avaliar o perfil imunoinflamatório sérico de idosos com diagnóstico de COVID-19 internados em um hospital por meio de dosagem de citocinas (IL-17A, IFN, TNF, IL-10, IL-6, IL-4, IL-2) por citometria de fluxo.
- c) Avaliar o perfil imunoinflamatório sérico de idosos com diagnóstico de COVID-19 internados em um hospital por meio de dosagem de quimiocinas (IP-10/CXCL-10, MCP-1/CCL-2, MIG/CXCL-9, RANTES/CCL-5, IL-8) por citometria de fluxo.
- d) Avaliar o potencial uso da dosagem de citocinas e/ou quimiocinas séricas como marcadores de gravidade de doença em idosos hospitalizados.
- e) Avaliar o potencial uso da dosagem de citocinas e/ou quimiocinas séricas como marcadores de mortalidade de doença em idosos hospitalizados.

## 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 3.1 Estrutura molecular e genoma do vírus

Os coronavírus são uma grande família de vírus que podem causar doenças em animais ou humanos. Desde a descoberta dos primeiros coronavírus por Tyrell e Bynoe em 1965, novas cepas foram descobertas, causando infecções respiratórias que variam do resfriado comum a doenças mais graves, como a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), com surtos entre 2002 e 2003, e a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) com casos reportados desde 2012 (SANTERRE et al., 2020).

No atual contexto global, COVID-19 é uma das principais doenças respiratórias graves em humanos, sendo reconhecida como doença infecciosa emergente e como pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em Março de 2020 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

Os coronavírus são o maior grupo de vírus da ordem *Nidovirales*, pertencem à família *Coronaviridae*, e são vírus de RNA envelopado de fita simples de sentido positivo, com um genoma de 60-140 nm de diâmetro e 26 e 32 quilobases de tamanho. O termo 'coronavírus' refere-se ao aparecimento vírions de coronavírus quando observados em microscopia eletrônica, com projeções espiculares na membrana viral com aparência semelhante a uma coroa (SU et al. 2016; XIE e CHEN et al., 2020; BAKHSHANDEH et al., 2021).

A família *Coronaviridae* é um grande grupo de vírus que infectam animais e humanos. Assim, coronavírus são classificados em quatro gêneros:  $\alpha$ -CoV,  $\beta$ -CoV,  $\gamma$ -CoV e  $\delta$ -CoV, sendo o  $\alpha$ -CoV e o  $\beta$ -CoV capazes de infectar mamíferos, enquanto que o  $\gamma$ -CoV e o  $\delta$ -CoV tendem a infectar as aves (AL-QAHTANI, 2020; SCHNEIDER, et al., 2021). Neste contexto, existem 7 tipos de coronavírus humanos que são principalmente patógenos respiratórios: 229E, NL63, OC43, KHU1, Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV), Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) e Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2). Assim, MERS-CoV, SARS-CoV e SARS-CoV-2 pertencem ao gênero *Betacoronavirus* e todos apresentam altas taxas de mutação que resultam em diversidade genética viral, plasticidade e adaptabilidade para invadir uma ampla gama de hospedeiros (PRADO et al., 2020; LIU et al., 2020; ZHU et al., 2020).

Nesse contexto, o SARS-CoV-2 foi identificado como um terceiro coronavírus humano zoonótico, sendo os morcegos o provável reservatório primário do vírus, uma vez que a análise genômica descobriu que o SARSCoV-2 é filogeneticamente inter-relacionado aos vírus de morcego semelhantes ao SARS, assim, o genoma do SARS-CoV-2 é 96,2% idêntica a de um morcego CoV RaTG13 *Rhinolophus affinis* do morcego ferradura, enquanto compartilha 79,5% de identidade com o SARS-CoV . Logo, com base nos resultados do sequenciamento do genoma do vírus e na análise evolutiva o COVID-19 pode ser transmitido de morcegos por meio de hospedeiros intermediários desconhecidos como pangolins, outros répteis e cobras, ocorrendo mudanças adaptativas, antes de transmitir aos humanos (RASTOGI et al., 2020; MADABHAVI et al., 2020; PRASAD et al., 2020; HAAKE et al., 2020; ZHANG et al., 2021).

Todos os coronavírus compartilham semelhanças na organização e expressão de seu genoma. E cerca de dois terços do genoma viral está principalmente localizado na primeira fase de leitura aberta (ORF1a e ORF1b) na extremidade 5', que são traduzidos nas poliproteínas pp1a e pp1ab, as quais são processados para codificar 16 proteínas não estruturais (nsp1 a 16), as primeiras formam a NSP1-11, e a outra NSP1-16, respectivamente. Uma vez que essas proteínas estão envolvidas no processo de replicação e transcrição, também são chamadas de proteínas replicase e transcriptase (SU et al., 2016; MASOOD et al., 2020; ASGHARI et al., 2020; TAHERIZADEH et al., 2020; LAHA et al., 2020).

Considerando ainda a importante função das proteínas não estruturais em muitos processos em vírus e células hospedeiras, a tabela 1 apresenta as nsp e suas respectivas funções.

Tabela 1 – Proteínas não estruturais do SARS-CoV-2 e suas respectivas funções.

<b>Proteína</b>	<b>Função</b>	<b>Citações</b>
nsp1	Inibição da sinalização do interferon (IFN) e bloqueio da resposta imune inata do hospedeiro por promoção da degradação celular e bloqueio da tradução do RNA do hospedeiro.	HATMAL et al., 2020; SAKR et al., 2021.
nsp2	Vinculando-se a proteína proibição.	HATMAL et al., 2020; SAKR et al., 2021.

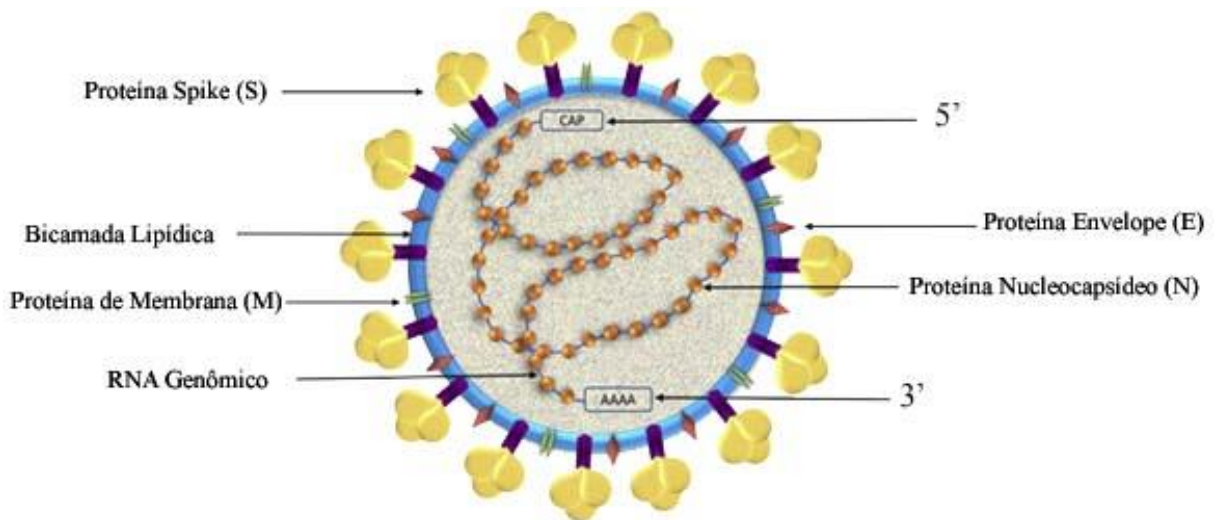
nsp3	Componente essencial do complexo de replicação / transcrição Bloqueio de resposta imune inata do hospedeiro, formação de vesícula de membrana dupla (DMV).	O'LEARY et al., 2020.
nsp4	Formação de vesícula de membrana dupla é crucial para a formação do complexo de replicação viral.	O'LEARY et al., 2020; SAKR et al., 2021.
Nsp5	Protease Principal, Inibindo Sinalização IFN.	O'LEARY et al., 2020; CAVASOTTO et al., 2021.
Nsp6	Proteína esqueleto transmembrana que forma um complexo com nsp3 e nsp4; formação DMV.	HATMAL et al., 2020; CHAN et al., 2020.
Nsp7	Um cofator que se liga ao nsp8 formando complexo hexadecamérico e atua como grampo de processamento para RNA polimerase multimérico.	HATMAL et al., 2020; SAKR et al., 2021.
Nsp8	Um cofator que se liga ao nsp7 formando complexo hexadecamérico e atua como grampo de processamento para RNA polimerase e primase.	CHAN et al., 2020.
Nsp9	Fosfatase de proteína de ligação de RNA. Importante para a ligação de RNA / DNA e revisão de RNA viral.	HATMAL et al., 2020;
Nsp10	Uma pequena proteína que acredita-se que atua como cofator multifuncional. Interage com nsp14 e 16 estimulando a atividade da exonuclease e da O-metil transferase.	SAKR et al., 2021.
Nsp11	É um peptídeo curto no final da ORF1a e representa o limite de frameshift. É um produto de clivagem pp 1a de função desconhecida.	SAKR et al., 2021.
Nsp12	RNA Polimerase.	HATMAL et al., 2020; CHAN et al., 2020.
Nsp13	Função de helicase; desempenha um papel importante na replicação viral, tendo a capacidade de desenrolar RNA e DNA.	HATMAL et al., 2020; CAVASOTTO et al., 2021.

Nsp14	Modulação da resposta imune inata.	CAVASOTTO et al., 2021.
Nsp15	Endoribonuclease.	CHAN et al., 2020.
Nsp16	Metiltransferase.	O'LEARY et al., 2020;

Fonte: Própria

Sequencialmente, a parte restante do genoma do vírus inclui as proteínas estruturais essenciais, de modo que, os ORFs da extremidade 3' codificam quatro proteínas estruturais principais: Spike (S) receptor de ligação glicoproteína (ORF2); proteína nucleocapsida (N) (ORF9a); proteína de membrana (M) (ORF5), que é uma proteína transmembrana (TM) envolvida na interação com N; um pequeno envelope (E) proteína (ORF4), que participa da estabilidade da membrana e montagem do vírus, conforme apresentado na figura 1, e algumas proteínas acessórias, incluindo ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9 e ORF10 (BOUHADDOU et al., 2020; SATARKER e NAMPOOTHIRI et al., 2020; CAVASOTTO et al., 2021).

Figura 1- Representação esquemática da estrutura do SARS-CoV-2



Fonte: SATARKER e NAMPOOTHIRI , 2020

Do ponto de vista evolutivo, as proteínas não estruturais atraíram menos atenção do que os componentes estruturais, o que provavelmente está relacionado ao fato de que as proteínas expostas na superfície do vírus representam os alvos preferenciais da resposta imune do hospedeiro. Assim, analisar e descrever sua variabilidade e dinâmica evolutiva tem uma relevância clara para o desenvolvimento de estratégias preventivas no desenvolvimento de

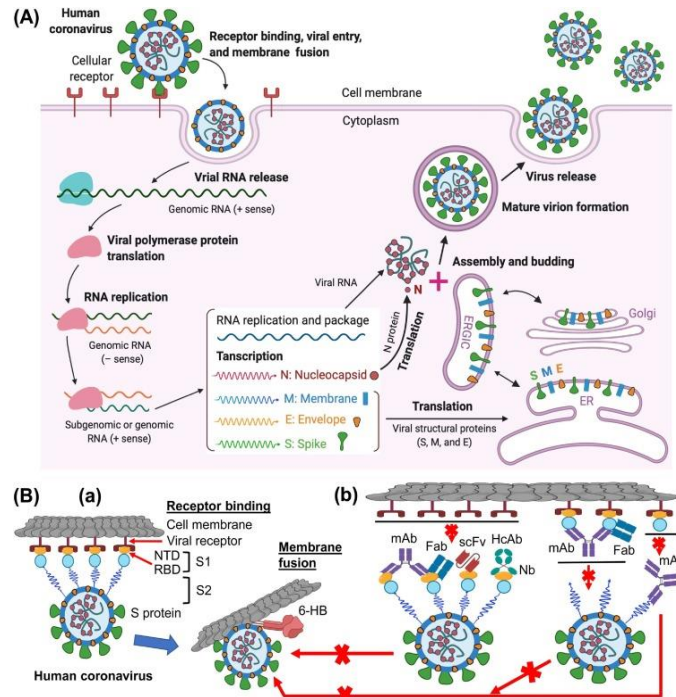
vacinas, bem como uma alternativa de tratamento, como, por exemplo, administração de anticorpos neutralizantes (FORNI et al., 2017; YEHUALASHET e BELACHEW et al., 2020; GHODAKE et al., 2021).

As proteínas não estruturais (nsps) estão envolvidas no processamento e na replicação do vírus, e são capazes de bloquear a resposta imune inata do hospedeiro, enquanto as proteínas estruturais auxiliam na montagem e liberação de novas cópias virais. Além disso, as proteínas estruturais, e a proteína S em particular, atraiu considerável atenção devido ao seu papel crítico no mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira, e assim, determinam as primeiras e essenciais etapas da infecção e, muito provavelmente, representam os principais determinantes do tropismo do hospedeiro e do tecido (FORNI et al., 2017; PAPAGEORGIOU e MOHSIN et al., 2020).

Durante a infecção, a proteína S é clivada por proteases do hospedeiro, como a protease transmembrana serina 2 (TMPRSS2), em duas subunidades, a subunidade S1 N-terminal, responsável pela ligação ao receptor e a subunidade S2, C-terminal, responsável pela fusão da membrana, isso faz com que haja uma mudança de conformação do estado de pré-fusão para o estado de pós-fusão (CHI, et al., 2020; YAO, et al., 2020). Portanto, a glicoproteína S usa seu domínio de ligação ao receptor (RBD) para envolver a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) do receptor hospedeiro para a entrada viral na célula do hospedeiro (YUAN et al., 2020; PAPAGEORGIOU e MOHSIN et al., 2020; CHIA et al., 2020).

Assim, acredita-se que a formação de anticorpos neutralizantes direcionados à região RDB-S1 ou S2 pode bloquear a ligação da proteína S a ACE2 e prevenir a fusão da membrana e a entrada do vírus nas células, inibindo a infecção por SARS-CoV-2, conforme podemos observar na figura 2, que representa de forma ilustrativa o ciclo de vida de coronavírus humanos altamente patogênicos (HUANG et al., 2020 a; CAI et al.; 2020; JIANG et al., 2020; DOS SANTOS, 2021).

Figura 2- Ciclo de vida de coronavírus humanos altamente patogênicos (CoVs) e anticorpos neutralizantes específicos (nAbs) contra esses coronavírus.



Fonte: JIANG, et al., 2020.

Satarker e Nampoothiri (2020) e Tang et al., 2020 afirmam que a enzima de conversão da angiotensina 2 (ACE2) e a Serina Protease transmembrana Tipo II (TMPRSS2) são co-expressas em pneumócitos do tipo II. Portanto, o TMPRSS2 inicia a clivagem seguida pela ativação da proteína spike que promove a fusão da membrana e a entrada viral nas células e também a transmissão da infecção às células vizinhas, especificamente nas condições de baixo pH. Assim, a entrada do SARS-CoV-2 nas células-alvo humana, ocorre através de três etapas principais, que incluem ligação receptora, proteólise e ativação da fusão de membrana dentro dos endossomos (YUKI et al., 2020; SAKR et al., 2021).

