



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA

TAIANE DE MACÊDO GONDIM

**EXPRESSÃO DE IFN, IL-17, E HERVs, E NÍVEIS
SÉRICOS DE IL-2, CCL2 E CCL3 ASSOCIADOS À
GRAVIDADE DA COVID-19**

Salvador – BA

2023

Taiane de Macêdo Gondim

**EXPRESSÃO DE IFN, IL-17, E HERVs, E NÍVEIS
SÉRICOS DE IL-2, CCL2 E CCL3 ASSOCIADOS À
GRAVIDADE DA COVID-19**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia, da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia.

Orientadora: Profa. Dra. Soraya Castro Trindade

Salvador – BA

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G637 Gondim, Taiane de Macêdo

Expressão de IFN, IL-17 e HERVs e níveis séricos de IL-2, CCL2
e CCL3 associados à gravidade da COVID-19/Taiane de Macêdo Gondim . –
Salvador, 2023.

61 f.: il.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Soraya Castro Trindade.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de
Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Imunologia, 2023.

Dedico este trabalho à minha mãe, pelo constante incentivo e dedicação em cada etapa da minha vida. A meu pai (*in memoriam*), por todo apoio e afeto que me ofereceu até seu último suspiro. Aos meus amigos, que me acompanharam ao longo dessa jornada. À minha orientadora, que me permitiu vivenciar essa experiência da melhor forma possível.

“Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil - e, no entanto, é a coisa mais preciosa que temos”

(Albert Einstein)

RESUMO

A COVID-19 é uma doença respiratória aguda causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Embora a maioria dos casos sejam assintomáticos ou cursem com sintomas leves, cerca de 20% dos acometidos pela doença desenvolvem sua forma grave. A progressão da COVID-19 tem sido associada a hipóxia, inflamação sistêmica desregulada e coagulopatias, porém os fatores de risco para sua evolução para a forma grave ainda não são totalmente compreendidos. O mau prognóstico da doença parece estar associado a fatores envolvidos na interação vírus-hospedeiro, como a sinalização prejudicada do IFN tipo I – principal linha de defesa inata para montagem de uma resposta imune antiviral efetiva – associada a uma expressão desregulada da citocina pró-inflamatórias. Além disso, os retrovírus endógenos humanos (HERVs), remanescentes de inserções genômicas virais ancestrais, parecem ser reativados em resposta a agentes infecciosos como o SARS-CoV-2, modulando a resposta imune inata e levando a vários efeitos deletérios sistêmicos, porém com papel no agravamento da COVID-19 ainda são incipientes. O presente estudo analisou a expressão gênica e níveis plasmáticos de algumas moléculas apontadas como marcadores de gravidade da COVID-19, comparando os quadros leve e grave da doença. Foram avaliados 71 indivíduos (46 casos leves e 25 graves) para análise da expressão gênica, e 139 para dosagem plasmáticas de citocinas (58 casos leves e 81 graves). As expressões dos genes de IFN e seus receptores (INFAR1 e INFAR2), IL-17 e HERVs foram analisadas em ambos os grupos, bem como as citocinas IL-2, CCL2 e CCL3. O gene INFAR2 e a citocina IL-2 foi mais elevada no grupo leve, enquanto os níveis da quimiocina CCL3 foram mais significativos no grupo grave. Esses achados potencializam as evidências de como a dinâmica da resposta imunológica do hospedeiro pode impactar o desfecho clínico da infecção pelo SARS-CoV-2.

Palavras-chave: Coronavírus. COVID-19. Citocinas. Inflamação. IFN.

ABSTRACT

COVID-19 is an acute respiratory disease caused by the coronavirus SARS-CoV-2. Its progression has been associated with hypoxia, unregulated systemic inflammation and coagulopathies, but the risk factors for its progression to the severe form are not yet fully understood. The poor prognosis of the disease appears to be associated with factors involved in the virus-host interaction, such as impaired signaling of type I IFN – the main line of innate defense for mounting an effective antiviral immune response – associated with a deregulated expression of pro-inflammatory cytokines. Furthermore, human endogenous retroviruses (HERVs), remnants of ancestral viral genomic insertions, appear to be reactivated in response to infectious agents such as SARS-CoV-2, modulating the innate immune response and leading to several systemic deleterious effects, but with a role in the worsening of the still incipient COVID-19. The present study analyzed gene expression and plasma levels of some molecules identified as markers of the severity of COVID-19, comparing mild and severe cases of the disease. 71 individuals (46 mild and 25 severe cases) were evaluated for gene expression analysis, and 139 for plasma cytokine measurement (58 mild and 81 severe cases). The expressions of the IFN genes and their receptors (INFAR1 and INFAR2), IL-17 and HERVs were analyzed in both groups, as well as the cytokines IL-2, CCL2 and CCL3. The expression of the INFAR2 gene ($p < 0.001$) and the plasma concentration of the cytokine IL-2 ($p < 0.001$) were higher in the mild group, while the plasma concentration of the chemokine CCL3 ($p < 0.001$) was higher in the group with severe COVID. These findings enhance evidence on how the dynamics of the host's immune response can impact the clinical outcome of SARS-CoV-2 infection.

Palavras-chave: Coronavírus. COVID-19. Cytokines. Inflammation. IFN.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2	14
Figura 2 - Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.	16
Tabela 1 - Classificação clínica da COVID-19	17
Figura 3 - TC evidenciando lesões pulmonares causadas pelo SARS-CoV-2.	18
Figura 4 - Mecanismos imunológicos que promovem a tempestade de citocinas associada a COVID-19 grave.	21
Figura 5 - Representação do genoma do retrovírus endógeno humano.	23
Figura 6 - Mecanismo de interação entre HERVs e processo inflamatório.	24
Figura 7 - Esquema simplificado da ativação da via JAK-STAT.	27
Figura 8 - Hipótese da contribuição do atraso na resposta do IFN no processo hiperinflamatório na COVID-19 grave.....	29
Tabela 2 - Relação dos genes avaliados por qPCR	35
Tabela 3 Distribuição das características socio-demográficas, estilo de vida e condição de saúde agrapadas de acordo com a gravidade da COVID-19.	37
Figura 9 - Comparação da expressão de INFA-1, INFAR-1, INFAR-2 e IL-17 entre os pacientes leves e graves.....	40
Figura 10 - Comparação da expressão de HERV-K e HERV-W entre os pacientes leves e graves.....	41
Figura 11 - Comparação das concentrações de CCL3, CCL2, IL-2 e IL-17 entre os pacientes leves e graves.....	42

LISTA DE ABREVIÇÕES

ACE2 - Receptor da enzima conversora de angiotensina 2

APC - Célula apresentadora de antígeno

CCL - ligante C-C de quimiocina

cDNA - DNA complementar

ERGIC - Compartimento intermediário retículo endoplasmático-Golgi

HERV - Retrovírus endógeno humano

IFN - Interferon

IL - Interleucina

INFAR - Receptores de interferon

ISG - Genes estimulados por IFN

LDH - Lactato desidrogenase

LTR - Repetição de terminal longa

MERS-CoV - Síndrome respiratória do Oriente Médio

MHC - Complexo de histocompatibilidade

MIP-1 α - Proteína inflamatória de macrófago 1 α

MP-1 - Proteína quimioatraente de monócitos-1

NGF - Fator de crescimento nervoso

NK - Natural killers

NSP - Proteínas não estruturais

OMS - Organização Mundial de Saúde

ORF - Fase de leitura aberta

PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos

PCR - Proteína C reativa

PRR - Receptores de reconhecimento padrão

qPCR - Reação em cadeia de polimerase em tempo real

RBD - Domínio de ligação ao receptor

RE - Retículo endoplasmático

RIG-I - Retinoic Inducible Gene-I

RNA - Ácido ribonucleico

RNAg - RNA genômico

RNAm - RNA mensageiro

SARS-CoV - Coronavírus associado à síndrome respiratória aguda grave

SARS-CoV-2 - Coronavírus associado à síndrome respiratória aguda grave 2

SDRA - Síndrome do conforto respiratório aguda

TC - Tomografia Computadorizada

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido

TLR - Receptor Toll-like

TNF - Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	CORONAVÍRUS	13
2.1.1	Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.....	15
2.1.2	Patologia clínica da COVID-19	17
2.1.3	Resposta imune ao SARS-CoV-2	19
3	OBJETIVOS.....	31
3.1	GERAL.....	31
3.2	ESPECÍFICOS	32
4	METODOLOGIA.....	32
4.1	DESENHO DO ESTUDO.....	32
4.2	TAMANHO DA AMOSTRA	32
4.3	PARTICIPANTES DO ESTUDO.....	32
4.3.1	Critérios de inclusão.....	33
4.3.2	Critérios de exclusão	33
4.4	DIAGNÓSTICO DA COVID-19	33
4.5	COLETA DE SECREÇÃO DE NASOFARINGE	34
4.6	EXTRAÇÃO DE RNA E SÍNTESE DO cDNA.....	34
4.7	REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM TEMPO REAL (qPCR).....	34
4.8	ELISA.....	36
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	36
4.10	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	36
5	RESULTADOS	37
5.1	Caracterização da população de estudo.....	37
5.2	Expressão de IFN- α 1, IFNA1, IFNA2 e IL-17 nas células da mucosa nasal de indivíduos com COVID-19	40
5.3	Expressão de HERV-K e HERV-W nas células da mucosa nasal de indivíduos com COVID-19	41
5.4	Níveis plasmáticos de citocinas.....	41
6	DISCUSSÃO.....	42
7	CONCLUSÕES	46

1 INTRODUÇÃO

Em março de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) conferiu à COVID-19 o status de pandemia, promovendo a adoção de estratégias direcionadas para contenção do avanço do vírus cujo número de casos aumentava progressivamente em proporções alarmantes (WHO, 2020). Pouco depois, na Bahia, o município de Salvador alcançou a classificação de “transmissão comunitária” após confirmar 183 casos da COVID-19 em um curto intervalo de tempo, sendo imposto o *lockdown* em todo o estado (G1 BA, 2020).

De acordo com o boletim epidemiológico mais recente do Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde de Salvador (CIEVS SSA), publicado em 13 de junho de 2023, já foram registrados 767.364.883 de casos de COVID-19 e 6.938.353 óbitos em todo mundo, dos quais 1.802.383 casos e 31.622 óbitos foram confirmados na Bahia, classificando o estado na 8ª posição no Brasil em relação à incidência acumulada da doença. Em Salvador, foram registrados 288.000 casos confirmados e 8.713 óbitos pela doença (CIEVSSA, 2023).

Embora a maioria dos acometidos pela COVID-19 sejam assintomáticos ou apresentem a forma leve da doença, cerca de 20% desenvolvem quadros mais graves. O prognóstico é extremamente inespecífico, podendo apresentar diferentes quadros clínicos que são influenciados tanto por fatores imunológicos como por características intrínsecas e comorbidades de cada indivíduo (Chen, N. et al., 2020). O prognóstico pode ainda variar de acordo com a população acometida, visto que a gravidade dos casos observados difere entre os grupos populacionais (Raoult et al., 2020), destacando a necessidade de se estudar a resposta imune em populações diversas na tentativa de desenvolver ferramentas adequadas para o diagnóstico precoce, monitoramento e manejo dos diversos quadros.

A infecção pelo SARS-CoV-2 ocorre pela ligação entre os receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) das células da mucosa respiratória com a proteína S do vírus, que promove a regulação positiva deste receptor com efeito paradoxal: em tempo que pode estimular a resposta contra o vírus, também pode tornar o hospedeiro mais suscetível ao mesmo (Dhama et al., 2020).

O quadro grave da COVID-19 é associado a formação da tempestade de citocinas que se manifesta por meio de uma superprodução de várias moléculas pró-inflamatórias

capazes de aumentar a permeabilidade vascular causando falência múltipla de órgãos e, eventualmente, óbito (Wang et al., 2020). Desta forma, as abordagens terapêuticas e profiláticas para COVID-19 envolvem modulação da resposta imunológica para suprimir a inflamação de modo que ocorra a manutenção adequada da mesma para eliminação do patógeno sem danos ao hospedeiro, o que torna essencial a compreensão dos mecanismos imunes associados a doença (Jose; Manuel, 2020).

Ao longo da pandemia, o surgimento de novas variantes do SARS-CoV-2 se tornou predominante. Apresentando virulência, transmissibilidade, resistência e afinidade de ligação com o ACE2 distintas. As variantes se consolidaram como fator de risco mais pronunciado da COVID-19 vez que, apesar de taxas menores de hospitalização e mortalidade, conferiram ao vírus certo grau de proteção aos protocolos de vacinação (Zhang et al., 2023).

Frente ao nítido envolvimento do sistema imunológico no desfecho da COVID-19, elucidar os elementos envolvidos na hiperestimulação imunológica associada às disfunções dos casos graves se torna imprescindível para o aperfeiçoamento das intervenções clínicas e monitoramento da evolução clínica dos casos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CORONAVÍRUS

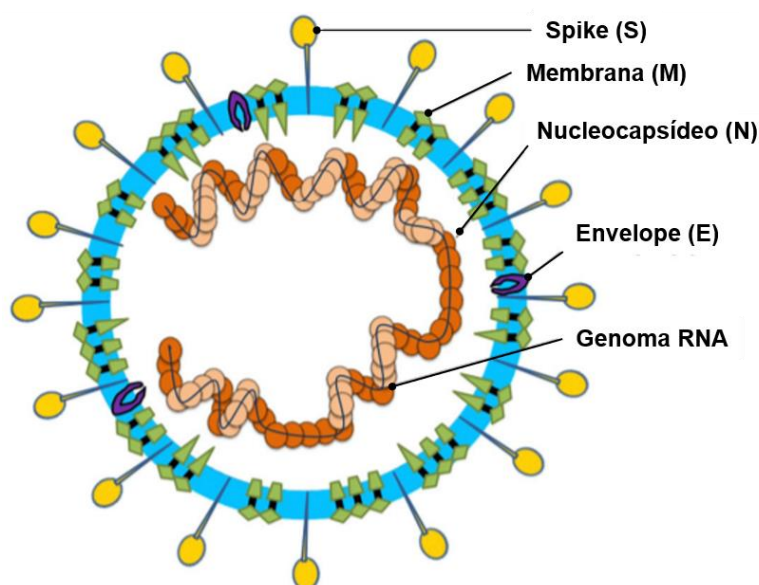
Coronavírus são vírus da família *Coronaviridae* (subfamília *Coronavirinae*) que possuem RNA de fita simples de sentido positivo e são capazes de causar infecções do trato respiratório superior e inferior. Portam o maior genoma não segmentado entre os vírus de RNA, o que confere uma elevada plasticidade genômica a estes microrganismos e favorece alterações por meio de mutação e recombinação. Desta forma, há maior possibilidade de diversidade genética, maiores chances de transmissão cruzada entre espécies e, conseqüentemente, o surgimento de novas cepas (Habas et al., 2020; Li et al., 2020).