Deste modo, a enzima conversora de angiotensina da peptidase da superfície celular 2 (ACE2) é o receptor primário para a proteína de fusão spike (S) que facilita a entrada na célula do SARS-CoV-2, atuando desta forma como um ponto de entrada nos estágios iniciais da infecção. Portanto, a ACE2 é uma vasopeptidase expressa na superfície das células epiteliais em muitos tecidos, incluindo pulmão, coração, vasos sanguíneos, rins e trato gastrointestinal, sendo os pulmões, os órgãos mais afetados pela SARS-COV-2, cujos (ACE2) são abundantes nos pneumócitos. Além disso, foi demonstrado que as células gliais e neurônios do sistema nervoso central também expressam receptores ACE2, tornando o tecido nervoso um possível local de infecção para SARS-COV-2 (FTIHA et al. 2020; KANNAN et al., 2020; DEKOSKY et al., 2020; NAQVI et al., 2020; GROSS et al., 2020).



A próxima etapa é a tradução da enzima replicase do RNA genômico do vírion e a tradução e montagem dos complexos de replicase viral. Assim sendo, o genoma viral é liberado e traduzido pelo complexo da replicase viral e cortado pelas proteinases. Os nucleocapsídeos virais são montados a partir do RNA genômico e ligados à proteína N no citoplasma. A liberação da célula infectada por meio de exocitose segue o brotamento do retículo endoplasmático-compartimento de Golgi, completando o ciclo de vida do vírus (PARCZEWSKI e CIECHANOWICZ et al., 2020; SHEREEN et al., 2020).

Considerando ainda a estrutura genômica do coronavírus, é importante enfatizar que dentro do envelope viral, o coronavírus possui uma proteína do nucleocapsídeo (N), é a proteína mais abundante produzida pelo genoma SARS-CoV-2, cuja função principal é empacotar o genoma viral em complexos de ribonucleoproteína helicoidal (RNP) longos e flexíveis, que interagem com a proteína M. Deste modo, a proteína N é muito importante para replicação, antigênese, patogênese, virulência, infecção e disseminação do vírus, determinando, portanto, todos os aspectos da patogênese viral (KANNAN et al., 2020; O'LEARY et al., 2021).

A proteína E é a menor de todas as proteínas estruturais, funciona como uma viroporina, que são pequenas proteínas incorporadas à membrana presentes em diferentes vírus patogênicos, incluindo SARS-CoV-2. Deste modo, as viroporinas participam de várias funções virais, incluindo o estímulo da liberação de partículas virais das células hospedeiras, afetando assim, a vesicularização da membrana, rastreamento de glicoproteínas e permeabilidade da membrana. O domínio transmembranar pode formar poros hidrofílicos nas membranas de células infectadas por vírus por oligomerização. Essa propriedade de canalização de íons, afeta a produção de citocinas, e conseqüentemente a resposta inflamatória (MUKHERJEE et al., 2020; SARKAR e SAHA et al., 2020).

Segundo Bianchi et al., (2020) e Thomas (2020) as proteínas E e M podem ser importantes para a entrada viral, replicação e montagem de partículas nas células humana. Foi demonstrado ainda que a proteína M é a proteína estrutural mais abundante dos coronavírus, e é necessária para a montagem viral e morfogênese. Assim, a proteína M pode se ligar a todas as outras proteínas estruturais, portanto é considerada como o organizador central da montagem de coronavírus, devido à sua interação com todas as outras proteínas estruturais, com a própria glicoproteína Nucleocapsídeo, Envelope, e Spike, deste modo, a ligação com essa proteína ajuda a estabilizar as proteínas N e promove a conclusão da

montagem viral ao estabilizar o complexo proteína N-RNA, dentro do vírion interno (ALHARBI e ALREFAEI, 2021).

### **3.2 Epidemiologia do COVID-19 no Brasil**

O potencial de causar insuficiência respiratória grave com risco de vida e transmissão rápida coloca o COVID-19 na lista de Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional. Segundo os relatórios de situação da OMS, até 11 de fevereiro de 2022, a pandemia de SARS-CoV-2 afetou 404.910.528 indivíduos (casos confirmados) e foram registrados 5.783.776 óbitos em todo o mundo com abrangência em mais de 200 países, no tocante a vacinação foi administrada um total de 10.095.615.243 doses (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

A primeira notificação de um caso confirmado de COVID-19 no Brasil registrado pelo ministério da saúde ocorreu no dia 26 de fevereiro de 2020. De acordo com os dados divulgados pelo ministério da saúde, através do boletim epidemiológico (Semana 10) desde o início da pandemia até 12 de março de 2022 foram confirmados no Brasil 29.350.134 casos, com taxa de incidência até o 12 de março de 2022 de 13.860,4 casos por 100 mil habitantes, enquanto que a taxa de mortalidade é de 309,3 óbitos por 100 mil habitantes (BRASIL, 2022).

Os dados do boletim epidemiológico da semana 5 a região Sudeste apresentou o maior número absoluto de casos novos 482.073, em relação as demais regiões do país, seguida pelas regiões Sul (308.670), Nordeste (266.109), Centro-Oeste (117.862), e Norte (83.937); o número de óbitos novos foi 2.783 no Sudeste, 987 no Nordeste, 768 no Sul, 481 no Centro-Oeste e 259 no Norte. Dessa forma, o Sudeste foi a Região com maior número absoluto de casos e óbitos novos (BRASIL, 2021).

Segundo o Centers for Disease Control and Prevention dos Estados Unidos da América (2021), o principal modo pelo qual as pessoas são infectadas com o SARS-CoV-2 é através da exposição a fluidos respiratórios que contém o vírus infeccioso. A exposição ocorre de três maneiras principais: inalação de gotículas respiratórias muito finas por meio do contato próximo através da pessoa infectada, liberadas ao tossir, espirrar ou falar; deposição de gotículas e partículas respiratórias nas membranas mucosas expostas na boca, nariz ou olhos por respingos diretos e sprays; e tocar membranas mucosas com as mãos que foram

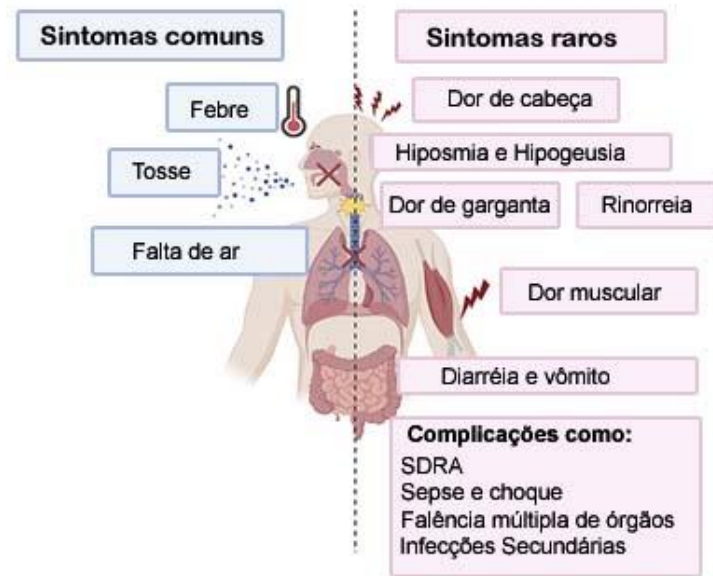
contaminadas diretamente por fluidos respiratórios contendo vírus ou indiretamente tocando superfícies com vírus (KUMARI et al., 2020; CHEN et al., 2020).

### 3.3 Espectro Clínico do COVID-19

Segundo a Sociedade Brasileira de Infectologia (2020), os sintomas mais frequentes da COVID-19 são: febre, tosse, dor de garganta, dor “tipo sinusite”, náuseas, perda de apetite, hiposmia (capacidade reduzida de olfato), hipogeusia (capacidade reduzida de sabor), cansaço, mialgia, dor torácica e falta de ar. Alguns pacientes apresentam sintomas gastrointestinais como náuseas, “dor de estômago” ou diarreia. O espectro clínico da infecção por SARS-CoV-2 varia de infecção assintomática a doença crítica. Entre os pacientes sintomáticos, o período médio de incubação é de aproximadamente 4 a 5 dias e 97,5% apresentam sintomas em 11,5 dias após a infecção. Em alguns pacientes hospitalizados, a falta de ar desenvolveu-se em média 5 a 8 dias após o início dos sintomas, a sua ocorrência é sugestiva de agravamento da doença (GANDHI et al., 2020; ACTER et al., 2020 ; HOMSI et al., 2020).

As evidências atuais mostram que a infecção pelo novo coronavírus atinge, igualmente, todos os ciclos de vida. Todavia, com diferenças significativas na sua apresentação clínica. Na criança, a doença é, usualmente, oligossintomática, simulando um quadro de resfriado comum ou até mesmo, assintomático. À medida que a idade avança, a infecção torna-se mais clinicamente manifesta, os principais sintomas são apresentados na figura 3. Assim, a doença nesses pacientes pode progredir rapidamente e causar complicações como síndrome do desconforto respiratório agudo, choque de sepse, falência múltipla de órgãos e infecção secundária que pode eventualmente levar à morte em um curto período de tempo. Portanto, o risco de complicações está diretamente relacionado com a idade e com a presença de comorbidades como: hipertensão arterial, diabetes mellitus, doença arterial coronariana, doença arterial periférica, insuficiência cardíaca, doença cerebrovascular, DPOC, doença renal crônica, hepatopatia crônica, câncer, entre outras (ALTURKI et al., 2020; MORAES, 2021).

Figura 3- Principais sintomas associados a infecção por SARS-CoV-2



Fonte: ALTURKI, et al., 2020.

A infecção pelo SARS-CoV-2 pode variar de casos assintomáticos e manifestações clínicas leves, até quadros moderados, graves e críticos, sendo necessária atenção especial aos sinais e sintomas que indicam piora do quadro clínico que exijam a hospitalização do paciente, conforme apresentado na tabela 2 abaixo (BRASIL, 2021b).

Tabela 2- Classificação dos sinais e sintomas da infecção pelo SARS-COV-2

<b>Classificação</b>	<b>Sinais e sintomas da infecção pelo SARS-COV-2</b>
Caso assintomático	Caracterizado por teste laboratorial positivo para covid-19 e ausência de sintomas.
Caso leve	Sintomas não específicos: tosse, dor de garganta ou coriza, seguido ou não de anosmia, ageusia, diarreia, dor abdominal, febre, calafrios, mialgia, fadiga e/ou cefaleia.
Caso moderado	Podem incluir desde sinais leves da doença, até sinais de piora progressiva (adinamia, prostração, hiporexia, diarreia), além da presença de pneumonia sem sinais ou sintomas de gravidade.
Caso grave	Síndrome Respiratória Aguda Grave (Síndrome Gripal que apresente dispneia/desconforto respiratório ou pressão

persistente no tórax ou saturação de oxigênio menor que 95% em ar ambiente ); hipoxemia, desconforto respiratório, alteração da consciência, desidratação, dificuldade para se alimentar, lesão miocárdica, elevação de enzimas hepáticas, disfunção da coagulação, rabdomiólise, cianose central ou SpO2 <90-92% em repouso e ar ambiente, letargia, convulsões, dificuldade de alimentação/recusa alimentar.

#### Caso crítico

Os principais sintomas são sepse, síndrome do desconforto respiratório agudo, insuficiência respiratória grave, disfunção de múltiplos órgãos, pneumonia grave, necessidade de suporte respiratório e internações em unidades de terapia intensiva.

---

Fonte: BRASIL, 2021b

A COVID-19 pode ser classificada em três estágios clínicos: no estágio 1, cerca de 80 a 84% dos pacientes infectados são ligeiramente sintomáticos; o estágio 2, pode ser dividido em dois momentos , 2 a , onde os pacientes apresentam pneumonia não hipoxêmica, mas podem evoluir para pneumonia hipoxêmica (estágio 2b); e no estágio 3 temos a síndrome do desconforto respiratório agudo. Deste modo, após 9 a 10 dias (período inflamatório da infecção) 17 a 20% dos pacientes podem evoluir para estágios mais graves 2b ou 3, com aumento da necessidade de oxigênio, e admissão em unidades de terapia intensiva (UTI) com ventilação mecânica não invasiva ou invasiva. Logo, essa progressão da doença está associada a altos níveis de citocinas pró-inflamatórias circulantes, frequentemente denominadas “tempestade de citocinas” (CAUCHOIS et al., 2020).

A COVID-19 pode afetar pessoas de qualquer idade, mas a pandemia tem evidenciado a vulnerabilidade dos idosos, principalmente aqueles acima de 75 anos, que apresentam maior probabilidade de desenvolver a doença grave e evoluir para óbito. Provavelmente devido a comorbidades subjacentes, como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (BONGIOVANNI, et al., 2021 ; OLIVEIRA, 2021). Segundo a OMS entre 2020 e 2030, a porcentagem da população do planeta com 60 anos ou mais aumentará em 34%. Outrossim, as sociedades devem estar preparadas para a mudança no perfil de demandas e necessidades decorrentes deste padrão de envelhecimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

O sistema imunológico senescente sofre alterações que afetam criticamente o desenvolvimento de respostas imunes adaptativas relacionada à involução do timo em cerca de 99% em idosos, em relação aos recém-nascidos, acarretando em frequências reduzidas de células T CD8 + e CD4 + virgens, diminuição na produção de anticorpos e reações de hipersensibilidade do tipo retardado reduzida, diminuindo assim, a competência do sistema imunológico para combater infecções por patógenos, como como SARS-CoV-2. (GORONZY et al., 2001; SANTOS et al., 2021; WESTMEIER et al., 2020).

Embora as células T senescentes não respondam à estimulação subsequente, assim como as células T anérgicas, elas são, em contraste, metabolicamente ativas e produzem abundantemente citocinas, incluindo IL-6 e TNF- $\alpha$ , uma vez que a mudança mais significativa relacionada à idade no sistema imunológico humano é a qualidade e o fenótipo do subconjunto de células T CD8 citotóxicas. Em infecções crônicas essas células T tornam-se experimentadas pelo antígeno e adquirem um fenótipo pró-inflamatório desregulado (VICENTE et al., 2016).

### **3.4 COVID-19 e biomarcadores imunoinflamatórios**

A resposta do organismo contra o SARS-CoV-2 envolve diferentes braços do sistema imune, incluindo barreiras de tecido, resposta inata e adaptativa, bem como mediadores de moléculas moduladoras. Assim, a entrada do vírus na célula hospedeira desencadeia a estimulação da resposta imunológica do hospedeiro, que será encontrado primeiro pelas células do sistema imunológico inato por meio de células apresentadoras de antígeno (APC), por exemplo, células dendríticas e macrófagos como linha de frente do sistema imunológico. APC tem Receptores de Reconhecimento de Padrões (PRR) incluindo receptores Toll-like (TLRs), NOD-like receptors (NLRs), RIG-I-like receptors (RLRs) e outras pequenas moléculas livres que estão localizadas em vários lugares nas células hospedeiras, como membranas plasmáticas, membrana endossômica, lisossomas, endocitolisossomos e citosol (ABOUDOUNYA e HEAD et al., 2021; ASTUTI e YSRAFIL et al., 2020).

O sistema imune inato do hospedeiro detecta infecções virais usando receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) para reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Os PAMPs reconhecidos por receptores Toll-like (TLRs) incluem lipídios, lipoproteínas, proteínas e ácidos nucléicos, bem como, membranas celulares,

endossomos, lisossomas, endocitolisossomos e outras pequenas moléculas que são encontradas nos componentes estruturais de vírus ou produtos intermediários, como dsRNA e induzem a sinalização em cascata para produzir efetores celulares do sistema imunológico (Li, G. et al., 2020).

A resposta do hospedeiro e a eliminação de infecções virais dependem fortemente da expressão do interferon tipo I (T1IFN). A expressão de T1IFN e sinais a jusante modulam as respostas celulares e reprogramam as células em um "estado antiviral", subsequentemente promovendo o controle da infecção e a eliminação do patógeno. No entanto, em alguns indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2, há uma supressão desses mecanismos, evitando assim, o reconhecimento do patógeno pelo sistema imunológico. A diminuição das respostas antivirais de IFN resulta em replicação viral descontrolada, bem como o bloqueia a maturação das células dendríticas e torna o sistema imunológico incapaz de montar resposta imune adaptativa eficiente, estando associado, portanto, à doença mais grave e pior prognóstico (AHMADPOUR e AHMADPOOR, 2020; FELSENSTEIN et al., 2020).

O sistema imunológico inato é a primeira linha de defesa, representa uma resposta rápida e estereotipada a um número grande, mas limitado, de estímulos, sendo é responsável por reconhecer certos componentes estruturalmente conservados de um vírus, por conseguinte, montar uma produção inicial de interferons, bem como de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. Os interfeons e outras citocinas recrutam células imunitárias (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células Natural Killer – NK) para as respostas celulares citotóxicas e adaptativas subsequentes. Assim, a apresentação do antígeno subsequentemente estimula a imunidade humoral e celular do corpo, que são mediadas por células B e T específicas do vírus e fazem parte do sistema imune adaptativo, que tem como objetivo a produção de anticorpos neutralizantes específicos contra o vírus e o desenvolvimento de memória duradoura contra o patógeno (CRUVINEL et al., 2010; DOS SANTOS, 2021).

O segundo braço da imunidade do hospedeiro contra a infecção viral é a imunidade adaptativa que envolve as respostas das células T e B. A entrada do vírus e a infecção celular desencadeiam a resposta imune do hospedeiro, e a cascata inflamatória é iniciada pelas células apresentadoras de antígeno (APC). Assim, o processo começa com a APC realizando duas funções: inicialmente apresentam o antígeno estranho às células  $CD4^+$  (Th1), por conseguinte, liberaram interleucina-12 para estimular ainda mais a célula Th1, essas células

que estimulam células  $CD8^+$ . As  $CD8^+$  terão como alvo quaisquer células contendo o antígeno estranho, podendo matar diretamente as células infectadas por vírus. Além disso, as células Th1 ativadas estimulam as células B a produzir anticorpos específicos para o antígeno (RABI et al., 2020; WANG et al., 2020; FELSENSTEIN et al., 2020).

As proteínas estruturais são os principais determinantes antigênicos responsáveis por induzir uma resposta imunológica contra infecções virais, logo, as respostas imunes humorais ao SARS-CoV-2 são mediadas por anticorpos que são direcionados às glicoproteínas de superfície viral, principalmente a proteína S e a proteína do nucleocapsídeo (N). Dentre elas, a proteína S é a proteína viral com epítomos mais antigênicos para induzir respostas de células T e B. Esses anticorpos se ligam ao vírus, mas apenas alguns são capazes de neutralizar a infecção viral de células e tecidos humanos que expressam a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) (POLAND et al., 2020; VERMA e SUBBARAO, 2021).

O principal papel dos anticorpos neutralizantes é a ligação ao antígeno e a interação com células que contêm receptores  $Fc\ \gamma$  para modular as respostas imunes subsequentes. O estudo de coorte realizado por Jiang et al., (2020) mostrou que na fase de convalescença foram detectados em amostras de soro de pacientes que se recuperaram do COVID-19 respostas IgG/IgM ao SARS-CoV-2, especialmente à proteína N, S1, ORF9b, nsp5. Assim, os anticorpos neutralizantes funcionais específicos para SARS-CoV-2 que são produzidos após infecção, vacinação ou ambos (glicoproteína anti-Spike e anti-RBD) são considerados importantes para a neutralização e depuração viral e são quantificados pelo uso de ensaios de neutralização *in vitro*. Por essas razões, os títulos de anticorpos podem ser bons biomarcadores para a eficácia protetora dos anticorpos e respostas imunes humorais bem-sucedidas após a exposição ao SARS-CoV-2 (POLAND et al., 2020).

Um estudo realizado inicialmente com 173 pacientes com infecção por SARS-CoV-2 mostrou soroconversão em 93% dos pacientes com um tempo médio de 11 dias após o início dos sintomas. O pico de resposta de anticorpos entre a segunda e a terceira semana após a infecção diminui posteriormente e é caracterizado pela presença de IgA, IgM e IgG no plasma e na saliva. Embora IgM seja a primeira linha de resposta humoral, uma particularidade da infecção por SARS-CoV-2 é que todos os três isotipos podem ser detectados em um intervalo de tempo estreito na soroconversão. Na verdade, IgG e IgA podem ser frequentemente detectados antes mesmo de IgM, indicando que a resposta IgM inicial pode ser fraca, que IgG específico ou precursor de célula B de IgA existem no compartimento de célula B de memória



ou que a troca ocorre rapidamente após o encontro com o antígeno. Portanto, a detecção de IgG ou IgA pode mostrar maior sensibilidade do que IgM nos estágios iniciais da infecção (ALIPOOR et al., 2021).

O SARS-CoV infecta principalmente as células epiteliais do pulmão, assim, o vírus é capaz de entrar em macrófagos e células dendríticas, sendo, portanto, um fator limitante na indução de citocinas pró-inflamatórias que podem contribuir para a evolução da doença, deste modo, muitas citocinas e quimiocinas são produzidas por esses tipos de células e estão elevadas no soro de pacientes infectados com SARS-CoV. Logo, entender os mecanismos imunológicos subjacentes às várias apresentações clínicas de COVID-19 é uma etapa crítica no delineamento de estratégias terapêuticas racionais (FEHR e STANLEY, 2015).

As primeiras citocinas liberadas são a interleucina 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que atraem os leucócitos circulantes para o local da infecção, incluindo neutrófilos, monócitos, macrófagos e células natural killer (NK). É importante destacar ainda que o TNF- $\alpha$  é uma citocina pleiotrópica, induzindo a produção de IL-1 e IL-6, e juntos, esses fatores promovem processos celulares como quimiotaxia, aumento da permeabilidade vascular e hiperalgesia (DA SILVA, et al., 2022). Essa resposta imunológica inicial adjacente ao sistema complemento constitui a resposta imune inata. Sequencialmente essas células atacam diretamente o patógeno invasor e também liberam citocinas adicionais, principalmente a interleucina-6 (IL-6), a qual pertence à família das glicoproteínas e está envolvida em vários processos imunomoduladores e inflamatórios. A IL-6 é produzida como resultado de lesões e infecções teciduais, e é essencial para invocar a resposta imune adaptativa, que recruta células T e células B para o local da infecção. Portanto, a IL-6 desempenha um papel significativo tanto na fase aguda quanto no processo inflamatório em si (GARG et al., 2021; LEVY e SANCHEZ, 2020).

Segundo Arunachalam, et al., (2020) a maioria dos pacientes com COVID-19 grave exibe níveis aumentados de marcadores pró-inflamatórios, incluindo IL-6 e IL-1 $\beta$ , bem como MCP-1, IP-10 e fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) no plasma. Deste modo, os níveis aumentados de mediadores pró-inflamatórios no plasma, incluindo IL-6, TNF e oncostatina M, associados a respostas imunes inatas suprimidas em monócitos sanguíneos e células dendríticas sugerem uma condição clínica semelhante à sepse.

Numerosos estudos delinearão a ação da patogênese de COVID-19 com a indução de tempestade de citocinas durante a fase progressiva da infecção. Assim, a síndrome do

desconforto respiratório agudo (SDRA) é uma complicação imunopatológica comum para infecções por MERS-CoV, SARS-CoV e SARS-CoV-2, como resultado de uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada resultante da liberação de grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias (IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, receptor de IL-2 (IL-2R), IL-10, IL-18, IL-33, TNF- $\alpha$ , TGF $\beta$ , etc.) e quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.) por células efetoras imunes na infecção por COVID-19. Logo, altos níveis dessas moléculas, incluindo IL-6, IL-2, receptor de IL-2 (IL-2R), IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , foi descrito em pacientes com COVID-19 grave e refratário. Da mesma forma, os pacientes que tiveram o óbito como desfecho, também exibiram níveis elevados de IL-6, IL-2R, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$  em comparação com pacientes recuperados (MOORE E JUNE et al., 2020; SLOMK et al., 2020; LI, X. et al., 2020; ELSHAZLI et al., 2020; MANGALMURTI et al., 2020), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Principais biomarcadores imunoinflamatórios associados à gravidade e/ou mortalidade de COVID-19.

<b>Biomarcadores imunoinflamatórios</b>	<b>Principais funções associadas à COVID-19</b>	<b>Referências</b>
IL-1	Níveis aumentados em pacientes com COVID-19 grave. Tem sido associada à SARS, hipercoagulação e coagulação intravascular disseminada, aumento da carga viral, perda da função pulmonar, dano pulmonar e risco de mortalidade.	COSTELA-RUIZ et al., 2020;
IL-2	Níveis elevados de IL-2 ou seu receptor IL-2R em pacientes com COVID-19 são diretamente proporcionais à gravidade da doença.	COSTELA-RUIZ et al., 2020;
IL-4	Em relação ao COVID-19 vários estudos detectaram níveis elevados de IL-4 como parte da tempestade de citocinas associada a sintomas respiratórios graves.	COSTELA-RUIZ et al., 2020;
IL-6	Associado à senescência e à exaustão de células T em pacientes idosos com COVID-19, sendo detectada em elevados níveis basais e	GUBERNATO ROVA et al., 2020; COSTELA-

---

	apresentando associação com danos cardíacos.	RUIZ et al., 2020;
IL-8	<p>Tem sido associada a danos nos tecidos. Os níveis séricos de IL-8 foram notavelmente mais altos em pacientes com COVID-19 com doenças leves ou graves em comparação com controles saudáveis.</p> <p>Atua em sinergia com IL-6 e IL-17 na fibrose pulmonar, promovendo a deposição de colágeno.</p>	LI et al., 2021.
IL-10	Níveis aumentados na segunda semana após o início dos sintomas, embora sem associação com imunodepressão. Acredita-se ter função como mecanismo de controle da tempestade de citocinas pró-inflamatórias observada em pacientes graves e críticos.	FARA et al., 2020;
IL-17	Associada com fase hiperinflamatória, tempestade de citocinas, com provável aumento da patologia pulmonar ou dano pulmonar e diminuição da sobrevivência. Interação sinérgica com IL-6 e IL-8 para o desenvolvimento da fibrose pulmonar.	SHIBABAW, T. 2020;
IFN- $\gamma$	Níveis elevados foram associados o aumento da carga viral e à gravidade da doença. O pico tardio, paralelamente à queda na contagem de linfócitos, parece promover aumento na infiltração de neutrófilos nos alvéolos pulmonares, juntamente com agravamento do estado do paciente.	FARA et al., 2020;
MCP-1	Aumenta rapidamente na fase aguda inicial da infecção e depois diminui progressivamente com o avanço da doença; níveis elevados de	COSTELA-RUIZ et al., 2020;

---

	MCP-1 no líquido do lavado broncoalveolar de pacientes com COVID-19 estão associados à patogénia do vírus.	
IP-10	Os níveis séricos elevados em pacientes com COVID-19 estão associados a uma carga viral mais alta, bem como, pacientes que necessitaram de internação na UTI, sugerindo sua relação com danos pulmonares e gravidade da doença.	COSTELA-RUIZ et al., 2020;
TNF- $\alpha$	Níveis séricos mais elevados em pacientes com COVID-19 grave admitidos na UTI e inversamente correlacionados com a contagem de células T.	COSTELA-RUIZ et al., 2020.
CXCL9 / MIG	Possível associação com elevado número de macrófagos e com recrutamento de células inflamatórias para o pulmão em pacientes com COVID-19 grave e moderada.	KHALIL et al., 2021.
RANTES	Níveis elevados na doença leve em relação aos casos graves e correlação com a contagem de linfócitos.	ZHAO et al., 2020.

---

Fonte: Própria

A infecção por betacoronavírus de monócitos, macrófagos e células dendríticas resulta em sua ativação e secreção de IL-6 e outras citocinas inflamatórias. Assim, a IL-6 tem propriedades pró-inflamatórias proeminentes e pode sinalizar através de duas vias principais conhecidas como sinalização cis clássica ou sinalização trans. A ativação da sinalização cis resulta em efeitos pleiotrópicos no sistema imune adquirido (células B e T), bem como no sistema imune inato [neutrófilos, macrófagos e células natural killer (NK)], que podem contribuir para a síndrome de liberação de citocinas. Na sinalização trans, altas concentrações circulantes de IL-6 ligam-se à forma solúvel de IL-6R (sIL-6R), formando um complexo com um dímero gp130 em potencialmente todas as superfícies celulares. Isso resulta em uma "tempestade de citocinas" sistêmica envolvendo a secreção de fator de crescimento endotelial

vascular, proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1), IL-8 e IL-6 adicional, bem como expressão reduzida de E-caderina em células endoteliais (MOORE e JUNE et al., 2020).

O acúmulo de evidências sugere que os pacientes com infecção pelo covid-19 que necessitaram de internação em unidades de terapia intensiva (UTI), apresentaram maiores concentrações de fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF), proteína induzida por interferon gama 10 (IP10), proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP1), proteína inflamatória de macrófagos 1alfa (MIP1 $\alpha$ ) e TNF $\alpha$  em comparação aos pacientes que não foram admitidos na UTI. Níveis mais elevados de IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$  foram encontrados em pacientes que foram a óbito (idade média 68 anos) em comparação com pacientes que se recuperaram da doença (idade média 51 anos) no Hospital Tongji em Wuhan, China (MAHMUDPOU, et al., 2020; CHEN, T. et al., 2020).

É importante destacar ainda a importância do papel do TGF- $\beta$  na diferenciação de células T auxiliares 17 de células T CD4 + naíve, de modo que, as células Th-17 geram IL-17, GM-CSF, IL-21 e IL-22. Assim, a IL-17 (formalmente, IL-17A) é o membro mais conhecido de uma família de citocinas multifuncionais, que promove a produção de uma grande quantidade de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, e está entre as citocinas que foram significativamente correlacionadas com o escore de Murray de lesão pulmonar e gravidade da doença em COVID-19. Portanto, para MERS-CoV, SARS-CoV e SARS-CoV-2, a gravidade da doença mostrou se correlacionar positivamente com os níveis de IL-17 e outras citocinas pró-inflamatórias relacionadas a Th17, como IL-1, IL-6, IL-15, TNF e IFN $\gamma$  (MAHMUDPOUR et al., 2020; PACHA et al., 2020).

De forma análoga a outros coronavírus e infecções virais, uma característica comum dos pacientes com COVID-19 é a linfocitopenia, aumento da PCR, aumento da VHS e aumento das enzimas hepáticas e mioenzimas. Nesses pacientes, o número total de linfócitos, T CD4<sup>+</sup>, TCD8<sup>+</sup>, células B e células Natural killer (células NK) diminui, sendo a redução de células T CD8<sup>+</sup> mais significativa. Assim, vários estudos relataram a prevalência de linfopenia entre 40% e 91,6% dos pacientes com COVID-19 e sugeriram que a linfopenia pode ser usada como um fator de predição prognóstica para COVID-19, bem como as alterações de proporção de neutrófilos / linfócitos (NLR) pode ter algum valor preditivo no diagnóstico e gravidade da doença. A depleção linfocítica nesses pacientes pode ser causado por ataque direto do coronavírus nos linfócitos ou por apoptose imunomediada dos linfócitos. Além disso, os monócitos desencadeiam a inflamação por meio da produção de citocinas e da

ativação de linfócitos. Neste sentido, estudos mostraram que a lesão pulmonar aguda e a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) em pacientes com COVID-19 são consistentes com a ativação excessiva de monócitos/macrófagos e tempestades de citocinas (KARIMI et al., 2020; SHANG et al., 2020; YUAN et al., 2020).