Ao longo de 20 anos, duas formas altamente patogênicas dos coronavírus foram identificadas: o coronavírus associado à síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) em 2003, e à síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) em 2012. Em dezembro de 2019, uma nova cepa do coronavírus foi isolada de pacientes com

pneumonia de etiologia desconhecida na cidade de Wuhan, na China, a qual posteriormente foi nomeada de novo coronavírus (SARS-CoV-2). A alta transmissibilidade dessa nova cepa resultou na propagação rápida do vírus da China para outros continentes ao redor do mundo. Frente a esse cenário, em 11 março de 2020, a OMS classificou o SARS-CoV-2 como “uma emergência de saúde pública de interesse internacional” e, logo em seguida, declarou o estado mundial de pandemia (Ward; Li; Tian, 2020).

O SARS-CoV-2 é um vírus envelopado de RNA, não segmentado e de sentido positivo. Possui diâmetro entre 65-125 nm e é envolvido por uma bicamada fosfolipídica caracterizada por espículas projetadas na sua superfície externa. Estruturalmente, o SARS-CoV-2 é composto por proteínas acessórias e quatro proteínas estruturais principais (figura 1): a glicoproteína spike (S) – comum a todos os coronavírus, a glicoproteína de pequeno envelope (E), a glicoproteína de membrana (M) e a proteína de nucleocapsídeo (N). Destas, as glicoproteínas S, E e M estão incorporadas no envelope viral, e a proteína N protege o genoma do vírus (Li et al., 2020; Samudrala et al., 2020).

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2



Fonte: Li G et al., 2020

Funcionalmente, cada proteína exerce um papel crucial para a interação do vírus com a célula hospedeira. A proteína S é crucial para a entrada das partículas infecciosas na célula, assumindo o papel de receptor crítico para o tropismo celular, além de iniciar

a resposta imune no hospedeiro. A proteína M se liga ao nucleocapsídeo e atua como o centro de montagem para o coronavírus, dando a forma definitiva ao envelope viral e promovendo as interações necessárias para a fusão entre as membranas viral e celular. A proteína E desempenha um papel multifuncional na patogênese, montagem e liberação do vírus. Por fim, a proteína N também assume um papel polivalente ao participar da formação de complexos do genoma viral, interagir com a proteína M e E para promover a montagem dos vírions, aumentar a eficiência da transcrição do material genético viral e ser capaz de modular a resposta antiviral, atuando como antagonista dos interferons no hospedeiro (Dhama et al., 2020).

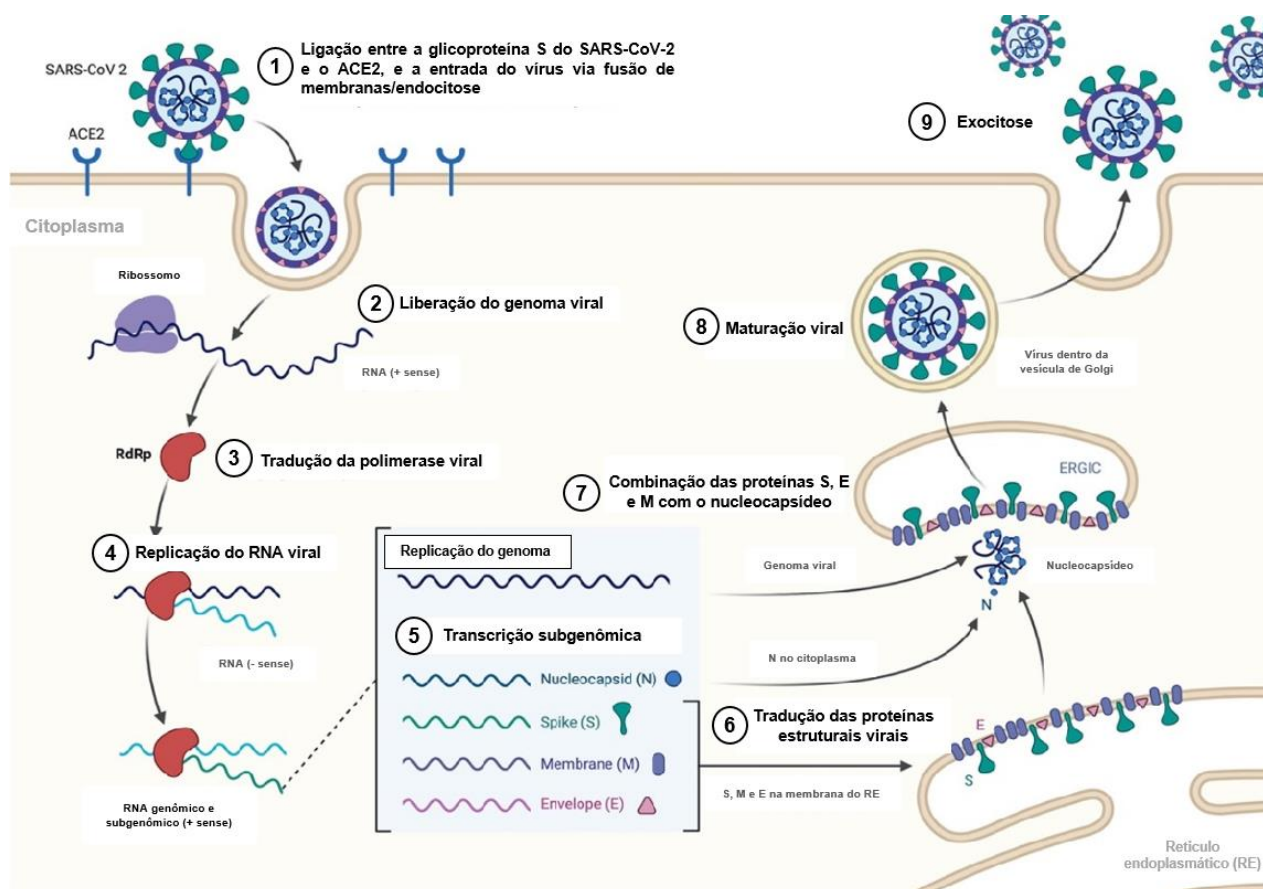
Adicionalmente, estudos filogenéticos apontaram diferenças estruturais e funcionais na proteína S do SARS-CoV-2 quando comparado a outros coronavírus: foram identificadas 6 substituições de aminoácidos na região do domínio de ligação ao receptor (RBD). Esta divergência demonstrou favorecer a magnitude da infectividade viral, pois potencializa a afinidade da ligação entre a proteína viral e receptor celular utilizado pelo vírus para infectar a célula hospedeira e iniciar sua replicação (Andersen et al., 2020).

2.1.1 Ciclo de replicação do SARS-CoV-2

O coronavírus segue uma estratégia típica de replicação viral que se inicia com a ligação entre o microrganismo e a célula hospedeira, e decorre na liberação da progênie recém gerada (figura 2).

Na mucosa respiratória, o vírus atinge principalmente células epiteliais das vias aéreas e alveolares, células endoteliais vasculares e macrófagos pulmonares, os quais expressam o ACE2. A proteína S se liga ao ACE2 por meio do RBD e desencadeia a endocitose do SARS-CoV-2, expondo o vírus às proteases endossomais. Em seguida, as proteases promovem a clivagem da proteína S gerando alterações conformacionais nas subunidades da proteína S viral que aumentam a afinidade de ligação com o receptor da célula hospedeira, e permitem a fusão entre as membranas viral e celular. Conseqüentemente, o vírus é liberado no citoplasma da célula hospedeira (Samudrala et al., 2020; Tay et al., 2020).

Figura 2 - Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.



Fonte: Alanagreh et al., 2020.

A liberação do vírus para o citoplasma dá início a tradução do RNA viral e codificação das proteínas estruturais que, associadas ao RNA genômico (RNAG), irão participar da montagem e liberação dos vírions. O RNAG do coronavírus consiste principalmente em fases de leitura aberta (ORFs) que traduzem a maior porção do RNA em poliproteínas que serão posteriormente clivadas em proteínas não estruturais (NSPs). As NSPs compreendem replicases e transcriptases envolvidas no processamento do material genético viral, e atuam especificamente na degradação do RNA mensageiro (RNAm) celular, inibição da sinalização de interferon e ativação da RNA polimerase. O restante do RNAG é transcrito em um RNA antisense (3'-5') que, após seu processamento, sintetiza RNAs subgenômicos para tradução das proteínas estruturais e acessórias. Essas proteínas são posteriormente isoladas no retículo endoplasmático (RE) e depois movidas para o compartimento intermediário retículo endoplasmático-Golgi (ERGIC), onde concluem sua maturação e são transportadas para superfície celular onde são liberadas por exocitose para infectarem outras células (Alanagreh, Alzoughool, Atoum, 2020; Astuti, Ysrafil, 2020).

2.1.2 Patologia clínica da COVID-19

A doença causada pelo SARS-CoV-2 é denominada de síndrome respiratória aguda grave (ou COVID-19), transmitida por meio da inalação de partículas virais. O período de incubação do vírus varia entre 2 a 14 dias, e a doença apresentou maior gravidade quando associada à faixas etárias acima de 50 anos, sexo masculino e existência de condições médicas subjacentes (Zhang et al., 2020).

Apesar de frequentemente assintomática, a COVID-19 pode manifestar quadros sintomáticos que variam de leve/moderado a grave/crítico. O quadro leve/moderado cursa com febre, mialgia, fadiga, anosmia e ageusia, além dos sintomas respiratórios característicos como tosse seca e dispneia; enquanto o quadro grave/crítico configura progressão do curso da doença para pneumonia e síndrome respiratória aguda grave, podendo evoluir para falência múltipla de órgãos e óbito (Chen, G. et al., 2020; Li et al., 2020). Com base nas características clínicas e laboratoriais associadas a COVID-19, (Yuki et al., 2020) forneceram uma tabela que classifica os pacientes acometidos pelo vírus (tabela 1).

Tabela 1 - Classificação clínica da COVID-19

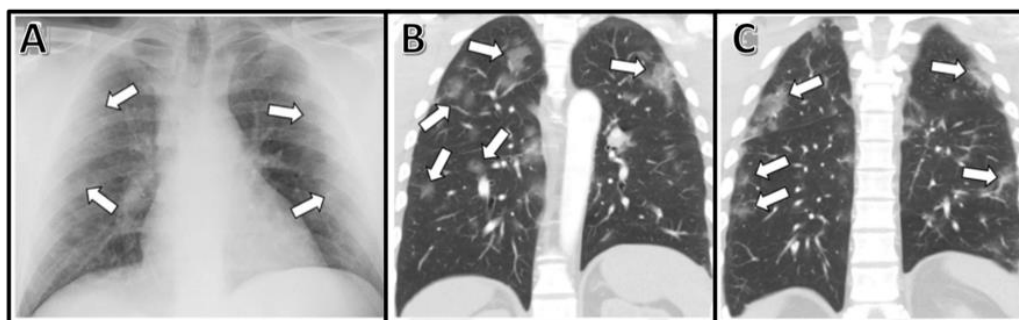
Assintomático	Teste molecular positivo para COVID-19, sem sintomas e sinais clínicos.	
Sintomático	Leve	Sintomas de infecção aguda do trato respiratório superior (febre, fadiga, mialgia, tosse, dor de garganta, coriza e espirros) e sintomas digestivos (náusea, vômito, dor abdominal e diarreia).
	Moderado	Pneumonia sem hipoxemia evidente. Lesões torácicas evidentes em tomografia computadorizada.
	Grave	Pneumonia com hipoxemia ($SpO_2 < 92\%$).
	Crítico	Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), lesões miocárdicas, insuficiência cardíaca, disfunção de coagulação e lesão renal aguda.

Fonte: Adaptado de Yuki et al., 2020.

A fisiopatologia da COVID-19 inclui modulação e liberação de citocinas pró-inflamatórias que contribuem para uma resposta agressiva, o que pode resultar em lesão pulmonar e agravamento das manifestações clínicas da doença. Desta forma, a gravidade da doença reflete não somente a infecção viral em si, como também a resposta do hospedeiro (Casillo et al., 2020; Tay et al., 2020).

O SARS-CoV-2 invade o parênquima pulmonar e promove uma inflamação intersticial grave dos pulmões associada a pneumonia, síndrome do desconforto respiratório aguda (SDRA) e lesões pulmonares, as quais são evidenciadas em imagens de tomografia computadorizada (TC) por meio do achado de opacidade em vidro fosco (figura 3) (Kanne et al., 2021).

Figura 3 - TC evidenciando lesões pulmonares causadas pelo SARS-CoV-2.



A: Radiografia de tórax pósterio-anterior mostra opacidades pulmonares leves e mal definidas na periferia dos pulmões (setas). **B e C:** Imagens de TC em plano frontal sem contraste do tórax mostram opacidades periféricas em vidro fosco correspondentes.

Fonte: Kenne et al., 2021

Também são observadas alterações laboratoriais na infecção pelo SARS-CoV-2. Os pacientes geralmente apresentam linfopenia com ou sem anormalidades leucocitárias, a qual mostrou correlação positiva com a gravidade da doença visto que pacientes com maiores danos pulmonar tendem a apresentar linfopenia de forma mais acentuada com níveis significativamente elevados de neutrófilos (Liu *et al.*, 2020). Outras alterações laboratoriais predominantes incluem hipoalbuminemia, elevação dos marcadores inflamatórios, como proteína C reativa (PCR) e lactato desidrogenase (LDH), e aumento dos níveis séricos de D-dímero (Rodríguez-Morales *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020).

Embora a fisiopatologia exata da COVID-19 ainda não tenha sido totalmente elucidada, é reconhecido que a desregulação da imunidade inata associada à hiperinflamação são as causas das manifestações clínicas da doença.

A coordenação da resposta imunológica é essencial para resolução das infecções virais, de modo que alterações na dinâmica desses processos podem gerar respostas desajustadas e prejudiciais ao hospedeiro (Lin *et al.*, 2020). Do mesmo modo, a amplitude

da patogênese do SARS-CoV-2 também está associada a uma resposta imune desfavorável capaz de promover lesão pulmonar, prejuízo funcional e redução da capacidade pulmonar. Insuficiências e direcionamento incorreto das respostas imunológicas nos pacientes com COVID-19 mostraram contribuir com a ação viral, e fortaleceram a hipótese dessas respostas cooperarem para danos ainda mais extensos ao organismo do hospedeiro (Li et al., 2020).