A importância de uma baixa contagem de linfócitos como sintoma hematológico de infecção por COVID-19 tornou-se evidente em vários estudos, a exemplo do estudo de Slomk et al (2020) e Elshazli et al (2020) que reforçam segundo os pesquisadores, que a gravidade entre os pacientes com COVID-19 pode estar correlacionada com níveis mais altos de contagem de leucócitos e níveis mais baixos de linfócitos, células T CD4<sup>+</sup> e contagens de células T CD8<sup>+</sup>. A este respeito, poderíamos especular que a depleção no número de contagem de linfócitos é diretamente proporcional à gravidade da infecção por COVID-19 e a alta taxa de sobrevivência da doença está associada à capacidade de renovar células linfocitárias, particularmente linfócitos T que são crucial para destruir as partículas virais infectadas.

Segundo Alipoor et al ., (2021) em pacientes graves com COVID 19, as respostas celulares T CD8<sup>+</sup> foram mais frequentes e robustas do que as respostas de células T CD4<sup>+</sup> e um aumento precoce no número de células T CD8<sup>+</sup> foi correlacionado com a gravidade da doença. As células T CD8<sup>+</sup> continham um grande número de grânulos citotóxicos que podem ter induzido lesões imunológicas graves nos pacientes. Nesse sentido, a COVID-19 também induz o esgotamento das células T, logo, a exaustão celular é um estado de disfunção dessas células que surge durante muitas infecções crônicas, bem como durante infecções virais persistentes. Além disso, a tempestade de citocinas também pode promover apoptose ou necrose das células T e, assim, reduzir seus números.

O achado mais comum em pacientes com COVID-19 é coagulopatia, apresentando um aumento da concentração de dímero D, diminuição relativamente modesta na contagem de plaquetas e um prolongamento do tempo de protrombina. Assim, estritamente ligada ao dano endotelial está a coagulopatia por ativação da cascata de coagulação, que pode favorecer a trombose arterial e venosa e, por fim, ocasionar a coagulação intravascular disseminada (CID). Outras anormalidades laboratoriais que podem ser relevantes para a coagulopatia são o aumento da enzima lactato desidrogenase (LDH), como marcador confiável de hemólise e, em alguns pacientes, concentrações notavelmente altas de ferritina que lembram os achados na microangiopatia trombótica (LEVI et al.; 2020; KREIDIEH e TEMRAZ, 2020).

Neste sentido, níveis elevados de dímero D, LDH e ferritina ganharam atenção na infecção por COVID-19 como um preditor de SDRA, risco de admissão em unidade de terapia intensiva (UTI) e risco de morte (CAVEZZI, et al., 2020 ; LEVI, et al.; 2020). Logo, mudanças nos parâmetros fisiopatológicos, como hematológicos e histopatológicos, podem atuar como uma medida para detectar a SARS-CoV-2. Assim, o monitoramento dos parâmetros hematológicos pode servir como indicador clínico de gravidade e prognóstico da doença para intervenção precoce do tratamento, mas não como ferramenta diagnóstica (KUMARI et al., 2020).

Diversos estudos apresentam similaridades no diagnóstico laboratorial, o que contribui para uma melhor compreensão para o desfecho clínico laboratorial do SARS-CoV-2, e também são ferramentas cruciais no manejo clínico e evolução da doença. Nesse sentido, os estudos realizados por (GANDHI et al. 2020; KREIDIEH e TEMRAZ, 2020) relatam que o nível de procalcitonina é geralmente normal, o que é esperado em pacientes com infecção não complicada por SARS-CoV-2, ao passo que pacientes com coinfeção bacteriana sobreposta e, portanto, desenvolvendo uma infecção grave são mais propensos a ter um nível elevado de procalcitonina, uma vez que durante as infecções bacterianas, a produção de procalcitonina é amplificada e sustentada pelo aumento da produção de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6, por outro lado, sua produção é regulada negativamente pelo INF- $\gamma$ , que aumenta nas infecções virais.

Diante desse contexto, esse trabalho buscou estudar biomarcadores imunoinflamatórios em idosos hospitalizados diagnosticados com COVID-19, e avaliar a correlação das alterações dos biomarcadores como preditores no desfecho de prognósticos de maior gravidade, uma vez que , níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias correlacionam-se com pneumonia grave e evolução com Síndrome respiratória aguda grave, que favorecem aumento da morbidade e mortalidade nesse grupo de risco. Assim, podemos destacar a necessidade e importância de estudos clínicos controlados para elucidar o papel dos biomarcadores inflamatórios no COVID-19 para o direcionamento das pesquisas de tratamentos que sejam eficazes, buscando prevenir a ocorrência de formas graves da doença, contribuindo para um desfecho positivo e diminuição da taxa de mortalidade.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Caracterização da pesquisa e da população do estudo

Foi realizado um estudo de coorte observacional, longitudinal e prospectivo, compreendendo o período entre junho e agosto de 2020, em 92 pacientes com evolução clínica para internação hospitalar diagnosticado com covid-19 por Rt-pcr, no hospital Metropolitano Dom José Maria Pires, um hospital terciário de referência em João Pessoa, Paraíba, Brasil, que é um hospital designado para tratar pacientes com pneumonia por SARS-CoV-2. Foi obtido um termo de consentimento por escrito dos participantes ou representante legal. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário Lauro Wanderley (CAAE:31562720.9.0000.5183) (BELTRÃO et al., 2021).

As amostras foram obtidas com ausência de aleatoriedade, e foram incluídos no estudo todos os pacientes que testaram positivo para SARS-CoV-2 usando a reação em cadeia da polimerase da transcriptase reversa quantitativa em tempo real (rRT-qPCR) com amostras do trato respiratório e, em casos de rRT-qPCR negativo, usando exames clínicos, radiológicos (opacidades em vidro fosco, com ou sem consolidação, localizadas próximas às superfícies pleurais viscerais e distribuição bilateral multifocal – CO-RADS 5) e critérios sorológicos (IgG positivo para SARS-CoV-2). O kit rRT-PCR utilizou Biomol OneStep/COVID-19, IBMP, Paraná, Brasil. O acompanhamento dos pacientes internados compreendeu desde o início do processo de internação à alta hospitalar ou óbito. Como critério de exclusão os pacientes que não foi confirmado diagnóstico clínico e/ou laboratoriais e radiológicos para SARS-CoV-2, de acordo com as orientações provisórias da organização mundial da saúde (BELTRÃO et al., 2021).

As informações clínicas detalhadas de cada paciente foram obtidas a partir da análise do prontuário durante o período de internação, por meio de um questionário padrão. Dois sistemas de pontuação de gravidade foram usados na admissão: (i) a avaliação rápida de falência de órgãos relacionada à sepse, (ii) o National Early Warning Score 2. Os pacientes foram submetidos a tomografia computadorizada (TC) de tórax na admissão hospitalar para investigar uma suspeita de SARS-CoV-2 pneumonia.



## **4.2 Classificação do espectro clínico da doença com base nos sintomas**

Todos os casos foram divididos em duas classificações clínicas: graves e críticos. Casos graves (não críticos) foram classificados para pacientes que preencheram qualquer um dos seguintes critérios: frequência respiratória >30 ciclos/min, saturação de oxigênio <93% em repouso, pressão arterial parcial de oxigênio (PaO<sub>2</sub>)/concentração de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) <300 mmHg (1 mmHg = 0,133 kPa) e extensão da lesão pulmonar (opacidade em vidro fosco) estimada >50%. Foram considerados casos críticos os pacientes que preencheram algum dos seguintes critérios: manifestação de insuficiência respiratória com necessidade de ventilação mecânica, presença de choque e outras falhas orgânicas que necessitem de acompanhamento e tratamento em UTI. Para os pacientes que atenderam aos critérios de inclusão, amostras de sangue foram coletadas antes de intervenções ou terapias que poderiam interferir ou alterar os níveis séricos de citocinas (BELTRÃO, et al., 2021).

## **4.3 Análise laboratorial**

As amostras de soro dos pacientes foram submetidas à avaliação do perfil imunoinflamatório, por dosagem de citocinas (IL-17A, IFN, TNF, IL-10, IL-6, IL-4, IL-2) e quimiocinas (IP-10/CXCL-10, MCP-1/CCL-2, MIG/CXCL-9, RANTES/CCL-5, IL-8), por técnica de citometria de fluxo, utilizando kit BD Human TH1/Th2/Th17 e BD Human Chemokines (BD Biosciences, USA), respectivamente. As amostras foram incubadas com coquetel de esferas do kit para detecção das citocinas, segundo fabricante. Foram analisadas em aparelho citômetro de fluxo (BD Accuri C6, USA), utilizando painel de análise que acompanha o kit. A concentração de cada citocina foi determinada de acordo com a curva de regressão linear obtida pelos padrões que acompanham os kits (NECO et al., 2017).

## **4.4 Análise estatística**

As variáveis foram analisadas quanto à distribuição de normalidade pelo teste Shapiro-Wilk, sendo consideradas não paramétricas. Comparações entre os níveis de citocinas e quimiocinas entre os indivíduos graves e críticos e entre sobreviventes e não sobreviventes foram avaliados pelo teste de Mann-Whitney. O teste de correlação de Spearman foi usado para observar qualquer correlação dos níveis de citocinas e quimiocinas entre si e com

parâmetros bioquímicos e hematológicos dentro dos grupos. As diferenças foram consideradas significativas em  $p < 0,05$ , usando o software GraphPad Prism 9.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliado um total de 92 amostras de pacientes com evolução clínica para internação hospitalar diagnosticados com COVID-19 por RT-PCR conforme apresentado na (Tabela 4).

Os pacientes foram distribuídos em dois grupos, os pacientes graves, que contemplam os que não foram admitidos na unidade de terapia intensiva (UTI), e os pacientes críticos, que representa o grupo que evoluíram com entrada na UTI. Dentre esses dois grupos, ainda foi realizada uma análise dos pacientes que receberam alta hospitalar e os que tiveram o óbito como desfecho final. A distribuição das formas de apresentação da COVID-19 para esse estudo contemplaram 66 casos de pacientes com quadro clínico grave e 26 pacientes com a forma crítica de apresentação da doença. A tabela 4 apresenta os dados sociodemográficos dos idosos com COVID-19 de acordo com o desfecho óbito.

Tabela 4- Dados sociodemográficos dos idosos com COVID-19

	<b>Desfecho</b>	
	Sobrevivente (N= 79)	Não sobrevivente (N= 13)
<b>Sexo, n (%)</b>		
<b>Feminino</b>	36 (87,80)	5 (12,20)
<b>Masculino</b>	43 (84,31)	8 (15,69)
<b>Idade, média (desvio padrão)</b>	67,14 (10,89)	70 (13,12)
<b>Forma clínica, n (%)</b>		
<b>Grave</b>	65 (98,48)	1 (1,52)
<b>Crítico</b>	14 (53,85)	12 (46,15)

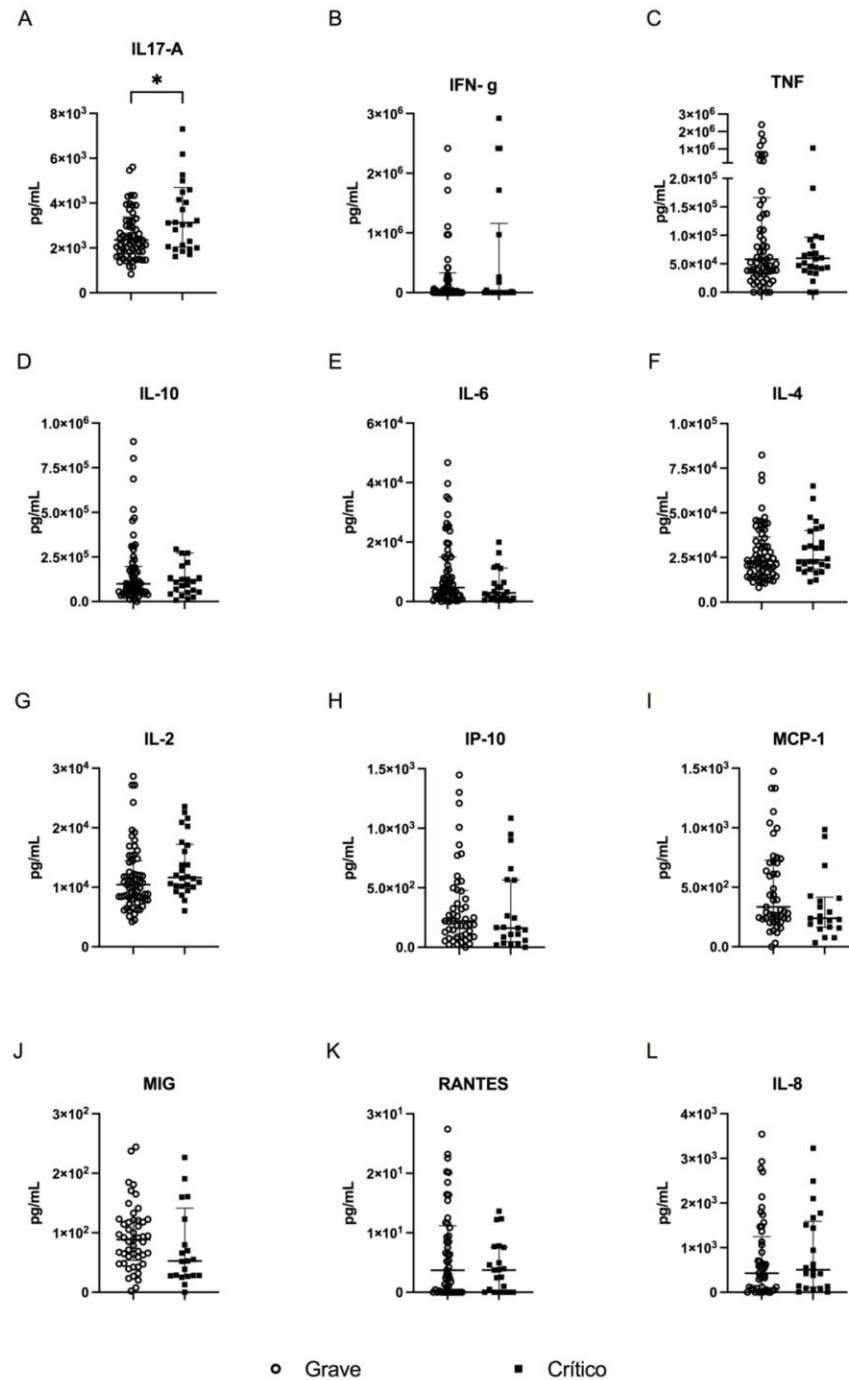
Fonte: dados da pesquisa

Os resultados apresentados na tabela 4 corroboram os dados existentes em outros estudos, onde os idosos com mais de 60 anos de idade foram os mais gravemente atingidos, com uma média de idade entre 64 e 66 anos, com piores desfechos no sexo masculino (YUAN et al., 2020; FOGARTY et al., 2020).

Para avaliar se os níveis séricos das citocinas poderiam servir como marcador de gravidade da COVID-19, elas foram analisadas nos 92 pacientes do estudo, de forma isolada,

sem levar em consideração as demais variáveis do estudo. Logo, a IL-17 A, foi a única que apresentou diferença estatística, com aumento significativo nos pacientes críticos em comparação aos pacientes graves conforme apresentado na figura 4.

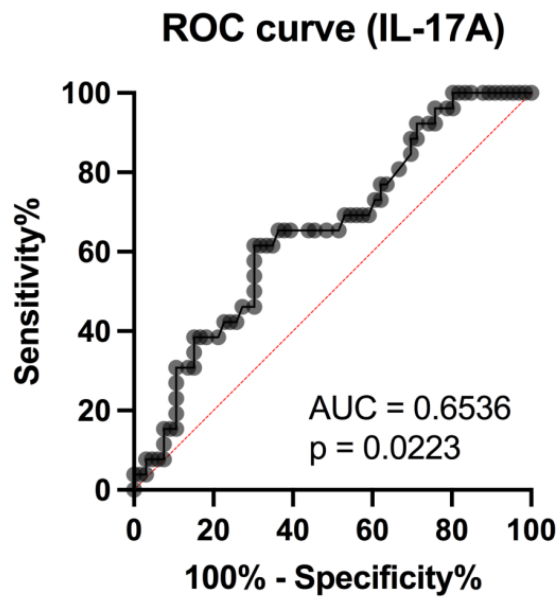
Figura 4 - Biomarcadores inflamatórios em soro de pacientes idosos diagnosticados com COVID-19 segundo classificação entre graves e críticos.



Fonte: dados da pesquisa

Como níveis mais altos de IL-17 A foram associados ao pior prognóstico dos pacientes, foi feito ainda a análise da curva ROC (Característica Operacional do Receptor) para confirmar a capacidade de discriminação dessa citocina como um biomarcador importante no diagnóstico e prognóstico desses pacientes, a área sob a curva (AUC) foi 0,65, conforme a apresentado na figura 5.

Figura 5 - Curva de ROC IL-17A



Fonte: dados da pesquisa

Perfis semelhantes a este estudo de citocinas pró-inflamatórias foram observados por Pacha e colaboradores (2020), ao analisar amostra de pacientes com COVID-19, a elevação de IL-17, além de outras citocinas distintas, foi positivamente correlacionada com um aumento da pontuação de Murray para lesão pulmonar. A IL-17 apresentou uma AUC de 0,926, indicando uma capacidade muito boa de distinguir entre casos graves e leves de COVID-19. Em conjunto, essas análises de pacientes com doença pulmonar induzida por coronavírus sugerem que a IL-17 pode servir como um biomarcador de gravidade da doença e um alvo potencial de terapia para mitigar os danos do SARS-CoV-2, particularmente no pulmão.

Um estudo de meta-análise realizado por Fadlallah et al., (2021) também está consistente com nossos dados, o grupo de pesquisa investigou a relação entre níveis elevados

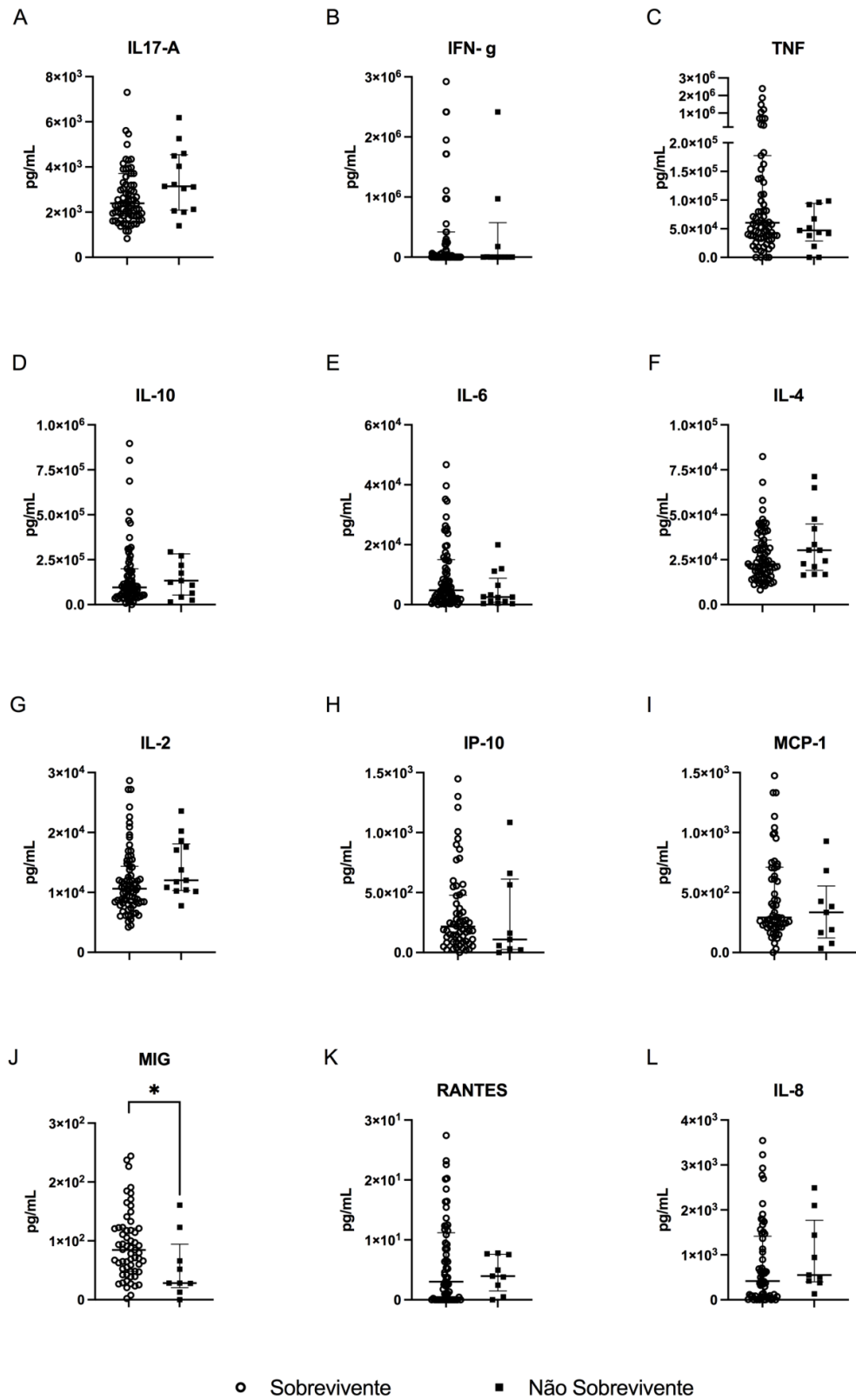
da IL-17 A e gravidade da doença, e indicou que os níveis de IL-17 A são um pouco mais altos no grupo grave do que no grupo moderado. Embora o aumento dos níveis séricos em indivíduos com doença grave em relação àqueles com doença moderada tenha sido estatisticamente significativo, a associação não foi tão robusta quanto as outras comparações.

Segundo Azevedo et al., (2020) a reação inflamatória pulmonar a agentes infecciosos, tem início com uma resposta Th1/Th17, produzindo IL-17 e estimulando citocinas pró-inflamatórias, com consequente aumento da permeabilidade vascular permitindo que os intensos infiltrados neutrofílicos dêem o primeiro combate na infecção viral .

Funcionalmente, as células Th17 desempenham um papel na defesa do hospedeiro contra patógenos extracelulares em virtude de sua produção de IL-17 e IL-17F e mediando o recrutamento de neutrófilos e macrófagos para tecidos infectados, deste modo, a IL-17 é um mediador notável e predominante da inflamação pulmonar, em conjunto com a IL-6 e IL-8, e são sinergicamente responsáveis pela fibrose pulmonar secundária à função aberrante de fibroblastos e células epiteliais ou derrame pleural do pulmão, e a persistência viral resulta em dispneia e provoca SARS. Portanto, as respostas imunes desreguladas e exuberantes induzidas por IL-17 demonstraram potencialmente causar a doença COVID-19 em estágio 3 (caracterizada por uma fase hiperinflamatória, tempestade de citocinas), provavelmente através do aumento da patologia pulmonar ou dano pulmonar e diminuição da sobrevivência (SHIBABAW, T. 2020; MENDOZA, 2020).

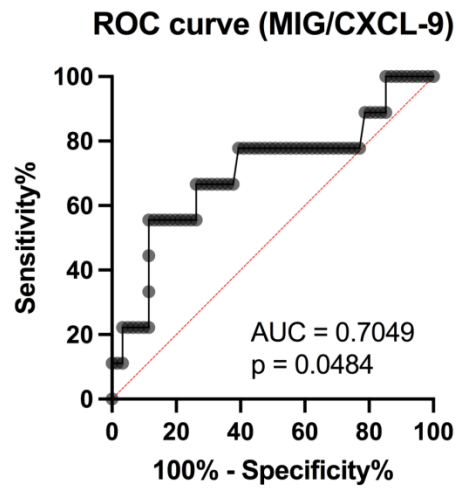
Além de IL-17 A identificamos outro biomarcador inflamatório com significância estatística na infecção por COVID-19 e fortemente correlacionadas com a gravidade clínica. Assim, a análise dos níveis plasmáticos da quimiocina CXCL-9 também conhecida como monocina induzida por interferon gama (MIG), estão altamente associados à gravidade da doença e predizem a progressão do COVID-19, uma vez que a correlação dos pacientes que receberam alta hospitalar e dos que evoluíram com óbito, independe da admissão na UTI, apresentou níveis mais baixos nos pacientes que foram a óbito conforme apresentado na figura 6; e a análise de ROC mostrou uma área sob a curva (AUC) de 0,70, conforme apresentado na figura 7, podendo portanto, ser um indicativo de prognóstico nesses pacientes auxiliando na identificação daqueles com maior risco de desenvolver complicações em casos graves.

Figura 6 - Biomarcadores inflamatórios em soro de pacientes idosos diagnosticados com COVID-19 segundo desfecho de sobrevivente ou não sobrevivente.



Fonte: dados da pesquisa

Figura 7 – Curva de ROC MIG/CXCL-9

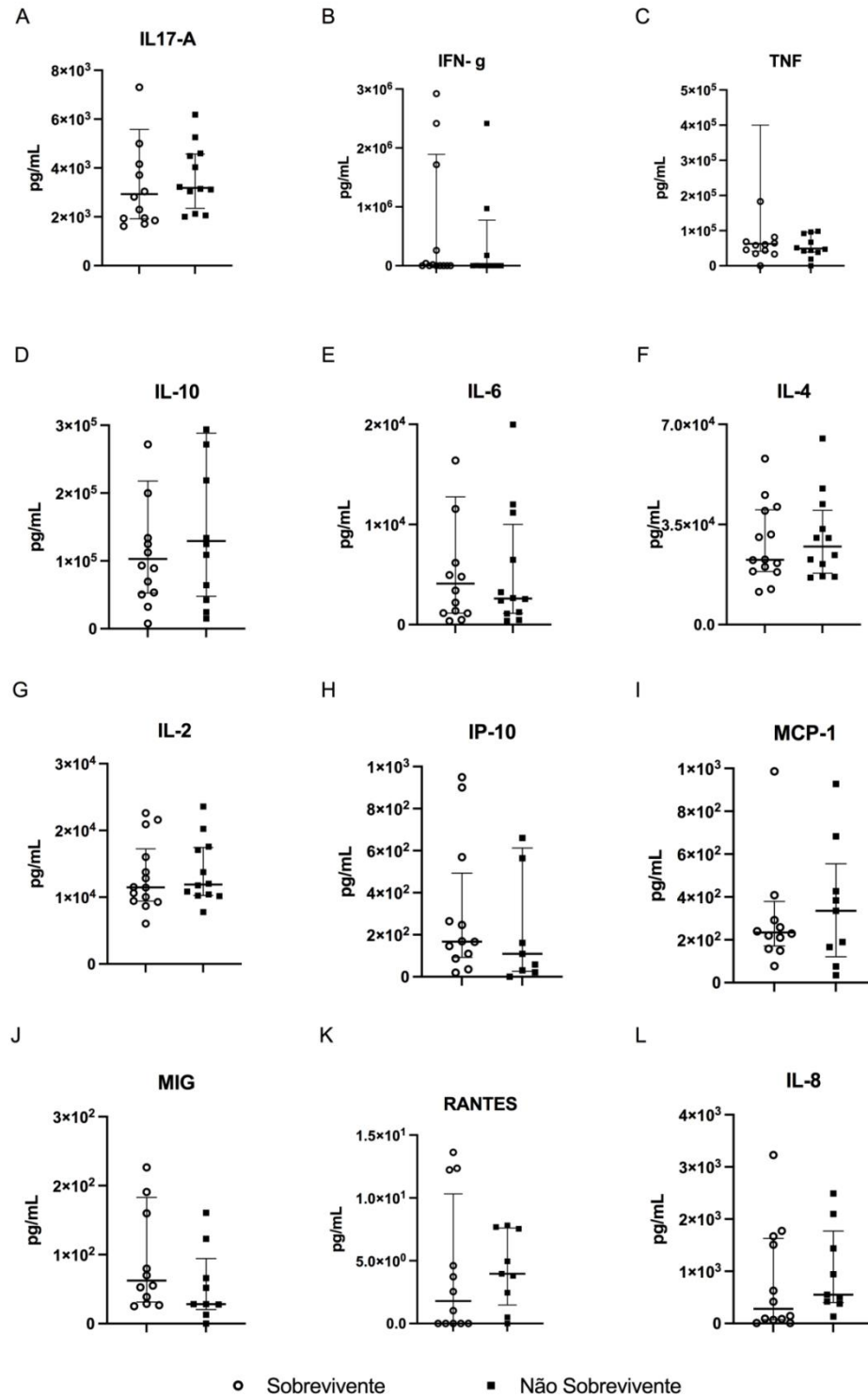


Fonte: dados da pesquisa

De acordo com a figura 8 que apresenta os biomarcadores inflamatórios de pacientes idosos com a forma clínica crítica de COVID-19 segundo desfecho de sobrevivente e os que evoluíram com óbito, os resultados foram que entre os pacientes com forma clínica COVID-19 crítica não houve diferença entre os níveis de citocinas ou quimiocinas detectadas no soro, não apresentando diferença estatística.



Figura 8- Biomarcadores inflamatórios em soro de pacientes idosos com a forma clínica crítica de COVID-19 segundo desfecho de sobrevivente ou não sobrevivente.



Fonte: dados da pesquisa

Deste modo, as quimiocinas, desempenham um papel crítico no combate a infecções virais, recrutando células imunes inatas e adaptativas para os locais de infecção e aumentando sua função citotóxica e sua capacidade de produzir mediadores antivirais. Embora as quimiocinas sejam vitais para atrair células imunes para eliminar o vírus, a expressão exacerbada leva a inflamação excessiva e, conseqüentemente, SDRA. Assim, o controle de quimiocinas e seus efeitos inflamatórios são cruciais para o manejo da doença. Além disso, estudar o perfil de quimiocinas de maneira temporal em pacientes com COVID-19 pode melhorar nossa compreensão dos processos imunopatológicos da infecção por SARS-CoV-2 e pode servir como um importante marcador prognóstico para progressão e desfecho da doença (BARIAA et al., 2021).

Além disso, a idade representa um fator chave na morbidade e mortalidade por COVID-19, deste modo, uma coorte realizada por Angioni, et al., (2020) avaliou o perfil imunológico de pacientes hospitalizados com COVID-19, identificou um perfil de biomarcadores inflamatórios distinto dependente da idade associada à gravidade da doença. Logo, concluíram que fatores circulantes definidos - CXCL8, IL-10, IL-15, IL-27 e TNF- $\alpha$ , bem como redução significativa no número total de linfócitos T e um aumento da expressão de marcadores de exaustão de células T - correlacionam-se positivamente com idade mais avançada, maior tempo de hospitalização e uma forma mais grave da doença.