2.1.3 Resposta imune ao SARS-CoV-2

A patogenicidade imunológica da COVID-19 é uma rede complexa associada à virulência do vírus e à má coordenação das respostas imunes. A replicação do SARS-CoV-2 promove a liberação de mediadores inflamatórios pelas células epiteliais, que induz os macrófagos a aumentar a produção de citocinas, sendo marcada por uma resposta tardia do IFN tipo I. Usualmente, respostas antivirais mediadas por IFN tipo I e a ativação de linfócitos T citotóxicos são suficientes para eliminação viral em indivíduos com sintomas leves. Entretanto, comprometimentos nas populações celulares pode levar à desregulação da imunidade inata e adaptativa. A resposta antiviral insuficiente, presença de autoanticorpos contra IFNs tipo I e um ambiente inflamatório persistente induzido pelas células residentes podem contribuir para forma grave (Zhang et al., 2023).

Em geral, a resposta imune aos vírus se inicia pelos receptores de reconhecimento padrão (PRRs), os quais ativam fatores de transcrição que induzem secreção IFN tipo I e III com regulação positiva de genes estimulados por IFN (ISGs) que ativam as células dendríticas e *natural killers* (NK), bem como a resposta imune adaptativa. Contudo, as respostas às infecções não são lineares, e apresentam diferenças frente aos microrganismos, o que exige uma reprogramação da resposta do hospedeiro para gerar defesas eficazes (Blanco-Melo et al., 2020; Li et al., 2021).

A infecção por SARS-CoV-2 apresenta uma resposta inflamatória distinta. Frequentemente, uma resposta imune inadequada e fraca favorece a replicação do vírus e suas complicações. A COVID-19 promove a mobilização e consumo de uma variedade de biomoléculas e componentes celulares, de modo que o esgotamento das defesas antivirais frente a uma produção elevada de citocinas inflamatórias pode ser o ponto chave para o desfecho mais crítico da doença (Costela-Ruiz et al., 2020).

Lin et al. (2020) hipotetizaram a história natural da COVID-19 ser composta por 3 fases: (1) fase de viremia, (2) fase aguda e (3) uma fase de caráter variável. A fase de viremia ocorre até o 7º dia de infecção e compreende a invasão e acúmulo do vírus no organismo. A fase aguda é caracterizada pelo estabelecimento dos sintomas respiratórios, sendo também denominada como "fase da pneumonia", cuja dinâmica imune efetora determina o desfecho clínico do paciente na fase seguinte. Por fim, a terceira fase compreende ou a resolução da infecção, quando a resposta imune é efetiva para depuração do vírus, ou agravamento da doença, quando a resposta imune falha em regular a atividade viral na fase de pneumonia.

A entrada do vírus no organismo desencadeia o recrutamento das células NK e células apresentadoras de antígenos (APC) que apresentam o antígeno do coronavírus às células T CD4+ via MHC I estimulando a ativação das células Th1 e promovendo a liberação de IL-12 e IFN. O estímulo antigênico promove ainda a ativação da resposta humoral através do estímulo das células B, ativação das células T CD8+ e das células T auxiliares que liberam citocinas e quimiocinas cruciais para uma resposta antiviral bem-sucedida (Astuti; Ysrafil, 2020; Li et al., 2020).

As células T estão envolvidas no equilíbrio entre o combate contra patógenos e os riscos de desenvolver inflamação avassaladora. As células T CD4 + promovem a produção de anticorpos específicos para vírus, por meio da ativação das células B. Em tempo que as células T CD8 +, presentes nos infiltrados inflamatórios encontrados nos pacientes com COVID-19, exercem seu potencial citotóxicas sob as células infectadas na tentativa de erradicar a infecção (Li et al., 2020).

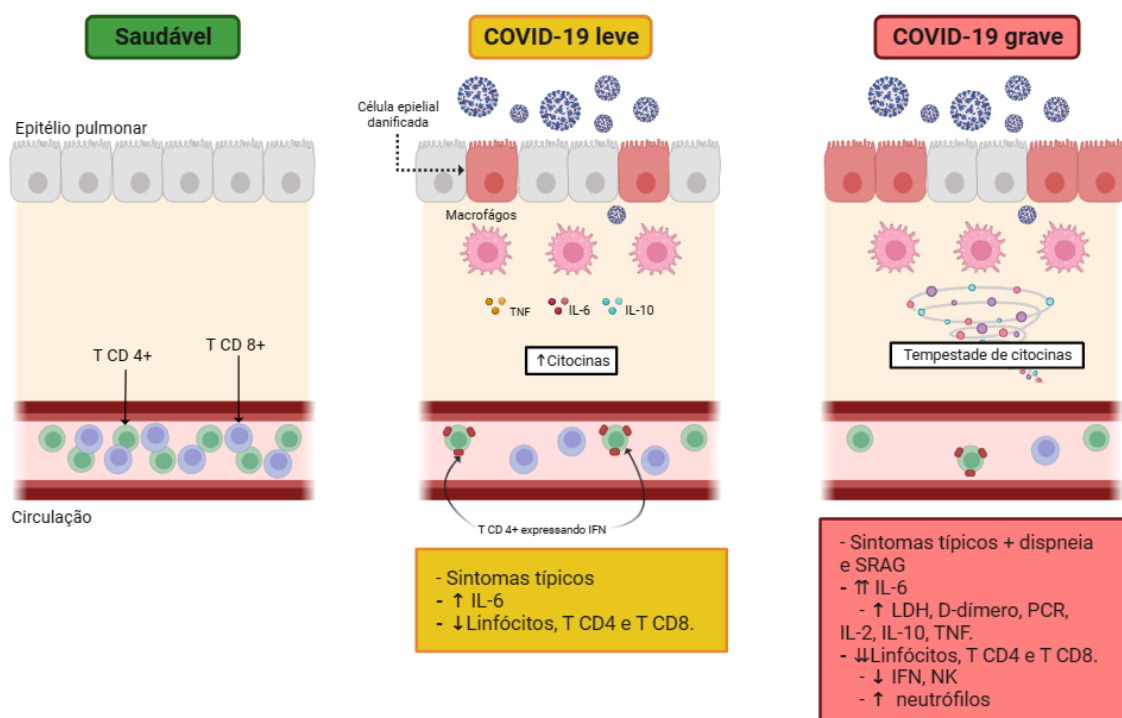
O potencial antagonista do SARS-CoV-2 aos IFN não favorece uma resposta robusta do hospedeiro. Embora o organismo ainda seja capaz de induzir níveis necessárias desta citocina, a ação antagonista do vírus promove retardo deste mecanismo, resultando no desbalanço da resposta imune, disfunção da atividade das células T marcada pela depleção das células T CD4+, replicação viral sustentada e a promoção de um ambiente pró-inflamatório marcado pelo fenômeno da “tempestade de citocinas” (Anka et al., 2021).

A “tempestade de citocinas” compreende uma cascata de produção repentina de citocinas autoamplificadas devido a uma resposta imune desregulada do hospedeiro, desta

forma mecanismos resolutivos são sobrepostos pela sobrecarga do sistema imune. Embora a verdadeira natureza da tempestade de citocinas ainda não seja completamente compreendida, o estabelecimento de uma tempestade de citocinas é um evento comum em pacientes críticos da COVID-19, sendo acompanhado de contagens reduzidas de linfócitos e células NK circulantes com elevação de marcadores inflamatórios (IL-2, IL-7, IL-10, CCL2, CCL3 e TNF- α) e de lesão tecidual (Wang et al., 2020; Zarrilli et al., 2021).

Os níveis de IL-6, IL-10 e o fator de necrose tumoral (TNF) aumentam ao longo da infecção e tendem a reduzir durante a recuperação da doença. Contudo, os pacientes mais graves apresentam superprodução dessas moléculas por macrófagos inflamatórios associada a redução da expressão de IFN e linfopenia de células T CD4+ e T CD8+ (figura 4), enquanto as populações de células B se mantêm consistentes. As evidências apontam que esta dinâmica alimenta a tempestade de citocinas observada nos casos graves e promove, além da redução de células T, exaustão funcional dos componentes celulares sobrevivente (Pedersen; Ho, 2020).

Figura 4 - Mecanismos imunológicos que promovem a tempestade de citocinas associada a COVID-19 grave.



Fonte: Pedersen; Ho (2020).

O evento inicial da tempestade de citocinas parece ser a própria interação entre a proteína S do vírus com seu receptor ACE2. Essa interação resulta na internalização do receptor, promovendo regulação negativa do mesmo. A redução na expressão de ACE2 aumenta a permeabilidade vascular, promove edema pulmonar, acúmulo de neutrófilos com consequente redução da função pulmonar e leva à ativação dos monócitos e macrófagos alveolares com consequente produção das citocinas pró-inflamatórias supracitadas (Mahmudpour et al., 2020; Qin et al., 2020; Zarrilli et al., 2021). Adicionalmente, uma predominante atividade da via de sinalização da IL-17 proporciona um enriquecimento do ambiente inflamatório na infecção por SARS-CoV-2; característica não observada nas infecções por SARS-CoV-1 e MERS-CoV. A IL-17 foi associada a fatores de progressão da COVID-19, como agregação de leucócitos, regulação positiva de granulócitos/neutrófilos e geração de febre (Hasan et al., 2021). Além disso, a atividade da IL-17 também foi associada ao aumento da expressão de retrovírus endógenos humanos (HERVs) nos pacientes infectados, os quais favorecem ainda mais a ativação dos monócitos e aumento do consumo de fatores de coagulação (Temerozo et al., 2021).

Até o momento, não está completamente elucidada a forma como o coronavírus interrompe a homeostase imune e promove resposta pró-inflamatória hiperativa. A hipótese mais consolidada propõe que o vírus é capaz de mascarar sua presença para o sistema imunológico, de modo a ocasionar a replicação viral desenfreada que, eventualmente, provoca a resposta inflamatória persistente e de ampla magnitude que promove os dados sistêmicos da doença (Zhou et al., 2020).

2.1.3.1 Retrovírus endógenos humanos (HERVs)

HERVs são sequências retrovirais que foram integradas ao material genético durante a evolução por meio de repetidas infecções das células germinativas ancestrais, e compõem cerca de 8% do genoma humano (Küry et al., 2018).

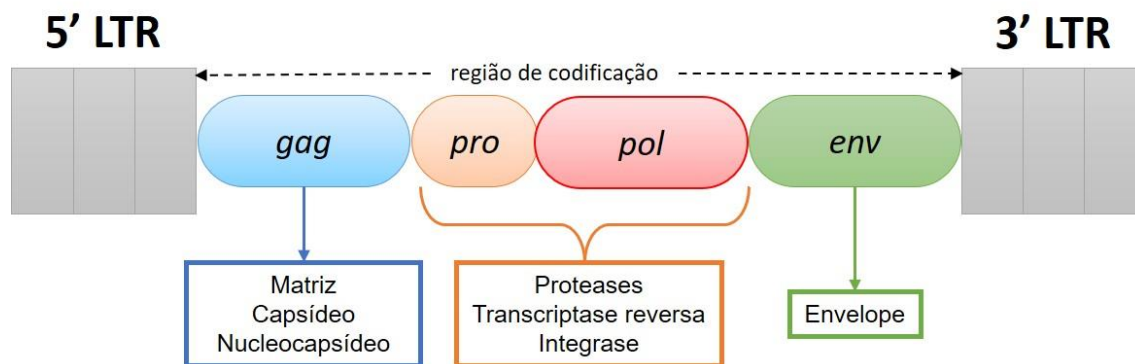
O processo de integração dos HERVs acumulou mutações que incapacitaram sua funcionalidade proliferativa, contudo o potencial transcricional e codificante dos mesmos pode ser ativado quando regulados positivamente. A ativação destas sequências tem sido frequentemente associada a várias doenças, como câncer, esclerose múltipla, diabetes tipo

l e artrite reumatoide; as quais também são comorbidades apontadas como fator de risco para os quadros graves da COVID-19 (Balestrieri et al., 2021).

Pode-se agrupar os HERVs em 4 classes: HERV-K, HERV-R, HERV-W e HERV-H. Sendo o HERV-K o mais abundante em humanos (Kim, 2012) e o HERV-W mais associado a doenças crônicas inflamatórias (Li; Karlsson, 2016).

Os HERVs apresentam expressão variável em diferentes tecidos e possuem uma organização genômica clássica dos retrovírus: duas regiões de repetição terminal longa (LTR), e os genes *gag*, *pol* e *env* (figura 5). Ocasionalmente, o hospedeiro se beneficia da presença desses genomas estranhos em algumas funções fisiológicas, como a variabilidade genética, supressão da resposta imune materna durante a gestação e um certo grau de proteção contra infecções por retrovírus exógenos (Dolei, 2006). Entretanto, os HERVs também carregam um potencial patogênico pró-inflamatório que pode afetar a resposta imune do hospedeiro por meio de sinais regulatórios quando associado a neuroinflamação, neurodegeneração e desequilíbrios do sistema imunológico (Antony et al., 2004).

Figura 5 - Representação do genoma do retrovírus endógeno humano.



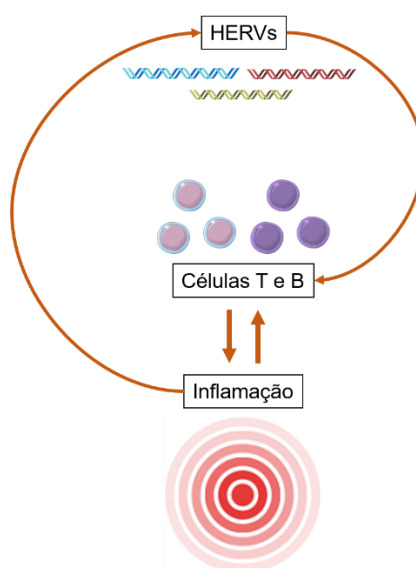
A expressão dos genes HERVs pode influenciar a modulação de outros genes próximos e gerar impactos no sistema imune. Os genes *gag*, *pol*, *pro* e *env* demonstraram associação com desregulação imunológica, síntese de proteínas que interferem no ciclo dos linfócitos, remodelação vascular progressiva no trato respiratório e promoção do processo de fusão célula-célula, respectivamente (Temerozo et al., 2021).

Por conta do seu envolvimento com o sistema imunológico, os HERVs compõem um ciclo de autoalimentação em processos infecciosos: os transcritos dos HERVs são reconhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) pelas vias imunes inatas, o que induz à ativação da via do IFN com produção de citocinas inflamatórias, e migração e ativação de células T e B no local da inflamação (figura 6). Por sua vez, os mediadores inflamatórios favorecem ainda mais os transcritos de retrovírus, ampliando a magnitude da resposta celular e favorecendo rupturas na tolerância imunológica (Grandi et al., 2023).