Bariaa, et al., (2021) afirmam que entre as quimiocinas significativamente elevadas em casos fatais de COVID-19, CXCL8, CCL2 e CCL3 aumentaram de forma semelhante em casos leves e graves durante os estágios iniciais da infecção e permaneceram em níveis estáveis posteriormente em casos leves. No entanto, essas moléculas aumentaram ainda mais durante os estágios finais da infecção nos pacientes que foram a óbito. Por outro lado, os níveis de CXCL9, CXCL10 e CCL7 não mudaram durante os estágios finais da doença e sua regulação positiva significativa para níveis mais altos em pacientes fatais os tornam importantes preditores da gravidade do COVID-19.

É importante destacar ainda que o acúmulo de células T efectoras em locais de inflamação autoimune está fortemente correlacionado com a expressão de CXCR3, que é um receptor de quimiocina que é altamente expresso nessas células e desempenha um papel importante no tráfego e função dos linfócitos T. Logo, o CXCR3 é rapidamente induzido em células virgens após a ativação e, preferencialmente, permanece altamente expresso em células T CD4<sup>+</sup> do tipo Th1 e células T CD8<sup>+</sup> efectoras. No tocante as quimiocinas o CXCR3

é ativado por três ligantes induzíveis por interferon CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10) e CXCL11 (I-TAC) (GROM; LUSTER, 2011).

Em relação ao perfil inflamatório dos pacientes com COVID-19, é importante destacar que a síndrome de liberação de citocinas, a superativação das células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> efectoras e a produção de citocinas e quimiocinas geram uma lesão hiperinflamatória descontrolada em nível tecidual, resultando em lesão local em virtude do recrutamento de células. O aumento da inflamação está associado à linfopenia no sangue periférico, que é uma das características imunológicas mais importantes da doença que está associada à gravidade, com uma queda significativa na proporção linfócito/neutrófilo e disfunção de células T CD4<sup>+</sup> (COPAESCU et al.; 2020).

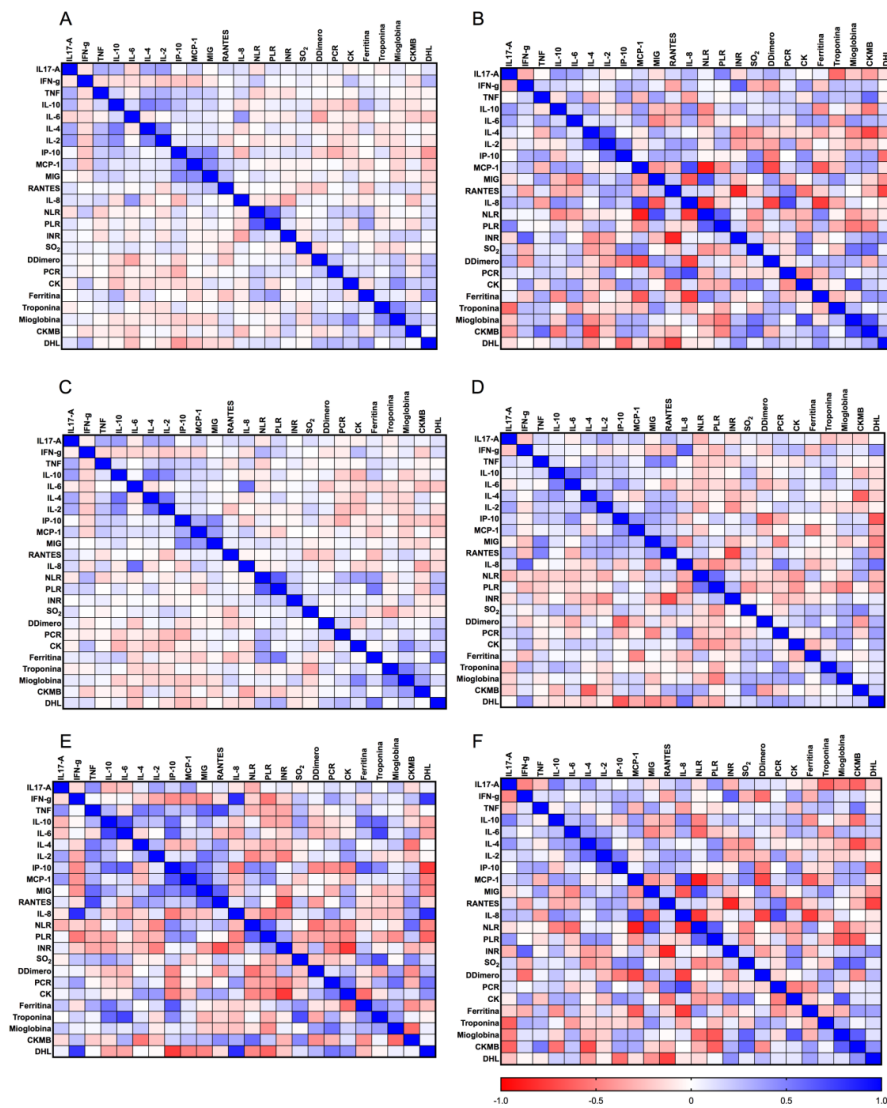
Deste modo, no caso de uma resposta imune defeituosa, há um aumento do acúmulo de células imunes nos pulmões, superprodução de citocinas pró-inflamatórias levando a danos nos tecidos pulmonares, SDRA e danos em múltiplos órgãos devido à tempestade de citocinas resultante que pode culminar no óbito. Assim, o sistema imunológico inato tende a se desregular com o envelhecimento e adquire fenótipos pró-inflamatórios acompanhados de inflamação tecidual (BAJAJ, et al., 2021). Consistente a isso, diferenças conhecidas na função imune das células T e células B relacionadas à idade podem levar a um controle insuficiente da replicação viral, aumentando a gravidade da doença. (NETEA et al., 2020).

Portanto, a relação neutrófilo-linfócito (NLR) é um parâmetro usado para avaliar o estado inflamatório de um sujeito. Um estudo desenvolvido por Prozan, et al., (2021) foi comparado diretamente a associação entre a NLR e um escore composto de resultados adversos entre três vírus (SARS-CoV-2, vírus da gripe (A e B) e vírus sincicial respiratório (VSR). No grupo COVID-19, o resultado clínico ruim foi associado a maior NLR. Além disso, ao realizar a análise ROC, apenas no grupo COVID-19 a NLR teve capacidade de discriminação entre pacientes com resultados ruins e favoráveis. Logo, esses resultados sugerem fortemente que a NLR é um marcador prognóstico mais valioso no COVID-19 em comparação com a gripe e o RSV.

Portanto, diante desse contexto os níveis mais baixos da quimiocina CXCL9 nos pacientes que foram a óbito estão correlacionados positivamente com RNL, deste modo, quanto maior a quantidade de neutrófilos no sangue, maior a quantidade de CXCL9. Como os pacientes críticos evoluíram para óbito, tendo provavelmente como um dos determinantes a liberação em massa de citocinas e quimiocinas, o recrutamento de células para o local da

infecção pelo sistema imunológico, na tentativa de regular o cenário crítico inflamatório, pode levar a exaustão de células circulantes. Conforme apresentado na figura 9, a diminuição de neutrófilos circulantes, culmina em níveis séricos baixos de CXCL9. Já em relação a IL-8 está correlacionado de maneira invertida, logo, a neutrofilia produz menos IL-8, acarretando em uma resposta imunológica deficiente, pode se justificar, pelo fato de que, como os pacientes foram a óbito, a IL-8 que poderia ajudar a eliminar a infecção está presente em níveis baixos na circulação do paciente.

Figura 9 - Correlações entre os biomarcadores inflamatórios séricos e variáveis de interesse clínico em pacientes idosos diagnosticados com COVID-19.



A - Sobrevivente; B - Óbito geral; C - Graves; D - Críticos; E - Dentro dos críticos Alta; F - Dentro dos críticos Mortalidade  
Fonte: dados da pesquisa

De fato, muitas quimiocinas elevadas no sangue de pacientes com COVID-19, como CXCL9 e CXCL10, estão envolvidas no recrutamento e/ou diferenciação de células T virgens em Th1 células (BARTLESON et al., 2021). Assim, a depleção linfocítica em pacientes infectados, pode ser explicado pelo mecanismo de que pode ser causado por ataque direto do coronavírus nos linfócitos ou por apoptose imunomediada dos linfócitos (YUAN et al., 2020).

Em conformidade com o apresentado nesse estudo, a gravidade da COVID-19 está associada à linfopenia, e muitos estudos mostraram uma correlação entre o mau prognóstico da doença e a redução do número total de células T periféricas no sangue. Ademais, a linfopenia observada no COVID-19 grave pode ser ainda mais prejudicial para indivíduos idosos, pois a imunossenescência leva a respostas mais fracas das células T que podem ser ainda mais exacerbadas por um declínio no número de células T (BARTLESON et al., 2021).

Deste modo, com a senescência a imunidade inata e a função da imunidade adaptativa diminuem. Isso é caracterizado por: reconhecimento diminuído do patógeno; quimiotaxia e fagocitose de macrófagos, células natural killer e neutrófilos; uma diminuição na diversidade (TCR) de receptores de células T que reconhecem vírus; e o timo, que é o principal responsável pela produção de células T imaturas, começa a ser substituído por tecido adiposo naqueles com mais de 60 anos, de modo que a reserva de células T imaturas diminui. Ao mesmo tempo, a capacidade de secreção de anticorpos das células B diminui com a idade, o que pode levar à diminuição da resposta imune e à degradação irreversível da imunidade inata e adquirida. Essas mudanças impossibilitam que os idosos combatam e resolvam a infecção por COVID-19 de maneira eficaz e eficiente (LI, Q.; CHENGYU, Z., 2021; BARTLESON, et al., 2021).

Deste modo, a identificação de indicadores de gravidade da doença, podem ser uma excelente ferramenta para ajudar na elucidação da patogênese da doença, diagnóstico e prognóstico, auxiliando no manejo clínico de pacientes com COVID-19, com grande impacto na tomada de decisão que refletirão no desfecho final de cada paciente.

## 6- CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho permitem inferir no tocante ao perfil imunoinflamatório sérico em idosos hospitalizados diagnosticados com COVID-19, que a IL-17A e a quimiocina CXCL-9 foram os biomarcadores mais proeminentes correlacionadas à progressão da doença entre as formas clínicas de apresentação da infecção abordadas nesse estudo. Além disso, os níveis mais baixos da quimiocina CXCL-9 nos pacientes que foram a óbito estão correlacionados positivamente com RNL, que pode ser consequência do recrutamento de células com receptor CXCR3 para o sítio da infecção, exacerbando a resposta inflamatória no local.

Portanto, foi possível discutir os perfis de citocinas e quimiocinas e de suas correlações entre si e com parâmetros bioquímicos e hematológicos referentes aos diferentes estágios da infecção por SARS-CoV-2 abordados nesse estudo (grave e crítico) e sua importância na estratificação de pacientes em risco de desenvolver complicações na população do estudo, considerando ainda a importância da imunossenescência e envelhecimento inflamatório e como esses processos influenciam na resposta imune dos idosos frente a infecções virais.

Com base nos valores preditivos e prognósticos do perfil imunoinflamatório, esses biomarcadores devem ser incluídos nos testes clínicos de rotina de pacientes com COVID-19. Uma vez que a análise desses biomarcadores inflamatórios durante os estágios da infecção ajudará a identificar o possível desfecho da doença e a probabilidade de desenvolvimento de complicações, sendo, portanto um cerne para tomada de decisões e conduta clínica direcionada para a prevenção da ocorrência de formas graves da doença, contribuindo de forma significativa para a diminuição da morbimortalidade.

## REFERENCIAS

ABOUDOUNYA, M. M.; HEADS, R. J. COVID-19 and Toll-like receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 may bind and activate TLR4 to increase ACE2 expression, facilitating entry and causing Hyperinflammation. **Mediators of Inflammation**. v. 2021, p. 18, Jan. 2021.

ACTER, T.; UDDIN, N.; DAS, J.; AKHTER, A.; CHOUDHURY, T. R.; KIM, S. Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency. **Science of the total Environment**. v. 730, p.138996, Aug. 2020.

AHMADPOUR, D.; AHMADPOOR, P. How the COVID-19 Overcomes the Battle? An Approach to Virus Structure. **Iranian Journal of Kidney Diseases**. v. 14, n.3 , p.167-172, May. 2020.

ALHARBI, S. N.; ALREFAEI, A.F. Comparison of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) M protein with its counterparts of SARS-CoV and MERS-CoV species. **Journal of King Saud University-Science**. v. 33, n. 2, p. 101335, Mar. 2021.

ALIPOOR, S. D.; MORTAZ, E.; JAMAATI, H.; TABARSI, P.; BAYRAM, H.; VARAHRAM, M.; ADCOCK, I. M. COVID-19: Molecular and Cellular Response. **Frontiers in cellular and infection microbiology**. v. 11, 563085, p.27 , feb. 2021.

AL-QAHTANI, A.A. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Emergence, history, basic and clinical aspects. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 27, n.10, p. 2531-2538, Oct. 2020.

ALTURKI, S.; ALTURKI, S. O.; CONNORS, J.; CUSIMANO, G.; KUTZLER, M. A.; IZMIRLY, A. M.; HADDAD, E. K. The 2020 pandemic: current SARS-CoV-2 vaccine development. **Frontiers in immunology**. v 11, p.1880, Aug. 2020.

ANGIONI, R.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, R.; MUNARI, F.; BERTOLDI, N.; ARCIDIACONO, D.; CAVINATO, S.; MARTURANO, D.; ZARAMELLA, A.; REALDON, S.; CATTELAN, A.; VIOLA, A.; & MOLON, B. Age-severity matched cytokine profiling reveals specific signatures in Covid-19 patients. **Cell death & disease**. v. 11, n. 11, p.957, Nov. 2020.

ARUNACHALAM, P.S.; WIMMERS, F.; MOK, C. K. P.; PERERA, R. A. P. M.; SCOTT, M.; HAGA, T.; ... & PULENDRAN, B. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. **Science**. v. 369, n. 6508, p. 1210-1220, Aug. 2020.

ASGHARI, A.; NASERI, M.; SAFARI, H.; SABOORY, E.; PARSAMANESH, N. The novel insight of SARS-CoV-2 molecular biology and pathogenesis and therapeutic options. **DNA and Cell Biology**. v. 39, n. 10, p. 1741-1753, Oct. 2020.