Devido a este comportamento, acredita-se que os transcritos de HERV possam sinalizar estados de doença e infecções virais, assim como serem utilizados como biomarcadores para diagnóstico precoce e avaliação de prognóstico de diversos quadros clínicos (Hu et al., 2017).

A interação promovida pelos transcritos de HERVs é especialmente relevante para COVID-19. A presença do SARS-CoV-2 influencia a expressão dos retrovírus a ponto de ser possível diferenciar indivíduos já expostos ao vírus (com infecção ativa ou curados) daqueles que nunca expostos. A modulação promovida pela expressão dos retrovírus é capaz de sustentar e amplificar o ambiente inflamatório característico dos quadros mais graves e óbitos, bem como sequelas nos pacientes convalescentes. A presença do vírus estimular esse comportamento evidencia que os HERVs podem implicar na gravidade da doença (Giménez-Orenga et al., 2022; Grandi et al., 2023).

Figura 6 - Mecanismo de interação entre HERVs e processo inflamatório.



Embora a causalidade direta entre HERVs e condições patológicas ainda não esteja completamente elucidada, o envolvimento destas sequências na via de resposta do IFN foi demonstrado experimentalmente (Garcia-Montojo; Nath, 2021), e expressões anormais de HERVs já foram observadas em pacientes com câncer, doenças neurodegenerativas e infecções por vírus exógenos, fortalecendo os indícios de que a desregulação dos transcritos do HERV pode ter um efeito significativo na saúde humana (Song et al., 2021).

A regulação positiva dos genes de HERV-K e -W também foram observadas em lavados broncoalveolares de pacientes com COVID-19, sendo a regulação do HERV-W expressa em níveis mais significativos (Kitsou et al., 2021).

O estudo de (Temerozo et al., 2021) trouxe a primeira evidência publicada da presença de transcritos de HERV-K em pacientes com a forma grave da COVID-19 associada a eventos regulatórios e pró-inflamatórios que parecem contribuir com o desfecho da doença. Foi demonstrado que pacientes graves, no geral, apresentam uma maior expressão de HERV-K do que pacientes leves, e esta expressão se torna ainda mais significativa nos pacientes graves que evoluíram para óbito. Esse aumento da expressão de HERV-K foi associado a outros fatores envolvidos na resposta imune; fortalecendo a relação dos transcritos com o desfecho da doença.

Níveis mais elevados de expressão do HERV-K foram associados positivamente a IL-17; e negativamente ao fator de crescimento nervoso (NGF), maior consumo de fatores de coagulação e ativação das células NK. Neste contexto, a expressão de HERV-K na COVID-19 contribuiria para o desenvolvimento de uma resposta antiviral inata inadequada, favorecendo a manutenção do ambiente inflamatório crônico característico do quadro mais grave da doença (Temerozo et al., 2021).

Análises imunofenotípicas dos pacientes mais agravados revelaram associação entre expressões mais significativa de HERV-W e uma resposta imune desregulada caracterizada por linfócitos T CD4 hiperativados ou exaustos, acompanhado de extenso envolvimento pulmonar. O aumento de transcritos de HERV-W foi inicialmente observado em culturas de células de pacientes infectados por COVID-19, e correlacionado com a liberação de mediadores pró-inflamatórios envolvidos na

tempestade de citocinas e associados a prognósticos mais desfavoráveis (Balestrieri et al., 2021).

Os níveis de HERV-W também se correlacionaram com fatores de diferenciação das células T e gravidade da pneumonia devido ao aumento da proteína sincitina-1 nos pacientes com COVID-19, a qual é codificada pelo HERV-W e, quando reativada, participa da regulação de respostas inflamatórias e autoimunes (Balestrieri et al., 2021). A expressão de moléculas pró-inflamatórias envolvidas na tempestade de citocinas e mau prognóstico, como IL-6, IL-17 e TNF- α também foram correlacionadas aos transcritos (Garcia-Montojo; Nath, 2021).

Os transcritos de HERV-W env podem manter um nível significativo de expressão em períodos pós infecção pelo SARS-CoV-2, acompanhado de níveis sustentados, ou até maiores, de imunoglobulinas. Este comportamento se associa a uma capacidade prejudicada dos pacientes em realizar atividades diárias básicas devido a persistência de sintomas vivenciados durante a infecção (Giménez-Orenga et al., 2022).

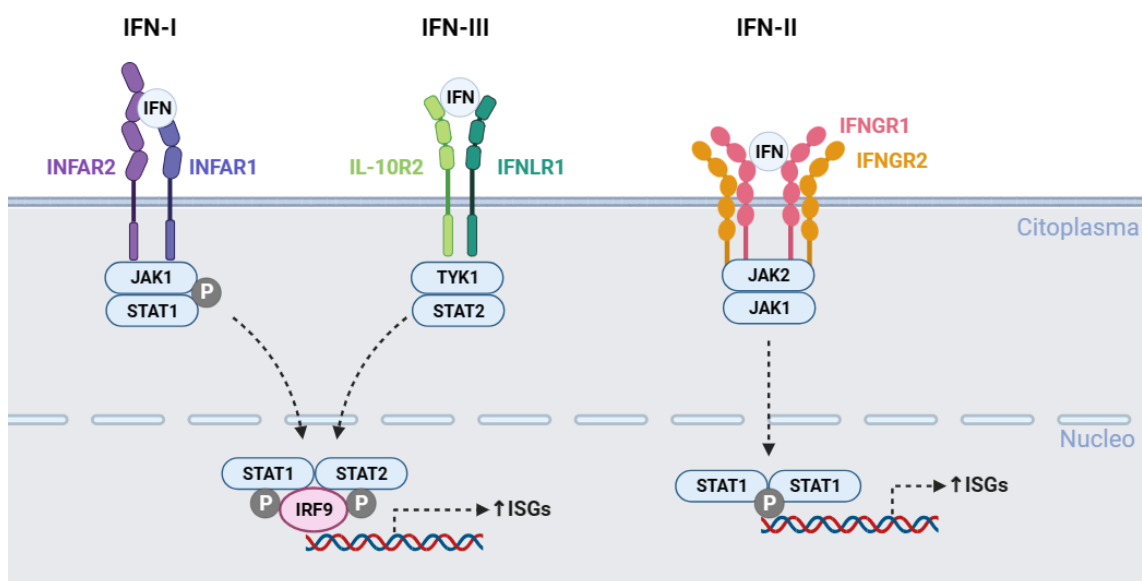
O aumento da expressão dos retrovírus também foi associado às vias de ativação do IFN. Genes HERV-K e -W, bem como IFN-1 e -2, foram encontrados regulados positivamente no sangue periférico de pacientes pediátricos com sintomas leves da COVID-19, porém estavam regulados negativamente nos casos graves (Tovo et al., 2021). Esses achados contrapõem as evidências de que a regulação positiva dos retrovírus contribui apenas para um desfecho desfavorável da doença, conferindo dualidade ao papel dos retrovírus na fisiopatologia da COVID-19.

2.1.3.2 INTERFERON

Os interferons (IFNs) são as principais moléculas antivirais de fase aguda capazes de limitar a disseminação do vírus e modular a resposta imune, além de exercer efeito sobre outras células da imunidade inata e adaptativa envolvidas na resposta antiviral. Nos humanos, essas citocinas são divididas em 3 famílias: IFN-I, IFN-II e IFN-III. Os IFN-I e III consistem na primeira linha de resposta e podem ser gerados pela maioria das células, enquanto o IFN-II são produzidos de forma secundária por células imunológicas especializadas (Lazear; Schoggins; Diamond, 2019). A produção dos IFNs promove um estado antiviral intrínseco por meio do reconhecimento pelos receptores de IFN específicos (INFAR-1 e -2) e da ativação dos ISGs (Schneider; Chevillotte; Rice, 2014).

Usualmente, a introdução do material viral promove o aumento dos níveis de IFN e suas consequências. O RNA viral é reconhecido pelos receptores *Toll-like* (TLR) e *Retinoic Inducible Gene-I* (RIG-I) no endossomo e no citoplasma, respectivamente, estimulando a produção de IFN pelas células do hospedeiro. O IFN então liga-se aos INFAR, ativa a via de sinalização JAK-STAT e induz amplamente os ISGs, promovendo a expressão de proteínas antivirais (figura 7). Esse processo representa a principal linha de defesa antiviral que é capaz de interferir em cada etapa da replicação do vírus (Schneider; Chevillotte; Rice, 2014).

Figura 7 - Esquema simplificado da ativação da via JAK-STAT.



Fonte: Adaptado de Schneider; Chevillotte; Rice, 2014.

O papel central do IFN no controle das infecções virais classificou essa citocina como um possível componente crítico do controle do SARS-CoV-2. Embora os coronavírus sejam sensíveis à ação dos IFN, algumas proteínas do vírus podem fornecer uma forma de escape imunológico ao subverter a resposta imune e promover ação antagonista ao IFN (Chiale; Greene; Zuniga, 2022).

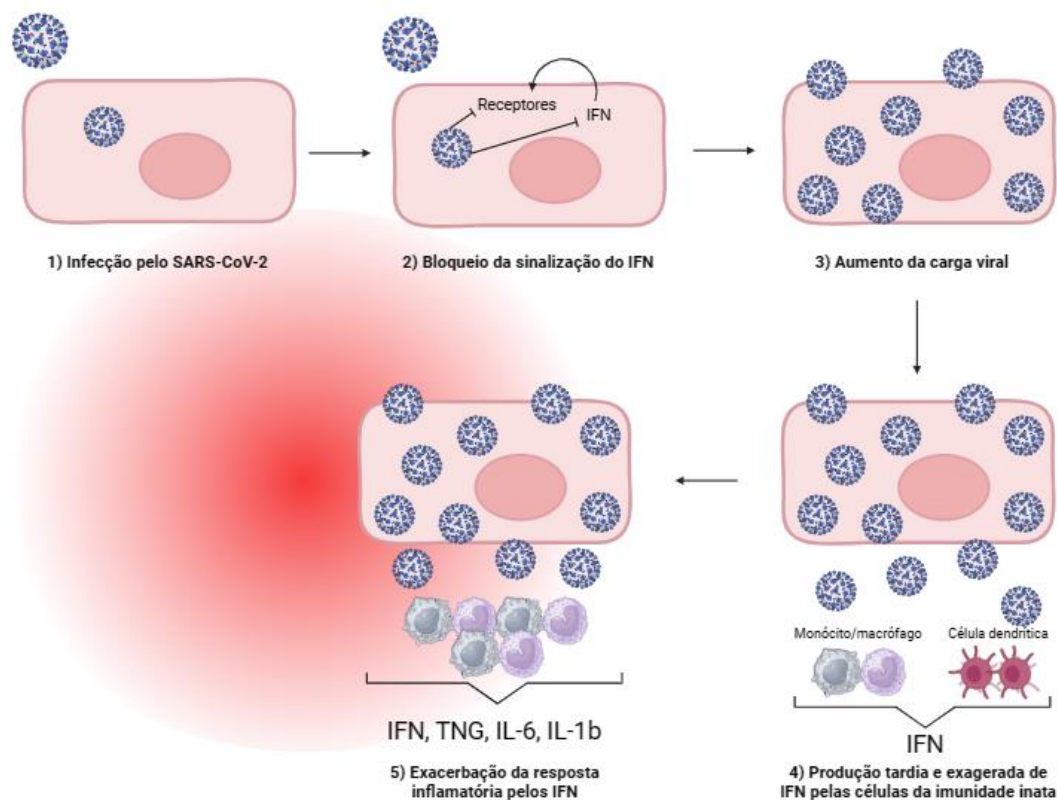
O SARS-CoV-2 interfere na via do IFN, reduzindo ou retardando a expressão do mesmo e configurando a desregulação da resposta imune inata. Na ausência de uma expressão efetiva do IFN, o vírus consegue replicar em títulos elevados, e favorece a resposta inflamatória exagerada que é associada a imunopatologia da doença (Kim; Shin, 2021).

A participação dos IFN na infecção pelo SARS-CoV-2 é sustentada por evidências da regulação dos genes envolvidos na ativação do IFN e citocinas pró-inflamatórias em pacientes com COVID-19. Os dados relatados mostram que infectados com COVID-19, leves e graves, apresentam níveis séricos de IFN e citocinas inflamatórias mais elevados do que indivíduos saudáveis, porém diferem quanto a expressão de IFN, sendo esta significativamente reduzida nos pacientes que manifestaram a forma grave (Galanti et al., 2021; Huang et al., 2020; Li et al., 2021). As respostas do IFN nos pacientes com COVID-19 grave também estavam acompanhadas de cargas virais mais elevadas (Zhou et al., 2020; Zhu et al., 2020) fortalecendo as evidências da contribuição desta via para imunopatologia da doença.

Alguns mecanismos foram propostos para explicar a participação do IFN no quadro da COVID-19 (figura 8). Como a replicação do vírus ocorre em vesículas de membrana dupla, o reconhecimento do mesmo é dificultado e, conseqüentemente, favorece o aumento da replicação viral, vez que a ação autócrina do IFN é prejudicada. Junto a isto, a proteína N do SARS-CoV-2 tem potencial de inibidor químico dos receptores de IFN, interferindo nos mecanismos moleculares envolvidos na ativação adequada da via, seja por inibição da sinalização JAK-STAT ou supressão da ativação dos ISGs (Kim; Shin, 2021).

Ao inibir a resposta da via do IFN, a replicação viral é sustentada. Em resposta a alta carga do vírus no organismo, outras células imunes inatas são estimuladas a produzirem IFNs via TLRs, de forma tardia e demasiada. Essa produção não é neutralizada pelo SARS-CoV-2 devido à ausência de proteína viral no citoplasma destas células, e assim promove o acúmulo e a ativação de monócitos e macrófagos, e a produção persistente de citocinas pró-inflamatórias que acabam por causar ruptura na tolerância imunológica (Hadjadj et al., 2020; Kim; Shin, 2021).

Figura 8 - Hipótese da contribuição do atraso na resposta do IFN no processo hiperinflamatório na COVID-19 grave.



Fonte: Adaptado de Kim; Shin, 2021.

As atividades antivirais dos IFNs e sua associação ao prognóstico dos pacientes impulsionou investigações clínicas sobre nebulização de IFNs recombinantes para tratamento da COVID-19 (Monk et al., 2021). No entanto, o efeito paradoxal do IFN na hiperinflamação torna a compreensão desta via uma ferramenta valiosa e necessária.

2.1.3.3 INTERLEUCINA 17 (IL-17)

A interleucina 17 (IL-17) é uma citocina pró-inflamatória que participa da remodelação tecidual, estresse fisiológico e resposta a infecções. É produzida principalmente por linfócitos Th17, e também por células T CD8+ e células NK. Suas principais funções incluem recrutamento de neutrófilos e monócitos, a produção de IL-6 e, em conjunto com a IL-22 e TNF, produção de peptídeos antimicrobianos (Costela-Ruiz et al., 2020). O papel predominante a IL-17 parece depender do local no qual sua ação é

desencadeada (intestino, pulmão ou pele), que pode influenciar o efeito protetor ou hiperinflamatório prejudicial (Pacha; Sallman; Evans, 2020).

Níveis elevados de IL-17 foram relatados em pacientes infectados com SARS-CoV-2 como parte da tempestade de citocinas responsável pela lesão pulmonar característica da forma grave da COVID-19, sugerindo uma associação entre os níveis desta citocina e a gravidade da doença (Wu; Yang, 2020). No entanto, as evidências da associação entre IL-17 e gravidade da COVID-19 são muito controversas.

Os estudos que relatam diferenças significativas nos níveis de IL-17 entre pacientes leves e graves divergem entre si. Se por um lado as evidências apontam para níveis mais baixos de IL-17 nos gases graves (Grifoni et al., 2020; Ouyang et al., 2020; Tufa et al., 2022), outros estudos trazem relatos sobre níveis mais elevados desta citocina nos pacientes mais críticos (Fadlallah et al., 2021; Shibabaw, 2020). Confrontando todos os relatos, também há investigações que apontam para aumentos dos níveis de IL-17 em todos os quadros da COVID-19, sem distinção entre eles e sem nenhuma correlação com gravidade ou curso clínico (Abers et al., 2021; Wan et al., 2020).

Portanto, as evidências apontam que associação entre níveis séricos IL-17 e gravidade da COVID-19 não é consistente, estando essa citocina elevada nos infectados na fase aguda a infecção independentemente da gravidade (Abers et al., 2021).

2.1.3.4 INTERLEUCINA 2 (IL-2)

A interleucina 2 (IL-2) está envolvida na imunidade adaptativa e promove maturação e proliferação de células T, B e NK. Assim, a IL-2 é essencial para controle das respostas imunes e manutenção da autotolerância, e sua ausência está associada a um mau controle das células efectoras (Rosenberg, 2014).

As evidências de níveis elevados de IL-2 em pacientes com COVID-19 grave são bem consistentes e foram reproduzidas em diversos estudos, exibindo um certo padrão de proporcionalidade com a gravidade da doença (Chen, G. et al., 2020; Huang et al., 2020; Liu et al., 2020; Qin et al., 2020; Wan et al., 2020). A elevação da IL-2 e sua associação com a gravidade da infecção também foi relatada com outros coronavírus (Li et al., 2008).

2.1.3.5 Proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1/CCL2) e proteína inflamatória de macrófagos 1 α (MIP-1 α /CCL3)

A CCL2 é uma quimiocina que regula o recrutamento de células imunes para os sítios específicos. É produzida em resposta e estresse oxidativo, citocinas ou fatores de crescimento, sendo expressa por vários tipos de célula, principalmente, monócitos e macrófagos (Deshmane et al., 2009). A CCL3 também participa do recrutamento dos polimorfonucleares, com ênfase em contextos envolvendo a resposta inflamatória (Ghafouri-Fard et al., 2021). Ambas foram encontradas em níveis elevados em pacientes com prognóstico desfavoráveis da COVID-19, juntamente com a CCL2 (Chi et al., 2020; Chua et al., 2020; Zhou et al., 2020).

Em estudos comparativos analisando o PBMC de pacientes com COVID-19, os casos graves e críticos apresentaram níveis mais elevados em relação a forma leve da doença, sugerindo uma associação da CCL2 com a gravidade da doença (Abers et al., 2021; Chen, G. et al., 2020; Kwon et al., 2020). Ao estratificar pacientes com COVID-19 de acordo com o grau dos sintomas, foi revelado que as expressões de CCL2 e CCL3 eram significativamente maiores em pacientes com desfechos e evolução clínica mais desfavoráveis (Sierra et al., 2020).

A participação das quimiocinas na resposta a COVID-19 foi evidenciada pelo aumento de transcrição dos receptores CCL2 e CCL3 no PBMC de pacientes infectados, configurando a ativação dessa via frente a presença do SARS-CoV-2 (Yang et al., 2020). A expressão dos genes das quimiocinas/receptores foi correlacionada com a gravidade da doença após a identificação de uma indução ainda mais significativa dos genes CCL2 e CCL3 dos pacientes críticos (Chua et al., 2020).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar a expressão dos genes IFN e seus receptores (IFNAR1 e IFNAR2), IL-17, HERV-K e HERV-W em amostras de células de mucosa nasal, e os níveis plasmáticos de IL2, IL-17 e quimiocinas (CCL2 e CCL3) dos indivíduos diagnosticados com as formas leve e grave da COVID-19.

3.2 ESPECÍFICOS

- Caracterização do perfil socioepidemiológico e clínico da população de estudo;
- Identificar possíveis fatores associados à gravidade da doença;
- Identificar genes expressos diferencialmente comparados com a forma leve da COVID-19.
- Identificar diferentes níveis plasmáticos de citocinas e quimiocinas entre as formas leve e grave da COVID-19.
- Verificar provável associação entre a expressão dos genes de interesse e a gravidade da doença.

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo do tipo caso-controle coordenado pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) em parceria com a Universidade Federal da Bahia (LABIMUNO-UFBA). A coleta de dados foi feita no Hospital EMEC, situado na cidade de Feira de Santana-BA, e no Hospital Couto Maia, situado em Salvador - BA. O grupo caso é composto por indivíduos que apresentaram a forma grave da COVID-19 e o grupo controle compreende aqueles que apresentaram a forma leve da doença.

4.2 TAMANHO DA AMOSTRA

O tamanho da amostra foi calculado com base nos valores de *fold change* do gene INFA2 identificados no estudo de (Li et al., 2021). Assim, considerando a diferença mínima a ser detectada de 3,3 unidades e estimativa de desvio padrão de 3,5 unidades, para um nível de significância de 95% e poder de 80% seriam necessários, pelo menos, 19 indivíduos em cada grupo.

4.3 PARTICIPANTES DO ESTUDO

O projeto foi submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Feira de Santana. Todos os participantes e responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE I).

Adicionalmente, foi aplicado um questionário estruturado (APÊNDICE II) para a coleta de dados relativos a condições socioeconômicas e demográficas, condições de saúde e hábitos de vida.

Participaram do estudo os voluntários que se enquadraram nos critérios de elegibilidade descritos a seguir:

4.3.1 Critérios de inclusão

- a) Idade igual ou superior a 18 anos;
- b) Diagnóstico laboratorial de infecção ativa por SARS-CoV-2 durante avaliação ambulatorial ou hospitalização.

4.3.2 Critérios de exclusão

- a) Assintomáticos;
- b) Gestação;
- c) Portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV);
- d) Indivíduos em uso de imunossupressores;
- e) Doença autoimune em atividade;
- f) Neoplasia maligna em tratamento.

4.4 DIAGNÓSTICO DA COVID-19

A detecção da presença do SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, foi realizada com a coleta de secreção da nasofaringe seguida da detecção do RNA viral por biologia molecular. As amostras foram coletadas entre o 3º e o 10º dia de sintomas, por profissional de saúde devidamente treinado e em uso de equipamento de proteção individual apropriado: avental, óculos de proteção, touca, luvas descartáveis e máscara N95 (BRASIL, 2020). Um *swab* de *Rayon* estéril (ABSORVE®) era inserido na narina até a parede posterior da nasofaringe e, em seguida, eram realizados leves movimentos rotativos, objetivando a coleta da secreção nasal no local. O mesmo procedimento era repetido na outra narina utilizando o mesmo *swab*. Posteriormente, a amostra era armazenada em tubo Falcon contendo 3mL de salina sob refrigeração de 4 a 8°C até o momento da análise.

Foram diagnosticados com a forma grave da doença aqueles indivíduos que apresentaram infecção por SARS-CoV-2 cursando com saturação de oxigênio inferior a 94%, frequência respiratória persistentemente acima de 24 incursões por minuto ou indicação de internação hospitalar. A forma leve da doença foi considerada quando a infecção por SARS-CoV-2 não apresentou os fatores de risco supracitados. A classificação dos pacientes seguiu as características clínicas apresentadas na tabela fornecida por (Yuki et al, 2020).

4.5 COLETA DE SECREÇÃO DE NASOFARINGE

Uma nova coleta da secreção de nasofaringe dos participantes foi realizada entre o 10º e o 15º dia do início dos sintomas por profissional de saúde devidamente treinado e em uso de equipamento de proteção individual apropriado, com o objetivo de analisar a expressão gênica. Os *swabs* de *Rayon* (ABSORVE[®]) contendo as secreções dos participantes foram acondicionados em microtubo estéril com 1mL de Trizol, e armazenados a -70°C até o momento da extração dos ácidos nucleicos.

4.6 EXTRAÇÃO DE RNA E SÍNTESE DO cDNA

O RNA total das células da nasofaringe foi isolado seguindo o protocolo do reagente TRIzol[™] (*Thermo Fisher Scientific Inc.*, Waltham, MA, USA). Após a extração, as amostras de RNA foram avaliadas pelo espectrofotômetro *Nanodrop Lite* (*Thermo Fischer Scientific*[®]), sendo selecionadas aquelas com razão 260/280 de cerca de 2,0 e concentração de, pelo menos, 100 ng/mL.

A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada por meio do kit *QuantiTect Reverse Transcription* (QIAGEN, Valencia, California, USA) de acordo com as orientações do fabricante. Inicialmente, foi realizada a remoção adicional de DNA genômico da amostra de RNA, e posteriormente a solução principal de transcrição reversa foi preparada e adicionada a amostra para obtenção do 20uL de cDNA. O biobanco de cDNA foi acondicionado a -70°C para posterior análise por qPCR.

4.7 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM TEMPO REAL (qPCR)

Para a análise da expressão gênica foi utilizado a técnica de reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR) utilizando o sistema *SYBR Green* para análise dos 06

genes envolvidos em respostas antivirais humanas proposto neste estudo. Além dos genes de interesse, também foram incluídos 03 controles endógenos que garantem sensibilidade, especificidade e alta reprodutibilidade dos resultados. Os genes avaliados estão descritos na tabela 2. Também foi utilizado controle negativo para verificar possíveis contaminações.

As reações foram realizadas em duplicata, sendo utilizado: 6uL de mix *SYBR Green*, 3uL do *pool* de primers (*forward* + *reverse*) e 3uL da amostra de cDNA. Após padronização, foi estabelecida a concentração de 10ng de cDNA para reação. As concentrações adequadas para os *primers* foram avaliadas por meio da curva de *melting*. As amplificações foram realizadas no termociclador *QuantStudio™ 5 Real-Time (Applied Biosystems™)* empregando o ciclo de 2 minutos a 50°C, seguido por 2 minutos a 95°C e 40 ciclos nas seguintes condições: 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C. Para curva de *melting* foi empregado o ciclo de 1 minuto a 60°C e 15 segundos a 95°C.

Tabela 2 - Relação dos genes avaliados por qPCR

Gene	Descrição	Sequência
HERV-K (GAG)	Retrovírus Endógeno Humano da família K	For: GCCTTCACATATTCTGTAATT Rev: GCAAGGTTGCAAGATGCAGCTC
HERV-W	Retrovírus Endógeno Humano da família W	For: GTATGTCTGATGGGGGTGGAG Rev: CTAGTCCTTTGTAGGGGCTAGAG
INFA1	<i>Interferon Alpha 1</i>	For: GCCTCGCCCTTTGCTTTACT Rev: CTGTGGGTCTCAGGGAGATCA
IL-17	<i>Interleukin 17</i>	For: CGGACTGTGATGGTCAACCTGA Rev: GCACTTTGCCTCCCAGATCACA
INFAR1	<i>Homo sapiens interferon alpha and beta receptor subunit 1</i>	For: AACAGGAGCGATGAGTCTGTC Rev: TGCGAAATGGTGAAATGAGTCA
INFAR2	<i>Homo sapiens interferon alpha and beta receptor subunit 2</i>	For: GCGAGAGCTGCAAAGATGTAA Rev: TCCCATGATAAGATGGACCG
PSMB2	<i>Proteasome subunit beta type-2</i>	For: ATCCTCGACCGATACTACACAC Rev: GAACACTGAAGGTTGGCAGAT
HPRT-1	<i>Hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1</i>	For: ACCAGTCAACAGGGGACATAA Rev: CTTCGTGGGGTCTTTTACC
RPL-19	<i>Ribosomal protein, large, P19</i>	For: ATGTATCACAGCCTGTACCTG Rev: TTCTTGGTCTCTTCCTCTTG

Os genes com valores de ciclo *threshold* (Ct) acima de 35 foram considerados não expressos. A expressão gênica relativa realizada pelo método $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Desta forma, os

dados são representados pela diferença na expressão gênica (*fold regulation*) entre os grupos, normalizada pela média geométrica dos genes de controle endógeno.

4.8 ELISA

Os níveis plasmáticos de IL-2, IL17, CCL2 e CCL3 no plasma de pacientes com formas grave e leve da COVID-19 foram determinados pelo kit ELISA (Invitrogen®, EUA) com sensibilidade de 4 pg/mL. As análises foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante. A absorbância foi medida pelo espectrofotômetro Multiskan GO (Thermo Scientific®, Germany).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para as variáveis geradas com os valores de expressão gênica, cada conjunto de dados foi testado quanto à sua normalidade com o teste Kolmogorov-Smirnov. As comparações entre os grupos foram feitas com o teste T de Student para amostras independentes, caso a distribuição se apresentasse dentro da normalidade. Nos casos em que este pressuposto não foi atendido, foi empregado o teste Mann-Whitney. As análises estatísticas foram feitas no *software* SPSS v.21 software (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA), sendo consideradas estatisticamente significantes as diferenças com $p \leq 0,05$.

4.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi conduzido com aprovação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, ratificada pelos Comitês de Ética em Pesquisa das instituições envolvidas. Todos os participantes receberam um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) contendo explicação sobre a realização do estudo, objetivos, riscos e benefícios aos quais estariam expostos, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 466/12 e Norma Operacional 001/13). O TCLE foi impresso em duas vias: a primeira está em posse do participante da pesquisa e a segunda foi arquivada pelo pesquisador responsável, permanecendo assim por cinco anos após o término da pesquisa.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da população de estudo

Foram avaliados 71 indivíduos diagnosticados com COVID-19, agrupados de acordo com os critérios estabelecidos por Yuki et al. (2020) em casos leves (n=46) e casos graves (n=25). Foi observado que os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação ao sexo (p=0,046), presença de diabetes (p=0,001), idade igual ou superior a 65 anos (p=0,03), hábito de fumar (p=0,002), etnia (p=0,017) e escolaridade (p=0,001). As medidas epidemiológicas de comparação entre os grupos relacionadas a essas covariáveis estão dispostas na tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição das características socio-demográficas, estilo de vida e condição de saúde agrupadas de acordo com a gravidade da COVID-19.