- ASTUTI, I.; YSRAFIL. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. **Diabetes & metabolic syndrome**. v. 14, n. 4, p.407–412, Mar. 2020.
- AZEVEDO, M. L. V.; ZANCHETTIN, A. C.; VAZ DE PAULA, C. B.; MOTTA JÚNIOR, J. D. S.; MALAQUIAS, M. A. S.; RABONI, S. M.; ... & DE NORONHA, L. Lung Neutrophilic Recruitment and IL-8/IL-17A Tissue Expression in COVID-19. **Frontiers in immunology**. v. 12, p.947, Mar. 2021.
- BAJAJ, V.; GADI, N.; SPIHLMAN, A. P.; WU, S. C.; CHOI, C. H.; & MOULTON, V. R. Aging, immunity, and COVID-19: how age influences the host immune response to coronavirus infections?. **Frontiers in Physiology**. v. 11 , p.1793, Jan. 2021.
- BAKHSHANDEH, B.; JAHANAFROOZ, Z.; ABBASI, A.; GOLI, M. B.; SADEGHI, M.; MOTTAQI, M. S.; ZAMANI, M. Mutations in SARS-CoV-2; Consequences in structure, function, and pathogenicity of the virus. **Microbial Pathogenesis**. v. 154, p.104831, May. 2021.
- BARIAA, A. K.; NOHA, M.E.; AZZAM, A.M. Chemokines and chemokine receptors during COVID-19 infection. **Computational and Structural Biotechnology Journal**. v. 19, p. 976-988, Jan. 2021.
- BARTLESON, J. M.; RADENKOVIC, D.; COVARRUBIAS, A. J.; FURMAN, D.; WINER, D. A.; VERDIN, E. SARS-CoV-2, COVID-19 and the aging immune system. **Nature Aging**. v. 1, n. 9, p. 769-782, Sept. 2021.
- BELTRÃO, F. E. D. L., BELTRÃO, D. C. D. A., CARVALHAL, G., BELTRÃO, F. E. D. L., BRITO, A. D. S., CAPISTRANO, K. H. R. D., ... & RAMOS, H. E. Thyroid hormone levels during hospital admission inform disease severity and mortality in COVID-19 Patients. **Thyroid**. v. 31, n. 11, p. 1639-1649, Nov. 2021.
- BIANCHI, M.; BENVENUTO, D.; GIOVANETTI, M.; ANGELETTI, S.; CICCOCZZI, M.; PASCARELLA, S. Sars-CoV-2 envelope and membrane proteins: structural differences linked to virus characteristics?. **BioMed Research International**. v. 2020, 4389089, May. 2020.
- BONGIOVANNI, M.; DE LAURETIS, A.; MANES, G.; MARRA, A.M.; BODINI, B.D.; PELLEGRINI, L.; BERRA, S.A.; PICASCIA, D.; SCHETTINO, M.; BINI, F. Clinical characteristics and outcome of COVID-19 pneumonia in elderly subjects. **Journal of Infection**. v. 80, n. 2, p.33-34, Feb. 2021.
- BOUHADDOU, M.; MEMON, D.; MEYER, B.; WHITE, K. M.; REZELJ, V. V.; MARRERO, M. C.; KROGAN, N. J. The global phosphorylation landscape of SARS-CoV-2 infection. **Cell**. v. 182, n. 3, p.685-712, Aug. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico especial doença pelo coronavírus COVID-19 até a semana epidemiológica 5 de 2021. **Boletim Epidemiológico**. Brasília, DF, v. 33, n.1. p.1-112, 2021.



BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico especial doença pelo coronavírus COVID-19 até a semana epidemiológica 10 de 2022. **Boletim Epidemiológico**. Brasília, DF, p.1-109, 2022.

BRASIL.b Coronavírus. Sintomas. [online]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/sintomas>. Acesso em: 28 de agosto de 2021.

CAI, Y.; ZHANG, J.; XIAO, T.; PENG, H.; STERLING, S. M.; WALSH, R. M.; CHEN, B. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. **Science**. v. 369, n. 6511, p. 1586-1592, Sept. 2020.

CAUCHOIS, R.; KOUBI, M.; DELARBRE, D.; MANET, C.; CARVELLI, J.; BLASCO, V. B.; KAPLANSKI, G. Early IL-1 receptor blockade in severe inflammatory respiratory failure complicating COVID-19. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 11, n. 32, p. 18951-18953, Aug. 2020.

CAVASOTTO, C.N.; LAMAS, M.S.; MAGGINI, J. Functional and druggability analysis of the SARS-CoV-2 proteome. **European Journal of Pharmacology**. v.890, p. 173705, jan. 2021.

CAVEZZI, A.; TROIANI, E.; CORRAO, S. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. **Clinics and Practice**. v. 10, n. 2, p. 24-30, May. 2020.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. SARS-CoV-2 é transmitido pela exposição a fluidos respiratórios infecciosos. [online]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>. Acesso em: 28 de agosto de 2021.

CHAN, J. F.; KOK, K. H.; ZHU, Z.; CHU, H.; TO, K. K.; YUAN, S.; YUEN, K. Y. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. **Emerging microbes & infections**. v. 9, n.1, p. 221–236, Jan. 2020.

CHEN, B.; TIAN, E. K.; HE, B.; TIAN, L.; HAN, R.; WANG, S.; CHENG, W. Overview of lethal human coronaviruses. **Signal transduction and targeted therapy**. v.5, n.1, p.1-16, June. 2020.

CHEN, T.; WU, D. I.; CHEN, H.; YAN, W.; YANG, D.; CHEN, G.; NING, Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. **The Bmj**. v. 368, Mar. 2020.

CHI, X.; YAN, R.; ZHANG, J.; ZHANG, G.; ZHANG, Y., HAO, M., ... & CHEN, W. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2. **Science**. v. 369, n. 6504, p.650-655, Aug. 2020.

CHIA, W.N.; TAN, C.W.; FOO, W.; KANG, A.E.Z.; PENG, Y.; SIVALINGAM, V.; TIU, C.; ONG, X.M.; ZHU, F.; YOUNG, B.E.; CHEN, M.C.; TAN, Y.; LYE, C.; ANDERSON,

D.; WANG, L. Serological differentiation between COVID-19 and SARS infections. **Emerging Microbes & Infections**. v. 9, n. 1, p. 1497-1505, Jan. 2020.

COPAESCU, A.; SMIBERT, O.; GIBSON, A.; PHILLIPS, E. J.; & TRUBIANO, J. A. The role of IL-6 and other mediators in the cytokine storm associated with SARS-CoV-2 infection. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 146, n. 3, p.518-534, Sept. 2020.

COSTELA-RUIZ, V. J.; ILLESCAS-MONTES, R.; PUERTA-PUERTA, J. M.; RUIZ, C.; MELGUIZO-RODRÍGUEZ, L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. **Cytokine & growth factor reviews**. v. 54, p. 62-75, Aug. 2020.

CRUVINEL, W. D. M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. D.; SILVA, N. P. D.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v.50, n.4, p. 434-447, Aug. 2010.

DA SILVA, P.R.; DO ESPÍRITO SANTO, R.F.; MELO, C.D.O.; PACHÚ, C. F.E.; COSTA, T.B.; BARBOSA, Y.V.; E SILVA, Y.M.S.D.M.; DE SOUSA, N.F.; VILLARREAL, C.F.; DE MOURA, R.O.; DOS SANTOS, V.L. The Compound (*E*)-2-Cyano-*N*,3-diphenylacrylamide (JMPR-01): A Potential Drug for Treatment of Inflammatory Diseases. **Pharmaceutics**. v. 14, n.1 ,p. 188, Jan. 2022.

DEKOSKY, B.J. A molecular trap against COVID-19. **Science**. v. 369, p. 1167-1168, Sept. 2020.

DOS SANTOS, W.G. Impact of virus genetic variability and host immunity for the success of COVID-19 vaccines. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 136, p. 111272, Apr. 2021.

DUAN, L.; ZHENG, Q.; ZHANG, H.; NIU, Y.; LOU, Y.; WANG, H. The SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Biosynthesis, Structure, Function, and Antigenicity: Implications for the Design of Spike-Based Vaccine Immunogens. **Frontiers in immunology**. v. 11, p. 2593, Oct. 2020.

ELSHAZLI, R.M.; TORAIH, E.A.; ELGAML, A.; EL-MOWAFY, M.; EL-MESERY,M.; AMIN, M.N.; HUSSEIN, M.H.; KILLACKEY, M.T.; FAWZY, M.S.; KANDILL, E. Diagnostic and prognostic value of hematological and immunological markers in COVID-19 infection: A meta-analysis of 6320 patients. **PLoS ONE** . v. 15, n. 8, p. 1-20, May. 2020.

FADLALLAH, S.; EDDIN, M.S. S.; RAHAL, E. A. IL-17A in COVID-19 Cases: a meta-analysis. **The Journal of Infection in Developing Countries**. v. 15, n. 11, p. 1630-1639, July. 2021.

FARA, A.; MITREV, Z.; ROSALIA, R. A.; ASSAS, B. M. Cytokine storm and COVID-19: a chronicle of pro-inflammatory cytokines. **Open biology**. v. 10, n. 9, 200160. Sept. 2020.

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. **Methods in molecular biology**. v. 1282, p. 1-23, Feb. 2015.

- FELSENSTEIN, S.; HERBERT, J. A.; MCNAMARA, P. S.; HEDRICH, C. M. COVID-19: Immunology and treatment options. **Clinical immunology**. v. 215, 108448, June. 2020.
- FORGATY, H.; TOWNSEND, L.; NI, C.; BERGIN, C.; MATRIN-LOECHES, I.; BROWNE, P.; BACON, C.L.; GAULE, R.; GILLETT, A.; BYRNE, M.; ... & O'DONNELL, J.S. COVID-19 coagulopathy in Caucasian patients. **British Journal of Hematology**. v. 189, n. 6, p. 1044-1049, June. 2020.
- FORNI, D.; CAGLIANI, R.; CLERICI, M.; SIRONI, M. Molecular Evolution of Human Coronavirus Genomes. **Trends in Microbiolog**. v. 25, n. 1, p. 35-48, Jan. 2017.
- FTIHA, F.; SHALOM, M.; JRADEH, H. Neurological symptoms due to Coronavirus disease 2019. **Neurology international**. v. 12, n. 1, p. 15-18, July. 2020.
- GANDHI, R.T.; LYNCH, J.B.; DEL RIO, C. Mild or Moderate Covid-19. **New England Journal of Medicine**. v. 383, n. 18, p. 1757-1766, Oct. 2020.
- GARG, M.; SHARMA, A. L.; SINGH, S. Advancement in biosensors for inflammatory biomarkers of SARS-CoV-2 during 2019–2020. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 171, p. 112703, Jan. 2021.
- GHODAKE, G. S.; SHINDE, S. K.; KADAM, A. A.; SARATALE, R. G.; SARATALE, G. D.; SYED, A.; ... & KIM, D. Y. Biological characteristics and biomarkers of novel SARS-CoV-2 facilitated rapid development and implementation of diagnostic tools and surveillance measures. **Biosensors and Bioelectronics**, v.177, p.112969, Apr. 2021.
- GORONZY, J. J.; FULBRIGHT, J. W.; CROWSON, C. S.; POLAND, G. A.; O'FALLON, W. M.; WEYAND, C. M. Value of immunological markers in predicting responsiveness to influenza vaccination in elderly individuals. **Journal of virology**. v. 75, n. 24, p. 12182-12187, Dec. 2001.
- GROOM, J. R.; LUSTER, A. D. CXCR3 in T cell function. **Experimental cell research**. v. 317, n. 5, p.620–631, Mar. 2011.
- GROSS, L.; SACERDOTI, M.; PIIPER, A.; ZEUZEM, S.; LEROUX, A. E.; BIONDI, R. M. ACE2, the Receptor that Enables Infection by SARS-CoV-2: Biochemistry, Structure, Allostery and Evaluation of the Potential Development of ACE2 Modulators. **ChemMedChem**. v.15, n.18, p.1682–1690, Sept. 2020.
- GUBERNATOROVA, E. O.; GORSHKOVA, E. A.; POLINOVA, A. I.; DRUTSKAYA, M. S. IL-6: relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. **Cytokine & growth factor reviews**. v. 53, p. 13-24, June. 2020.
- HAAKE, C.; COOK, S.; PUSTERLA, N.; MURPHY, B. Coronavirus infections in companion animals: virology, epidemiology, clinical and pathologic features. **Viruses**. v.12, n. 9, p.1023, Sept. 2020.

- HATMAL, M. M. M.; ALSHAER, W.; AL-HATAMLEH, M. A.; HATMAL, M.; SMADI, O.; TAHA, M. O.; PLEBANSKI, M. Comprehensive structural and molecular comparison of spike proteins of SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV, and their interactions with ACE2. **Cells**. v. 9, n.12, p. 2638, Dec. 2020.
- HOMSI, M.E.; CHUNG, M.; BERNHEIM, A.; JACOBI, A.; KING, M.J.; LEWIS, S.; TAOULI, B. Review of chest CT manifestations of COVID-19 infection. **European Journal of Radiology Open**. v. 7, n. 1, June. 2020.
- HUANG, Y.; YANG, C.; XU, X. F.; XU, W.; LIU, S. W. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. **Acta Pharmacologica Sinica**. v. 41, n. 9, p. 1141-1149, Aug. 2020 a.
- HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y. ; CAO, B et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The lancet**. v. 395, n. 10223, p. 497-506, Feb. 2020 b.
- JIANG, H. W.; LI, Y., ZHANG, H. N.; WANG, W.; MEN, D.; YANG, X.; TAO, S. C. Global profiling of SARS-CoV-2 specific IgG/IgM responses of convalescents using a proteome microarray. **MedRxiv**. Mar. 2020.
- JIANG, S.; HILLYER, C.; DU, L. Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses. **Trends Immunol**. v.41, n.5, p. 355-359, May. 2020.
- KANNAN, S.; SUBBARAM, K.; ALI, S.; KANNAN, H. Molecular Characterization and Amino Acid Homology of Nucleocapsid (N) Protein in SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERS-CoV, and Bat Coronavirus. **Journal of pure and applied microbiology**. v. 14, n. 1, p. 757-763, May. 2020.
- KARIMI SHAHRI, M.; NIAZKAR, H. R.; RAD, F. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing pieces. **International journal of laboratory hematology**. v.43, n.2, p.160–168, Dec. 2020.
- KHALIL, B. A.; ELEMAM, N. M.; MAGHAZACHI, A. A. Chemokines and chemokine receptors during COVID-19 infection. **Computational and structural biotechnology journal**. v.19, p. 976–988, Jan. 2021.
- KIM, D.; LEE, J.; YANG, J.; KIM, J.W; KIM, V.N.; CHANG, H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. **Cell**. v. 181, n. 4, p. 914-921, May. 2020.
- KREIDIEH, F.; TEMRAZ, S. SARS-CoV-2 Infected Patient: from a Hematologist's Perspective. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**. v.12, n.1, 2020078, Nov. 2020.
- KUMARI, P.; SINGH, A.; NGASAINAO, M.R.; SHAKEEL, I.; KUMAR, S.; LAL, S.; SINGHAL, A.; SOHAL, S.; SINGH, I.K.; HASSAN, M. Potential diagnostics and therapeutic approaches in COVID-19. **Clinica Chimica Acta**. v. 510, p. 488-497, Aug. 2020.

LAHA, S.; CHAKRABORTY, J.; DAS, S.; MANNA, S. K.; BISWAS, S.; CHATTERJEE, R. Characterizations of SARS-CoV-2 mutational profile, spike protein stability and viral transmission. **Infection, Genetics and Evolution**. v.85, p.104445, Nov. 2020.

LEVI, M.; THACHIL, J.; IBA, T.; LEVY, J. H. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. **The Lancet Haematology**. v.7, n.6, p. 438-440, June. 2020.

LEVY, H.R.; SANCHEZ, C.I.S. COVID-19 and cytokine storm syndrome. **Medical Laboratory Observer**. v. 52, n. 6, p. 8-15, June. 2020.

LI, G.; FAN, Y.; LAI, Y.; HAN, T.; LI, Z.; ZHOU, P.; PAN, P.; WANG, W.; HU, D.; LIU, X.; ZHANG, Q.; WU, J. Coronavirus infections and immune responses. **Journal of medical virology**. v. 92, n. 4, p.424–432, Apr. 2020.

LI, L.; LI, J.; GAO, M.; FAN, H.; WANG, Y.; XU, X.; ... & YANG, H. Interleukin-8 as a biomarker for disease prognosis of coronavirus disease-2019 patients. **Frontiers in immunology**. v. 11, p. 3432, Jan. 2021.

LIU, J.; XIE, W.; WANG, Y.; XIONG, Y.; CHEN, S.; HAN, J.; WU, Q. A comparative overview of COVID-19, MERS and SARS. **International journal of surgery**. v. 81, p. 1-8, July. 2020.