	Leve (n = 46)	Grave (n = 25)		
Dados sociodemográficos				
Sexo	N	N	OR (IC)	P
Masculino	18	16	2,765 (0,009 – 7,583)	0,045
Feminino	28	9		
Etnia	N	N	OR (IC)	P
Amarelo/Branco	18	3	4,71 (0,230 – 18,072)	0,017
Pardo/Preto	28	22		
Idade	N	N	OR (IC)	P
18 – 64	43	16	7,167 (1,688 – 30,422)	0,03
≥ 65	3	8		
Escolaridade	N	N	OR (IC)	P
Ensino superior completo	29	3	9,098 (2,310 – 35,832)	<0,001
Ensino superior incompleto	17	16		
Fumo	N	N	OR (IC)	P
Sim	44	16	9,925 (1,808 – 51,252)	0,002
Não	2	7		
Etilismo	N	N	OR (IC)	P
Sim	23	11	0,786 (0,295 – 2,091)	0,635
Não	23	14		
Manifestações clínicas				
Tosse seca	N	N	OR (IC)	P
Sim	23	6	3,167 (1,070 – 9,368)	0,034
Não	23	19		

(Continua)

Tosse produtiva	N	N	OR (IC)	P
Sim	4	2	0,913 (0,155 – 5,370)	0,921
Não	42	23		
Dispneia	N	N	OR (IC)	P
Sim	8	17	10,094 (3,245 – 31,392)	0,000
Não	38	8		
Febre	N	N	OR (IC)	P
Sim	14	19	7,238 (2,380 – 22,010)	0,000
Não	32	6		
Mialgia e fadiga	N	N	OR (IC)	P
Sim	32	11	0,344 (0,125 – 0,943)	0,042
Não	14	14		
Anosmia e disgeusia	N	N	OR (IC)	P
Sim	20	8	0,553 (0,193 – 1,582)	0,273
Não	26	17		
Coriza	N	N	OR (IC)	P
Sim	8	1	0,198 (0,023 – 1,683)	0,108
Não	38	24		
Cefaleia	N	N	OR (IC)	P
Sim	20	1	0,054 (0,007 – 0,435)	0,000
Não	26	24		
Dor de garganta	N	N	OR (IC)	P
Sim	4	1	0,438 (0,46 – 4,142)	0,810
Não	42	24		
Diarreia	N	N	OR (IC)	P
Sim	5	0	0,342 (0,38 – 3,100)	0,327
Não	41	25		
Dor abdominal	N	N	OR (IC)	P
Sim	2	0	0,917 (0,079 – 10,638)	0,945
Não	44	25		
Dor nos olhos	N	N	OR (IC)	P
Sim	2	0	0,638 (0,534 – 0,762)	0,297
Não	44	25		
Dor torácica	N	N	OR (IC)	P
Sim	2	7	8,556 (1,620 – 45,195)	0,004
Não	44	18		
Desconforto respiratório	N	N	OR (IC)	P
Sim	1	8	21,176 (2,461 – 182,24)	0,000
Não	45	17		

(Continua)

Saturação O₂ < 92%	N	N	OR (IC)	P
Sim	0	21	0,08 (0,31 – 0,205)	0,000
Não	46	4		
Vômito	N	N	OR (IC)	P
Sim	3	1	0,597 (0,59 – 6,063)	0,644
Não	43	24		
Desorientação	N	N	OR (IC)	P
Sim	0	2	0,333 (0,239 – 0,465)	0,053
Não	46	23		
Tremores	N	N	OR (IC)	P
Sim	1	0	0,643 (0,540 – 0,766)	0,323
Não	45	25		
Comorbidades				
Hipertensão	N	N	OR (IC)	P
Sim	8	7	1,847 (0,580 – 5,887)	0,302
Não	38	18		
Diabetes	N	N	OR (IC)	P
Sim	1	10	30,000 (3,540 – 254,237)	0,001
Não	45	15		
Doença renal	N	N	OR (IC)	P
Sim	1	2	4,091 (0,352 – 47,597)	0,233
Não	45	22		
Doença cardiovascular	N	N	OR (IC)	P
Sim	1	7	18,529 (2,119 – 162,012)	0,001
Não	45	17		
Doença hepática	N	N	OR (IC)	P
Sim	0	0	-	-
Não	46	24		
DPOC	N	N	OR (IC)	P
Sim	5	3	1,171 (0,255 – 5,382)	0,845
Não	45	21		
Alergia	N	N	OR (IC)	P
Sim	24	2	0,083 (0,18 – 0,396)	0,000
Não	22	22		
Obesidade	N	N	OR (IC)	P
Sim	8	4	0,950 (0,255 – 3,545)	0,940
Não	38	40		
Doença autoimune	N	N	OR (IC)	P
Sim	3	0	0,642 (0,537 – 0,768)	0,083
Não	43	24		

(Continua)

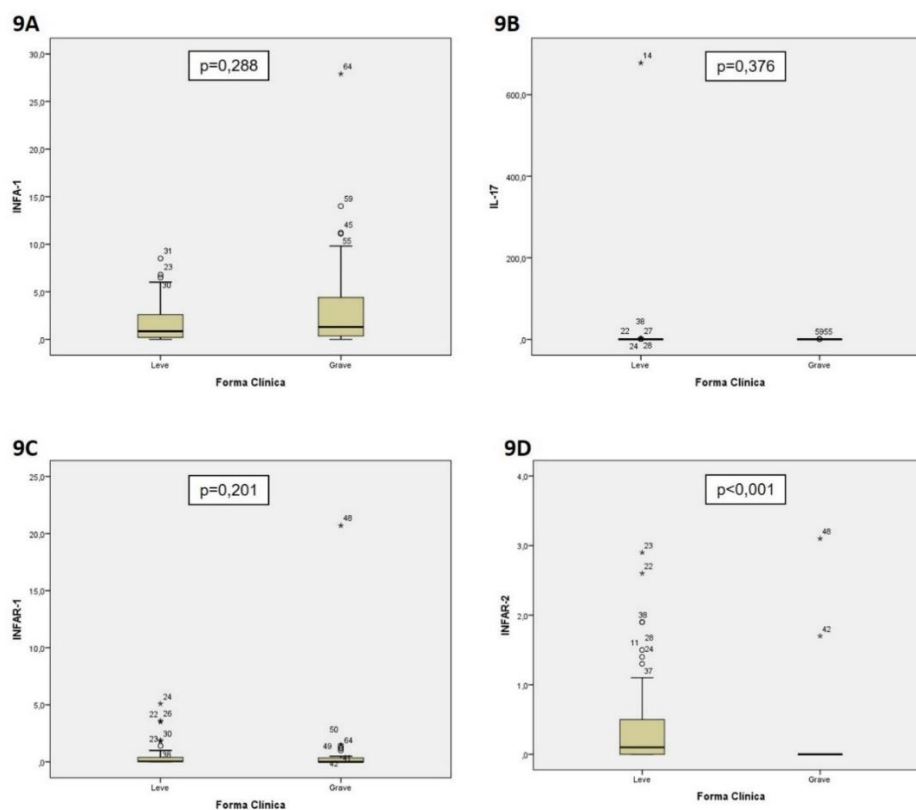
Câncer	N	N	OR (IC)	P
Sim	0	4	0,303 (0,210 – 0,437)	0,043
Não	46	20		
Doença neurológica	N	N	OR (IC)	P
Sim	0	2	0,324 (0,229 – 0,456)	0,048
Não	46	22		
Doença hematológica	N	N	OR (IC)	P
Sim	0	1	0,333 (0,239 – 0,465)	0,168
Não	46	23		

(Conclusão)

5.2 Expressão de IFN- α 1, IFNA1, IFNA2 e IL-17 nas células da mucosa nasal de indivíduos com COVID-19

A comparação entre os grupos mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão gênica de INFA-1 ($p=0,288$), IL-17 ($p=0,376$) e INFAR-1 ($p=0,201$), conforme demonstrado na figura 9 (A-C). Como observado na figura 1D, a expressão do gene INFAR2 foi mais elevada nos indivíduos com o a forma leve da COVID-19 ($p<0,001$).

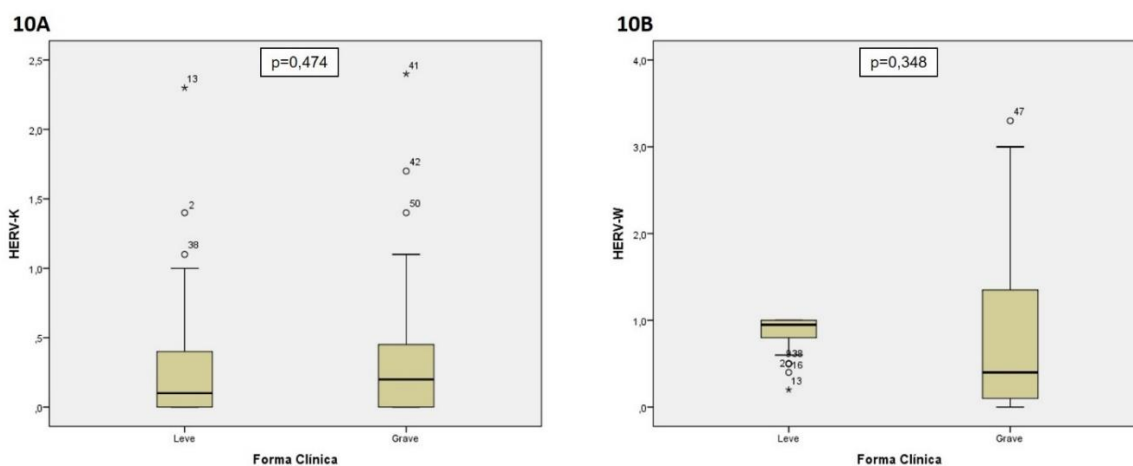
Figura 9 - Comparação da expressão de INFA-1, INFAR-1, INFAR-2 e IL-17 entre os pacientes leves e graves.



5.3 Expressão de HERV-K e HERV-W nas células da mucosa nasal de indivíduos com COVID-19

A análise da expressão gênica dos vírus endógenos HERV-K ($p=0,474$) e HERV-W ($p=0,348$) nas células epiteliais dos participantes também não encontrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos com as formas leve e grave de COVID-19 (Figura 10 A-B).

Figura 10 - Comparação da expressão de HERV-K e HERV-W entre os pacientes leves e graves.

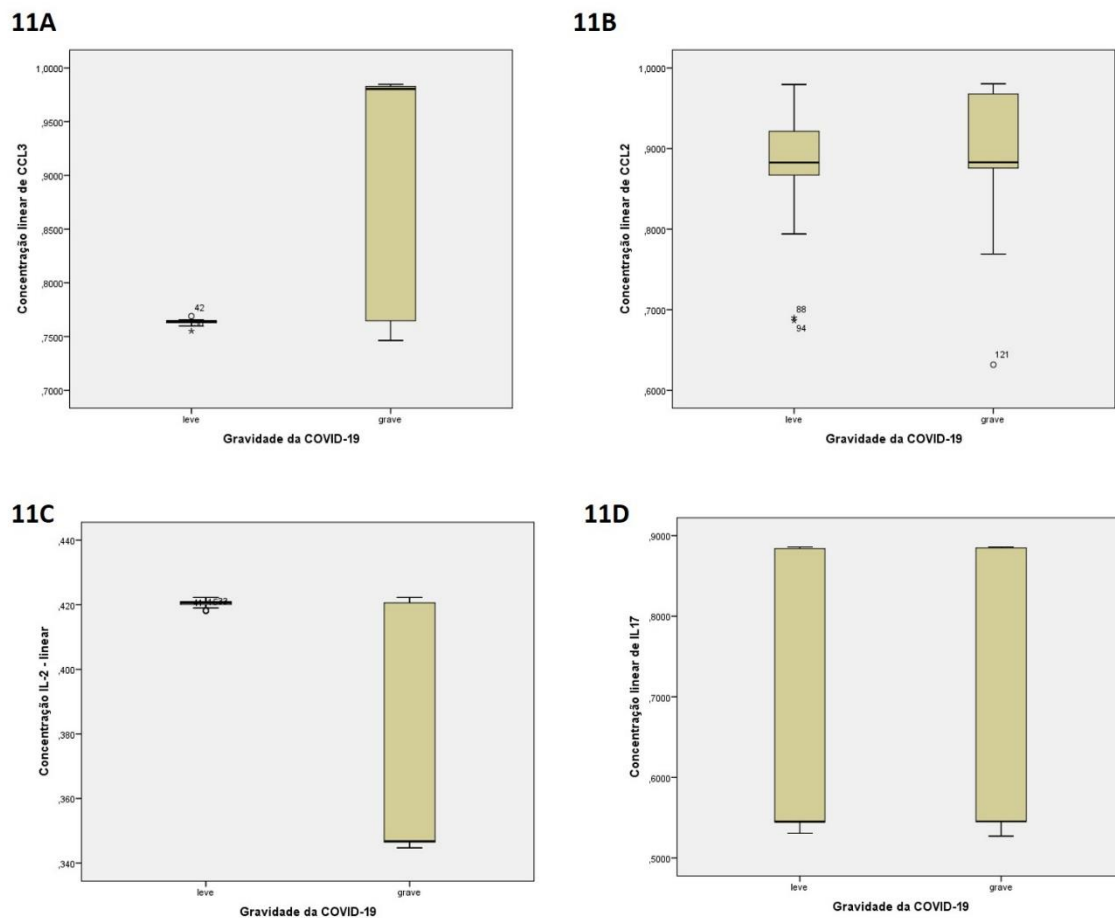


5.4 Níveis plasmáticos de citocinas

Para a determinação da concentração plasmática de citocinas, um número maior de participantes pôde ser utilizado: foram avaliados 58 indivíduos com a forma leve da COVID-19 e 81 indivíduos com a forma grave.

Como pode ser observado na figura 11A, o grupo com a forma grave da COVID-19 apresentou maior concentração de CCL3 - com mediana de 9,80 pg/mL (IQ: 7,65 pg/mL-9,82 pg/mL) - quando comparado ao grupo com a forma leve - com mediana de 7,64 pg/mL (IQ: 7,62 pg/mL -7,65 pg/mL). No entanto, com relação à IL-2, os dados foram opostos (figura 11C): o grupo com a forma grave apresentou uma concentração menor em comparação com o grupo com a forma leve (mediana 3,47 pg/mL; IQ: 3,47-4,21pg/mL vs mediana 4,21 pg/mL; IQ:4,20-4,21 pg/mL). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos na concentração de CCL2 e IL17 (Figura 11 B e D).

Figura 11 - Comparação das concentrações de CCL3, CCL2, IL-2 e IL-17 entre os pacientes leves e graves.



6 DISCUSSÃO

Um dos principais achados do presente estudo revelou que as células epiteliais da mucosa nasal das pessoas com a forma leve da COVID-19 têm expressão gênica aumentada do gene *INFAR2*, em comparação com a forma grave da doença. Esses dados corroboram com outros estudos que associaram o gene a redução do risco da forma grave da doença (Gaziano et al., 2021; Hernández Cordero et al., 2021; Pairo-Castineira et al., 2021; Zhang et al., 2023). Esse gene codifica uma das proteínas que forma um receptor de IFN do tipo I (alfa e beta), cuja mutação pode estar ligada a estados de imunodeficiência (Genecards, 2023). O funcionamento inadequado da via de indução do IFN e seus receptores foi associado ao aumento progressivo da carga viral, hipercitocinemia e desfechos desfavoráveis da COVID-19 (Pairo-Castineira et al., 2021). Além disso, o quadro grave da infecção por SARS-CoV-2 é marcado pela indução de uma tempestade de citocinas e linfopenia, acompanhada da supressão da produção de IFN

pelas células T CD4+ (Fadlallah et al., 2021). Assim, os achados fortalecem o conceito da desregulação do IFN como ponto central da fisiopatologia da COVID-19, visto que o funcionamento regular desta via foi associado a chances reduzidas do quadro grave da doença.

Outro resultado relevante deste estudo foi o aumento da concentração plasmática de CCL3 no grupo com a forma grave da COVID-19, consistindo com achados crescentes que apontam que esta quimiocina estaria associada à manutenção da inflamação sustentada e infiltração pulmonar observadas nas formas graves da COVID-19, sendo os macrófagos ativados encontrados no fluido de lavagem broncoalveolar destes pacientes a principal fonte deste mediador inflamatório (Alosaimi et al., 2021; Olivarria e Lane, 2022; Xiong et al., 2020).

Outra citocina bem documentada nas formas graves da COVID-19 é a IL-2 (Chen, G. et al., 2020; Huang et al., 2020; Tovo et al., 2021; Wan et al., 2020). No entanto, no presente estudo as maiores concentrações plasmáticas de IL-2 foram observadas no grupo leve, e não no grupo grave. Esta citocina atua na proliferação de células T e ativação das células T, B e NK; assim envolvida na imunidade adaptativa (Rosenberg, 2014). Considerando que a ausência da IL-2 é associada a um mau controle das células efetoras (Abbas et al., 2018), é possível que a expressão adequada desta citocina contribua de alguma forma para equilíbrio necessário para resolução da infecção por SARS-CoV-2.

A infecção pelo SARS-CoV-2 parece ser capaz de induzir o aumento na expressão dos HERVs (Giménez-Orenga et al., 2022; Grandi et al., 2023; Guo et al., 2022; Temerozo et al., 2021), o que foi observado em ambos os grupos de comparação do presente estudo, porém sem distinção de expressão entre as formas leve e grave. Assim, embora exista relato de que a presença dos transcritos de HERVs seja suficiente para diferenciar indivíduos saudáveis de infectados (Guo et al., 2022), as evidências não sustentam uma possível ligação entre estes marcadores e a gravidade da doença.

Além dos marcadores estudados, foram avaliadas variáveis socioeconômicas, demográficas, de condições de saúde e estilo de vida, para uma melhor compreensão do perfil dos participantes dos dois grupos. No presente estudo, em ambos os casos – leves e graves – os sintomas foram típicos, porém, inespecíficos. Apesar dos pacientes apresentarem sintomas em comum (tosse, febre e mialgia/fadiga), as alterações

respiratórias eram mais evidentes nos pacientes graves (dispneia e/ou saturação de $O_2 < 92\%$), como observado desde o período mais primordial da pandemia (Guan et al., 2020; Yuki et al., 2020).

Consistente com outros estudos observacionais, a forma grave da COVID-19 foi majoritariamente apresentada por indivíduos do sexo masculino (Alkhouli et al., 2020; AL-Rousan e AL-Najjar, 2020; Chen, G. et al., 2020; Guan et al., 2020; Petrilli et al., 2020; Wang et al., 2020). Essa diferença parece ser explicada por uma combinação de fatores biológicos específicos e propensão dos homens em se envolver com comportamentos de saúde precários, como tabagismo, consumo excessivo de álcool e negligência com o próprio estado de saúde (Haitao et al., 2020). Sob o ponto de vista biológico, a regulação diferencial do ACE2 por hormônios sexuais parece ser relevante. O estrogênio pode reduzir a expressão do ACE2, refletindo em uma maior disponibilidade destes receptores nos homens em comparação com as mulheres (Bukowska et al., 2017; Wei et al., 2020). Adicionalmente, os esteroides sexuais são potentes reguladores da resposta imune (Gaskins et al., 2012). Estudos clínicos evidenciam que o estrogênio influencia significativamente a resolução do processo inflamatório, em tempo que a testosterona foi associada ao aumento do risco de dano pulmonar e regulação positiva de marcadores inflamatórios, principalmente em homens idosos (Al-Lami et al., 2020; Medina; Strasser; Kincade, 2020).

A gravidade da infecção aumenta significativamente em indivíduos mais velhos e nos que apresentam comorbidade. Essas condições aumentam as chances de internamento hospitalar e necessidade de suplementação com oxigênio (Clark et al., 2020). No presente estudo, o grupo com COVID-19 grave apresentou mais indivíduos com idade superior a 50 anos, corroborando com o padrão relatado em outros estudos observacionais (Chen, G. et al., 2020; Clark et al., 2020; O'Driscoll et al., 2021; Verity et al., 2020; Wu e Yang, 2020; Zhou et al., 2020; Zhu et al., 2020). A imunosenescência é marcada pela redução da quantidade e diversidade de receptores das células T, diminuição da plasticidade celular dos linfócitos T virgens e anticorpos menos funcionais, apesar das células B se manterem consistentes com a idade (Frasca et al., 2016; Gustafson et al., 2020). Essas alterações podem resultar em deficiência no controle da replicação viral e respostas pró-inflamatórias mais prolongadas (Opal; Girard; Ely, 2005). Podem, ainda, afetar a resposta desses indivíduos a protocolos profiláticos, afetando a eficácia das vacinações (Soiza; Scicluna; Thomson, 2021).

Dentre as comorbidades, o diabetes mellitus se mostrou positivamente associado com a maior gravidade da COVID-19, concordando com a literatura sobre o tema (Bode et al., 2020; Lazarus et al., 2021; Wang et al., 2020; Zhou et al., 2020). A hiperglicemia e resistência insulínica presentes nos casos de diabetes descontrolados são associados à disfunção endotelial crônica, que contribuindo para patogênese da síndrome respiratória aguda (Kazakou et al., 2022), e estado inflamatório crônico de baixo grau inerente ao diabético, pode favorecer a tempestade de citocinas característica dos casos grave (Kumar et al., 2020).

O hábito de fumar foi relatado tanto pelo grupo leve quanto pelo grave da população de estudo, sendo surpreendentemente mais frequente nos indivíduos com o quadro leve da infecção. O risco menor de infecção por SARS-CoV-2 em fumantes já foi relatado previamente (Semenzato et al., 2022; Simons et al., 2021), porém outros estudos apontam a relação positiva entre fumo e gravidade da doença e mortalidade, em fumantes e ex-fumantes (Gallus; Lugo; Gorini, 2020; He et al., 2022). Pode-se perceber que as evidências científicas disponíveis ainda não permitem traçar uma relação direta entre fumo e gravidade da COVID-19, contudo, é indiscutível as consequências desfavoráveis do tabagismo e o envolvimento do fumo em comorbidades associadas a piora clínica de doenças respiratórias (Shastri et al., 2021).

As variáveis etnia e escolaridade também se mostraram positivamente associadas, com uma maior chance de desenvolvimento da COVID-19 grave nas pessoas que tinham até o ensino superior incompleto e naquelas que se auto referiram como pardas ou negras. No Brasil, a proporção de pessoas em situação social mais vulnerável é mais significativa entre pretos e pardos, grupos estes que também tiveram maior taxa de mortalidade por COVID-19 (Teixeira et al., 2022). Essa população geralmente tem menor grau de escolaridade, o que reflete em dificuldades de compreensão das informações sobre prevenção da COVID-19, somado a outros fatores de risco que podem resultar em piores desfecho da doença (Teixeira et al., 2022). Os dados epidemiológicos sugerem que esses grupos podem ser mais suscetíveis aos desfechos mais grave da COVID-19 devido a uma relação complexa entre outros fatores sociais, como acesso limitado a cuidados médicos, múltiplas comorbidades e insegurança alimentar (Borret et al., 2020; Garg et al., 2019).

Vale destacar algumas limitações desta investigação, como o tamanho da amostra, que dificultou a realização de uma análise estatística múltipla, que pudesse verificar o

efeito das covariáveis socioeconômicas, demográficas, de hábitos e condição de saúde citadas na comparação entre a expressão gênica e a produção das citocinas nos dois grupos. No entanto os dados demonstrados contribuem para o entendimento da patogênese da COVID-19, especialmente para as possíveis divergências na resposta do indivíduo infectado pelo SARS-CoV-2 que alterem a gravidade da doença.

7 CONCLUSÕES

- A expressão do gene *INFAR-2* aumentada, bem como a maior produção de *IL-2* contribuem para um desfecho favorável da COVID-19, enquanto a produção aumentada da quimiocina *CCL3* está associada à COVID-19 grave.
- A infecção pelo SARS-CoV-2 aumenta a expressão de retrovírus endógenos, porém esta ocorrência não se relaciona com a gravidade da COVID-19.
- A forma grave da COVID-19 é mais frequente em indivíduos com idade a partir de 65 anos, etnia parda ou negra e com diagnóstico de *diabetes mellitus*.

REFERÊNCIAS

1. ABBAS, A. K.; TROTTA, E.; SIMEONOV, D. R.; MARSON, A.; BLUESTONE, J. A. **Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects***Sci. Immunol.* [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.science.org>>.
2. ABERS, M. S. *et al.* An immune-based biomarker signature is associated with mortality in COVID-19 patients European Reference Network on Haematological Diseases, and European Reference Network on Hereditary Metabolic. **JCI Insight**, v. 19, 2021.
3. ALANAGREH, L.; ALZOUGHLOO, F.; ATOUM, M. **The human coronavirus disease covid-19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms***Pathogens* MDPI AG, 1 maio 2020.
4. ALKHOULI, M.; NANJUNDAPPA, A.; ANNIE, F.; BATES, M. C.; BHATT, D. L. Sex Differences in Case Fatality Rate of COVID-19: Insights From a Multinational Registry. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 95, n. 8, p. 1613–1620, 1 ago. 2020.
5. AL-LAMI, R. A.; URBAN, R. J.; VOLPI, E.; ALGBURI, A. M. A.; BAILLARGEON, J. **Sex Hormones and Novel Corona Virus Infectious Disease (COVID-19)** *Mayo Clinic Proceedings* Elsevier Ltd, 1 ago. 2020.
6. ALOSAIMI, B.; MUBARAK, A.; HAMED, M. E.; ALMUTAIRI, A. Z.; ALRASHED, A. A.; ALJURYAN, A.; ENANI, M.; ALENZI, F. Q.; ALTURAIKI, W. Complement Anaphylatoxins and Inflammatory Cytokines as Prognostic Markers for COVID-19 Severity and In-Hospital Mortality. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 1 jul. 2021.
7. AL-ROUSAN, N.; AL-NAJJAR, H. Data analysis of coronavirus COVID-19 epidemic in South Korea based on recovered and death cases. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 9, p. 1603–1608, 1 set. 2020.
8. ANDERSEN, K. G.; RAMBAUT, A.; LIPKIN, W. I.; HOLMES, E. C.; GARRY, R. F. **The proximal origin of SARS-CoV-2.** *Nature Medicine* Nature Research, 1 abr. 2020.
9. ANKA, A. U.; TAHIR, M. I.; ABUBAKAR, S. D.; ALSABBAGH, M.; ZIAN, Z.; HAMEDIFAR, H.; SABZEVARI, A.; AZIZI, G. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management***Scandinavian Journal of Immunology* Blackwell Publishing Ltd, 1 abr. 2021.
10. ANTONY, J. M.; MARLE, G. VAN; OPII, W.; BUTTERFIELD, D. A.; MALLET, F.; YONG, V. W.; WALLACE, J. L.; DEACON, R. M.; WARREN, K.; POWER, C. Human endogenous retrovirus glycoprotein-mediated induction of redox reactants causes

- oligodendrocyte death and demyelination. **Nature Neuroscience**, v. 7, n. 10, p. 1088–1095, out. 2004.
11. ASTUTI, I.; YSRAFIL. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 14, n. 4, p. 407–412, 1 jul. 2020.
 12. BALESTRIERI, E. *et al.* Evidence of the pathogenic HERV-W envelope expression in T lymphocytes in association with the respiratory outcome of COVID-19 patients. **EBioMedicine**, v. 66, 1 abr. 2021.
 13. BLANCO-MELO, D. *et al.* Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. **Cell**, v. 181, n. 5, p. 1036- 1045.e9, 28 maio 2020.
 14. BODE, B.; GARRETT, V.; MESSLER, J.; MCFARLAND, R.; CROWE, J.; BOOTH, R.; KLONOFF, D. C. Glycemic Characteristics and Clinical Outcomes of COVID-19 Patients Hospitalized in the United States. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 14, n. 4, p. 813–821, 1 jul. 2020.
 15. BORRET, R. H.; ARAUJO, D. H. S. DE; BELFORD, P. S.; OLIVEIRA, D. O. P. S. DE; VIEIRA, R. C.; TEIXEIRA, D. S. Reflexões para uma Prática em Saúde Antirracista. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 44, n. suppl 1, 2020.
 16. BUKOWSKA, A.; SPILLER, L.; WOLKE, C.; LENDECKEL, U.; WEINERT, S.; HOFFMANN, J.; BORNFLETH, P.; KUTSCHKA, I.; GARDEMANN, A.; ISERMANN, B.; GOETTE, A. Protective regulation of the ACE2/ACE gene expression by estrogen in human atrial tissue from elderly men. **Experimental Biology and Medicine**, v. 242, n. 14, p. 1412–1423, 1 ago. 2017.
 17. CASILLO, G. M.; MANSOUR, A. A.; RAUCCI, F.; SAVIANO, A.; MASCOLO, N.; IQBAL, A. J.; MAIONE, F. **Could IL-17 represent a new therapeutic target for the treatment and/or management of COVID-19-related respiratory syndrome?** **Pharmacological Research** Academic Press, 1 jun. 2020.
 18. CHEN, G. *et al.* Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 5, p. 2620–2629, 1 maio 2020.
 19. CHEN, N. *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 507–513, 15 fev. 2020.
 20. CHI, Y. *et al.* Serum cytokine and chemokine profile in relation to the severity of coronavirus disease 2019 in China. **Journal of Infectious Diseases**, v. 222, n. 5, p. 746–754, 1 set. 2020.