LI, Q.; CHENGYU, Z. A Review of the Current Status of Clinical Management of COVID-19 in the Elderly. **Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research**. v. 27, 930278, Apr. 2021.

LI, X.; GENG, M.; PENG, Y.; MENG, L.; LU, S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. v. 10, n.2, p.102-108, Apr. 2020.

MADABHAVI, I; SARKAR, M; KADAKOL, N. COVID-19: a review. **Monaldi Archives for Chest Disease**. v. 90, n. 2, p.248-258, May. 2020.

MAHMUDPOUR, M.; ROOZBEH, J.; KESHAVARZ, M.; FARROKHI, S.; NABIPOUR, I. COVID-19 cytokine storm: The anger of inflammation. **Cytokine**. v. 133, p.155151, Sept. 2020.

MANGALMURTI, N.; HUNTER, C. A. Cytokine storms: understanding COVID-19. **Immunity**. v. 53, n. 1, p. 19-25, June. 2020.

MASOOD, N.; MALIK, S. S.; RAJA, M. N.; MUBARIK, S.; YU, C. Unraveling the epidemiology, geographical distribution, and genomic evolution of potentially lethal coronaviruses (SARS, MERS, and SARS CoV-2). **Frontiers in cellular and infection microbiology**. v. 10, p.499. Aug. 2020.

MENDOZA, V.M.M. Interleukin-17: A potential therapeutic target in COVID-19. **Journal of Infection**. v. 81, n. 2, p. e136-e138, June. 2020.

- MOORE, J.B.; JUNE, C.H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. **Science**. v. 368, n. 6490, p. 473-474, May. 2020.
- MORAES, E.N. Determinantes de morbimortalidade da covid-19 no idoso: idade, comorbidades ou fragilidade?. Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASSES). Profissionais de saúde e cuidados primários. Coleção COVID-19. v. 4, p.229-241, 2021.
- MUNIZ, I. A. F. ; LINDEN, L. V. D. ; SANTOS, M. E. ; RODRIGUES, R. C. S. ; SOUZA, J. R.; OLIVEIRA, R. A. S.; CASTELLANO, L. R. ; BONAN, PAULO R. F. . SARS-CoV-2 and saliva as a diagnostic tool: a real possibility. **Pesquisa brasileira em odontopediatria e clínica integrada**. v. 20, p. 1-7, Aug. 2020.
- MUKHERJEE, S.; BHATTACHARYYA, D.; BHUNIA, A. Host-membrane interacting interface of the SARS coronavirus envelope protein: Immense functional potential of C-terminal domain. **Biophysical chemistry**. v. 266, p.106452, Nov. 2020.
- NAQVI, A.A.T.; FATIMA, K.; MOHAMMAD, T.; FATIMA, U.; SINGH, I.K.; SINGH, A.; ATIF, S.M.; HARIPRASAD, G.; HASAN, G.M.; HASSA, M.I. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. **Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease**. v. 1866, n.10, p. 165878 June. 2020.
- NECO, H. V. P. D. C.; TEIXEIRA, V. G. D. S.; DA TRINDADE, A. C. L.; MAGALHAES, P. M. R.; DE LORENA, V. M. B.; CASTELLANO, L. R. C.; ... & DE MORAIS, C. N. L. Mediators go together: high production of CXCL9, CXCL10, IFN- $\gamma$ , and TNF- $\alpha$  in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **AIDS research and human retroviruses**. v.33, n. 11, p. 1134-1139, Nov. 2017.
- NETEA, M. G.; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E. J.; DOMÍNGUEZ-ANDRÉS, J.; CURTIS, N.; VAN CREVEL, R.; VAN DE VEERDONK, F. L.; & BONTEN, M. Trained immunity: a tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. **Cell**. v. 181, n. 5, p.969-977, May. 2020.
- O'LEARY, V. B.; DOLLY, O. J.; HÖSCHL, C.; ČERNA, M.; OVSEPIAN, S. V. Unpacking Pandora From Its Box: Deciphering the Molecular Basis of the SARS-CoV-2 Coronavirus. **International journal of molecular sciences**. v. 22, n.1, p.386, Jan. 2020.
- OLIVEIRA, Kleber Wanderson. **O Cuidado ao Idoso na Atenção Primária à Saúde em Tempos de COVID19**: Panorama atual da covid-19 no mundo e na américa latina, com abordagem no idoso. São Paulo: REDESAM, 2021. E-book (213 p.). ISBN: 978-65-88556-02-3. Disponível em:  
[http://conteudosdigitais.eerp.usp.br/ebooks/O\\_cuidado\\_ao\\_idoso\\_na\\_atencao\\_primaria\\_a\\_sau\\_de\\_em\\_tempos\\_de\\_covid-19.pdf](http://conteudosdigitais.eerp.usp.br/ebooks/O_cuidado_ao_idoso_na_atencao_primaria_a_sau_de_em_tempos_de_covid-19.pdf). Acesso em: 12 de fevereiro de 2022.
- PACHA, O.; SALLMAN, M.A.; EVANS, S.E. COVID-19: a case for inhibiting IL-17? **Nature reviews Immunology**. v. 20, n. 6, p.345-346, June. 2020.

PAPAGEORGIU, A. C.; MOHSIN, I. The SARS-CoV-2 spike glycoprotein as a drug and vaccine target: Structural insights into its complexes with ACE2 and antibodies. **Cells**. v. 9, n. 11, p. 2343, Oct. 2020.

PARCZEWSKI M.; CIECHANOWICZ, A. Molecular epidemiology of SARS-CoV-2: a review of current data on genetic variability of the virus. **Polish archives of internal medicine**, v.131, n.1, Jan. 2020.

POLAND, G.A.; Ovsyannikova, I.G.; Kennedy, R.B. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. **The Lancet**. v. 396, n. 10262, p. 1595-1606, Oct. 2020.

PRADO, E.O.; RIVERA, K.S.; BARRENO, L.G.; NEIRA, M.R.; GUAMAN, L.P.; KYRIAKIDIS, N.C.; MUSLIN, C.; JARAMILLO, A.M.G.; OSTRIA, C.B.; ROBALINO, D.C.; SANMIGUEL, H.S.; UNIGARRO, L.; ZALAKEVICIUTE, R.; GADIAN, N.; CORTES, A.L. Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v. 98, n. 1, p.31, May. 2020.

PRASAD, N.; GOPALAKRISHNAN, N.; SAHAY, M.; GUPTA, A.; AGARWAL, S. K. Epidemiology, genomic structure, the molecular mechanism of injury, diagnosis and clinical manifestations of coronavirus infection: An overview. **Indian Journal of Nephrology**. v. 30, n. 3, p. 143, May. 2020.

PROZAN, L.; SHUSTERMAN, E.; ABLIN, J.; MITELPUNKT, A.; WEISS-MEILIK, A.; ADLER, A.; KEHAT, O. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in COVID-19 compared with Influenza and respiratory syncytial virus infection. **Scientific Reports**. v.11. n. 1, p.1-8, Nov. 2021.

PUM, A.; ENNEMOSER, M.; ADAGE, T.; KUNGL, A.J. Cytokines and chemokines in SARS-CoV-2 infections—therapeutic strategies targeting cytokine storm. **Biomolecules**. v. 11, n. 1, p. 91, Jan. 2021.

RABI, F.A.; AL ZOUBI, M.S.; KASASBEH, G.A.; SALAMEH, D.M.; AL-NASSER, A.D. SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. **Pathogens**. v. 20, n. 9, p.231, Mar. 2020.

RASTOGI, M.; PANDEY, N.; SHUKLA, A.; SINGH, S. K. SARS coronavirus 2: from genome to infectome. **Respiratory Research**. v. 21, n. 1, p.1-15, Dec. 2020.

SAKR, M.M.; ELSAYED, N.S.; EL-HOUSSEINY, G. S. Latest updates on SARS-CoV-2 genomic characterization, drug, and vaccine development; a comprehensive bioinformatics review. **Microbial Pathogenesis**. v.154, p.104809, May. 2021.

SANTERRE, M.; ARJONA, S. P.; ALLEN, C. N.; SHCHERBIK, N.; SAWAYA, B. E. Why do SARS-CoV-2 NSPs rush to the ER?. **Journal of Neurology**. v. 268, n. 6, p. 2013-2022, Sept. 2020.

- SANTOS, J. C.; RIBEIRO, M. L.; GAMBERO, A. The impact of polyphenols-based diet on the inflammatory profile in COVID-19 elderly and obese patients. **Frontiers in Physiology**. p.1783, Jan. 2021.
- SARKAR, M.; SAHA, S. Structural insight into the role of novel SARS-CoV-2 E protein: A potential target for vaccine development and other therapeutic strategies. **PLoS One**, v. 15, n. 8, p. e0237300, Aug. 2020.
- SATARKER, S.; NAMPOOTHIRI, M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. **Archives of Medical Research**. v. 51, n. 6, p.482-491, Aug. 2020.
- SCHNEIDER, W. M.; LUNA, J. M.; HOFFMANN, H. H.; SÁNCHEZ-RIVERA, F. J.; LEAL, A. A.; ASHBROOK, A. W.; ... & POIRIER, J. T. Genome-scale identification of SARS-CoV-2 and pan-coronavirus host factor networks. **Cell**. v. 184, n.1, p. 120-132, Jan. 2021.
- SETTE, A.; CROTTY, S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. **Cell**. v. 184, n. 4, p. 861-880, Feb. 2021.
- SHANG, W.; DONG, J.; REN, Y.; TIAN, M.; LI, W.; HU, J.; LI, Y. The value of clinical parameters in predicting the severity of covid-19. **Journal of medical virology**. v. 92, p. 2188– 2192, May. 2020.
- SHEREEN, M. A.; KHAN, S.; KAZMI, A.; BASHIR, N.; SIDDIQUE, R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **Journal of advanced research**. v.24, p. 91-98, July. 2020.
- SHIBABAW, T. Inflammatory Cytokine: IL-17A Signaling Pathway in Patients Present with COVID-19 and Current Treatment Strategy. **Journal of Inflammation Research**. v.13, n.9, p.673-680, Oct. 2020.
- SLOMOK, A.; KOWALEWSKI, M.; ZEKANOWSKA, E. Coronavirus Disease 2019 (COVID–19): A Short Review on Hematological Manifestations. **Pathogen**. v. 9, n.6, p. 493, May. 2020.
- Sociedade Brasileira de Infectologia. ATUALIZAÇÕES E RECOMENDAÇÕES SOBRE A COVID-19. Disponível em: <https://infectologia.org.br/wp-content/uploads/2020/12/atualizacoes-e-recomendacoes-covid-19.pdf>. Acesso em 29 de dezembro de 2020.
- SONG, P.; LI, W.; XIE, J.; HOU, Y.; YOU, C. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2. **Clinica Chimica Acta**. v. 509, p. 280-287, Oct. 2020.
- SU, S.; WONG, G.; SHI, W.; LIU, J.; LAI, A.C.K.; ZHOU, J.; LIU, W.; BI, Y.; GAO, G.F. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. **Trends in Microbiology**. v. 24, n. 6, p. 490-502, June. 2016.



- TAHERIZADEH, M.; TABIBZADEH, A.; PANAHI, M.; TAMESHKEL, F. S.; GOLAHDOOZ, M.; NIYA, M. H. K. An introduction to SARS coronavirus 2; comparative analysis with MERS and SARS coronaviruses: a brief review. **Iranian Journal of Public Health**. v.49, p.30-37, Apr. 2020.
- TANG, T.; BIDON, M.; JAIMES, J. A.; WHITTAKER, G. R.; DANIEL, S. Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. **Antiviral research**. v. 178, p. 104792, June. 2020.
- THOMAS, S. The structure of the membrane protein of sars-cov-2 resembles the sugar transporter semisweet. **Pathogens and Immunity**. v. 5, n. 1, p. 342-363, Oct. 2020.
- VERMA, J.; SUBBARAO, N. A comparative study of human betacoronavirus spike proteins: structure, function and therapeutics. **Archives of Virology**. v. 166, p. 1-18, Jan. 2021.
- VICENTE, R.; MAUSSET-BONNEFONT, A. L.; JORGENSEN, C.; LOUIS-PLENCE, P.; BRONDELLO, J. M. Cellular senescence impact on immune cell fate and function. **Aging Cell**. v. 15, n. 3, p.400-406. Feb. 2016.
- XIA, H.; CAO, Z.; XIE, X.; ZHANG, X.; CHEN, J.Y.; WANG, H.; MENACHERY, V.D.; RAJSBAUM, R.; SHI, P. Evasion of type I interferon by SARS-CoV-2. **Cell reports**. v. 33, n. 1, 108234, Oct. 2020.
- XIE, M.; CHEN, Q. Insight into 2019 novel coronavirus—An updated interim review and lessons from SARS-CoV and MERS-CoV. **International Journal of Infectious Diseases**. v. 94, p. 119-124, May. 2020.
- YAO, H.; SONG, Y.; CHEN, Y.; WU, N.; XU, J.; SUN, C.; ... & LI, S. Molecular architecture of the SARS-CoV-2 virus. **Cell**. v. 183, n. 3, p. 730-738, Oct. 2020.
- YEHUALASHET, A.; BELACHEW, T.F. ACEIs and ARBs and Their Correlation with COVID-19: A Review. **Infect Drug Resist**. v. 13, p. 3217-3224, Sept. 2020.
- YOSHIMOTO, F.K. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. **The protein journal**. v. 39, n.3, p.198-216, May. 2020.
- YUAN, X.; HUANG, W.; YE, B.; CHEN, C.; HUANG, R.; WU, F.; ... & HU, J. Changes of hematological and immunological parameters in COVID-19 patients. **International journal of hematology**. v. 112, n. 4, p. 553-559, July. 2020.
- YUKI, K.; FUJIOGI, M.; KOUTSOGIANNAKI, S. COVID-19 pathophysiology: A review. **Clinical immunology**. v. 215, p. 108427, June. 2020.
- WANG, Y.T.; LANDERAS-BUENO, S.; HSIEH, L.E.; TERADA, Y.; KIM, K.; LEY, K.; SHRESTA, S.; SAPHIRE, E.O.,; REGLA-NAVA, J. A. Spiking Pandemic Potential: Structural and Immunological Aspects of SARS-CoV-2. **Trends in microbiology**. v. 28, n. 8, p. 605-618, May. 2020.

WESTMEIER, J.; PANISKAKI, K.; KARAKÖSE, Z.; WERNER, T.; SUTTER, K.; DOLFF, S.; ZELINSKY, G. Impaired cytotoxic CD8+ T cell response in elderly COVID-19 patients. **MBio**. v. 11, n. 5. p.02243-20. Sept. 2020.

WILSON, M. E.; CHEN, L. H. Travellers give wings to novel coronavirus (2019-nCoV). **Journal of travel medicine**. v. 27, n. 2, Mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Who coronavirus (covid-19) dashboard [online] Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 18 de Setembro 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. [online]. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Ageing and health. [online]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2022.

ZHANG, S.; QIAO, S.; YU, J.; ZENG, J.; SHAN, S.; TIAN, L.; ... & WANG, X. Bat and pangolin coronavirus spike glycoprotein structures provide insights into SARS-CoV-2 evolution. **Nature communications**. v.12, n.1 , p.1-12, Mar. 2021.

ZHAO, Y.; QIN, L.; ZHANG, P.; LI, K.; LIANG, L.; SUN, J.; ... & ZHANG, Y. Longitudinal COVID-19 profiling associates IL-1RA and IL-10 with disease severity and RANTES with mild disease. **JCI insight**. V. 5, n. 13, July. 2020.

ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; LI, X.; YANG, B.; SONG, J.; ... & TAN, W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England journal of medicine**. v. 382, n. 8, p. 727-733, Jan. 2020.