21. CHIALE, C.; GREENE, T. T.; ZUNIGA, E. I. **Interferon induction, evasion, and paradoxical roles during SARS-CoV-2 infection: Immunological Reviews** John Wiley and Sons Inc, 1 ago. 2022.
22. CHUA, R. L. et al. COVID-19 severity correlates with airway epithelium–immune cell interactions identified by single-cell analysis. **Nature Biotechnology**, v. 38, n. 8, p. 970–979, 1 ago. 2020.
23. CLARK, A. et al. Global, regional, and national estimates of the population at increased risk of severe COVID-19 due to underlying health conditions in 2020: a modelling study. **The Lancet Global Health**, v. 8, n. 8, p. e1003–e1017, 1 ago. 2020.
24. 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 and Growth Factor Reviews* Elsevier Ltd, 1 ago. 2020.
25. DESHMANE, S. L.; KREMLEV, S.; AMINI, S.; SAWAYA, B. E. **Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): An overview** *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 1 jun. 2009.
26. DHAMA, K.; KHAN, S.; TIWARI, R.; SIRCAR, S.; BHAT, S.; SINGH MALIK, Y.; PAL SINGH, K.; CHAICUMPA, W.; BONILLA-ALDANA, K.; RODRIGUEZ-MORALES, A. J. Coronavirus Disease 2019–COVID-19. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 4, p. 1–48, 2020.
27. DOLEI, A. **Endogenous retroviruses and human disease** *Expert Review of Clinical Immunology*, jan. 2006.
28. FADLALLAH, S.; SHAM EDDIN, M. S.; RAHAL, E. A. IL-17A in COVID-19 Cases: A meta-analysis. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 15, n. 11, p. 1630–1639, 1 nov. 2021.
29. FRASCA, D.; DIAZ, A.; ROMERO, M.; BLOMBERG, B. B. The generation of memory B cells is maintained, but the antibody response is not, in the elderly after repeated influenza immunizations. **Vaccine**, v. 34, n. 25, p. 2834–2840, 27 maio 2016.
30. G1 BA. Governo da Bahia decreta situação de emergência no estado por causa do coronavírus. **G1**, mar. 2020.
31. GALANTI, T.; GUIDETTI, G.; MAZZEI, E.; ZAPPALÀ, S.; TOSCANO, F. Work from home during the COVID-19 outbreak: The impact on employees' remote work productivity, engagement, and stress. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 63, n. 7, p. E426–E432, 1 jul. 2021.

32. GALLUS, S.; LUGO, A.; GORINI, G. **No double-edged sword and no doubt about the relation between smoking and COVID-19 severity***European Journal of Internal Medicine* Elsevier B.V., 1 jul. 2020.
33. GARCIA-MONTOJO, M.; NATH, A. HERV-W envelope expression in blood leukocytes as a marker of disease severity of COVID-19. **EBioMedicine**, v. 67, p. 103363, maio 2021.
34. GARG, S. et al. **MMWR - Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 — COVID-NET, 14 States, March 1–30, 2020.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/>>.
35. GASKINS, A. J.; WILCHESKY, M.; MUMFORD, S. L.; WHITCOMB, B. W.; BROWNE, R. W.; WACTAWSKI-WENDE, J.; PERKINS, N. J.; SCHISTERMAN, E. F. Endogenous reproductive hormones and C-reactive protein across the menstrual cycle: The BioCycle Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 175, n. 5, p. 423–431, 1 mar. 2012.
36. GAZIANO, L. et al. Actionable druggable genome-wide Mendelian randomization identifies repurposing opportunities for COVID-19. **Nature Medicine**, v. 27, n. 4, p. 668–676, 1 abr. 2021.
37. GHAFOURI-FARD, S.; SHAHIR, M.; TAHERI, M.; SALIMI, A. **A review on the role of chemokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus***Cytokine* Academic Press, 1 out. 2021.
38. GIMÉNEZ-ORENGA, K.; PIERQUIN, J.; BRUNEL, J.; CHARVET, B.; MARTÍN-MARTÍNEZ, E.; PERRON, H.; OLTRA, E. HERV-W ENV antigenemia and correlation of increased anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin levels with post-COVID-19 symptoms. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 27 out. 2022.
39. GRANDI, N.; ERBÌ, M. C.; SCOGNAMIGLIO, S.; TRAMONTANO, E. Human Endogenous Retrovirus (HERV) Transcriptome Is Dynamically Modulated during SARS-CoV-2 Infection and Allows Discrimination of COVID-19 Clinical Stages. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 1, 14 fev. 2023.
40. GRIFONI, A. et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. **Cell**, v. 181, n. 7, p. 1489- 1501.e15, 25 jun. 2020.
41. GUAN, W. et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708–1720, 30 abr. 2020.

42. GUO, Y.; YANG, C.; LIU, Y.; LI, T.; LI, H.; HAN, J.; JIA, L.; WANG, X.; ZHANG, B.; LI, J.; LI, L. High Expression of HERV-K (HML-2) Might Stimulate Interferon in COVID-19 Patients. **Viruses**, v. 14, n. 5, 1 maio 2022.
43. GUSTAFSON, C. E.; KIM, C.; WEYAND, C. M.; GORONZY, J. J. **Influence of immune aging on vaccine responses** *Journal of Allergy and Clinical Immunology* Mosby Inc., 1 maio 2020.
44. HABAS, K.; NGANWUCHU, C.; SHAHZAD, F.; GOPALAN, R.; HAQUE, M.; RAHMAN, S.; MAJUMDER, A. A.; NASIM, T. **Resolution of coronavirus disease 2019 (COVID-19) Expert Review of Anti-Infective Therapy** Taylor and Francis Ltd., 2020.
45. HADJADJ, J. et al. **Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients.** [s.l: s.n.].
46. HAITAO, T.; VERMUNT, J. V.; ABEYKOON, J.; GHAMRAWI, R.; GUNARATNE, M.; JAYACHANDRAN, M.; NARANG, K.; PARASHURAM, S.; SUVAKOV, S.; GAROVIC, V. D. **COVID-19 and Sex Differences: Mechanisms and Biomarkers** *Mayo Clinic Proceedings* Elsevier Ltd, 1 out. 2020.
47. HASAN, M. Z.; ISLAM, S.; MATSUMOTO, K.; KAWAI, T. SARS-CoV-2 infection initiates interleukin-17-enriched transcriptional response in different cells from multiple organs. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021.
48. HE, YUE; HE, YANGAI; HU, Q.; YANG, S.; LI, J.; LIU, Y.; HU, J. Association between smoking and COVID-19 severity: A multicentre retrospective observational study. **Medicine (United States)**, v. 101, n. 29, p. E29438, 22 jul. 2022.
49. HERNÁNDEZ CORDERO, A. I.; LI, X.; MILNE, S.; YANG, C. X.; BOSSÉ, Y.; JOUBERT, P.; TIMENS, W.; BERGE, M. VAN DEN; NICKLE, D.; HAO, K.; SIN, D. D. Multi-omics highlights ABO plasma protein as a causal risk factor for COVID-19. **Human Genetics**, v. 140, n. 6, p. 969–979, 1 jun. 2021.
50. HU, T.; ZHU, X.; PI, W.; YU, M.; SHI, H.; TUAN, D. Hypermethylated LTR retrotransposon exhibits enhancer activity. **Epigenetics**, v. 12, n. 3, p. 226–237, 4 mar. 2017.
51. HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 15 fev. 2020.
52. JOSE, R. J.; MANUEL, A. **COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation** *The Lancet Respiratory Medicine* Lancet Publishing Group, 1 jun. 2020.

53. KANNE, J. P.; BAI, H.; BERNHEIM, A.; CHUNG, M.; HARAMATI, L. B.; KALLMES, D. F.; LITTLE, B. P.; RUBIN, G. D.; SVERZELLATI, N. COVID-19 Imaging: What We Know Now and What Remains Unknown. **Radiology**, 2021.
54. KAZAKOU, P.; LAMBADIARI, V.; IKONOMIDIS, I.; KOUNTOURI, A.; PANAGOPOULOS, G.; ATHANASOPOULOS, S.; KOROMPOKI, E.; KALOMENIDIS, I.; DIMOPOULOS, M. A.; MITRAKOU, A. **Diabetes and COVID-19; A Bidirectional Interplay** *Frontiers in Endocrinology* Frontiers Media S.A., 17 fev. 2022.
55. KIM, H. S. **Genomic impact, chromosomal distribution and transcriptional regulation of HERV elements** *Molecules and Cells*, jun. 2012.
56. KIM, Y. M.; SHIN, E. C. **Type I and III interferon responses in SARS-CoV-2 infection** *Experimental and Molecular Medicine* Springer Nature, 1 maio 2021.
57. KITSOU, K. et al. Upregulation of Human Endogenous Retroviruses in Bronchoalveolar Lavage Fluid of COVID-19 Patients. 2021.
58. KUMAR, A.; ARORA, A.; SHARMA, P.; ANIKHINDI, S. A.; BANSAL, N.; SINGLA, V.; KHARE, S.; SRIVASTAVA, A. Is diabetes mellitus associated with mortality and severity of COVID-19? A meta-analysis. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 14, n. 4, p. 535–545, 1 jul. 2020.
59. KÜRY, P.; NATH, A.; CRÉANGE, A.; DOLEI, A.; MARCHE, P.; GOLD, J.; GIOVANNONI, G.; HARTUNG, H. P.; PERRON, H. **Human Endogenous Retroviruses in Neurological Diseases** *Trends in Molecular Medicine* Elsevier Ltd, 1 abr. 2018.
60. KWON, J. S. et al. Factors of severity in patients with COVID-19: Cytokine/Chemokine concentrations, viral load, and antibody responses. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 6, p. 2412–2418, 1 dez. 2020.
61. LAZARUS, G.; AUDREY, J.; WANGSAPUTRA, V. K.; TAMARA, A.; TAHAPARY, D. L. High admission blood glucose independently predicts poor prognosis in COVID-19 patients: A systematic review and dose-response meta-analysis. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 171, 1 jan. 2021.
62. LAZEAR, H. M.; SCHOGGINS, J. W.; DIAMOND, M. S. **Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons** *Immunity* Cell Press, 16 abr. 2019.
63. LI, C. K. et al. T Cell Responses to Whole SARS Coronavirus in Humans. **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 8, p. 5490–5500, 15 out. 2008.
64. LI, F.; KARLSSON, H. **Expression and regulation of human endogenous retrovirus W elements** *APMIS* Blackwell Munksgaard, 1 jan. 2016.

65. LI, G. et al. **Coronavirus infections and immune responses***Journal of Medical Virology* John Wiley and Sons Inc., 1 abr. 2020.
66. LI, SHASHA et al. **Differentially expressed immune response genes in COVID-19 patients based on disease severity *Equal contribution.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.aging-us.com>.
67. LIN, L.; LU, L.; CAO, W.; LI, T. **Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia***Emerging Microbes and Infections* Taylor and Francis Ltd., 1 jan. 2020.
68. LIU, Y. et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. **Science China Life Sciences**, v. 63, n. 3, p. 364–374, 1 mar. 2020.
69. MAHMUDPOUR, M.; ROOZBEH, J.; KESHAVARZ, M.; FARROKHI, S.; NABIPOUR, I. **COVID-19 cytokine storm: The anger of inflammation***Cytokine* Academic Press, 1 set. 2020.
70. MEDINA, K. L.; STRASSER, A.; KINCADE, P. W. **Estrogen influences the differentiation, proliferation, and survival of early B-lineage precursors.** [s.l: s.n.].
71. MONK, P. D. et al. Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 2, p. 196–206, 1 fev. 2021.
72. O'DRISCOLL, M.; RIBEIRO DOS SANTOS, G.; WANG, L.; CUMMINGS, D. A. T.; AZMAN, A. S.; PAIREAU, J.; FONTANET, A.; CAUCHEMEZ, S.; SALJE, H. Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2. **Nature**, v. 590, n. 7844, p. 140–145, 4 fev. 2021.
73. OLIVARRIA, G.; LANE, T. E. **Evaluating the role of chemokines and chemokine receptors involved in coronavirus infection***Expert Review of Clinical Immunology* Taylor and Francis Ltd., 2022.
74. OPAL, S. M.; GIRARD, T. D.; WESLEY ELY, E. **The Immunopathogenesis of Sepsis in Elderly Patients***Clinical Infectious Diseases*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://cid.oxfordjournals.org/>>.
75. OUYANG, Y. et al. Downregulated Gene Expression Spectrum and Immune Responses Changed during the Disease Progression in Patients with COVID-19. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 16, p. 2052–2060, 15 out. 2020.
76. PACHA, O.; SALLMAN, M. A.; EVANS, S. E. **COVID-19: a case for inhibiting IL-17?** *Nature Reviews Immunology* Nature Research, 1 jun. 2020.

77. PAIRO-CASTINEIRA, E. et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. **Nature**, v. 591, n. 7848, p. 92–98, 4 mar. 2021.
78. PEDERSEN, S. F.; HO, Y. C. **SARS-CoV-2: A storm is raging**. **Journal of Clinical Investigation**. American Society for Clinical Investigation, 1 maio 2020.
79. PETRILLI, C. M.; JONES, S. A.; YANG, J.; RAJAGOPALAN, H.; O'DONNELL, L.; CHERNYAK, Y.; TOBIN, K. A.; CERFOLIO, R. J.; FRANCOIS, F.; HORWITZ, L. I. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: Prospective cohort study. **The BMJ**, v. 369, 22 maio 2020.
80. QIN, C.; ZHOU, L.; HU, Z.; ZHANG, S.; YANG, S.; TAO, Y.; XIE, C.; MA, K.; SHANG, K.; WANG, W.; TIAN, D. S. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 762–768, 1 ago. 2020.
81. RAOULT, D.; ZUMLA, A.; LOCATELLI, F.; IPPOLITO, G.; KROEMER, G. **Coronavirus infections: Epidemiological, clinical and immunological features and hypotheses** *Cell Stress* Shared Science Publishers OG, 1 abr. 2020.
82. RODRIGUEZ-MORALES, A. J. et al. **Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis** *Travel Medicine and Infectious Disease* Elsevier USA, 1 mar. 2020.
83. ROSENBERG, S. A. IL-2: The First Effective Immunotherapy for Human Cancer. **The Journal of Immunology**, v. 192, n. 12, p. 5451–5458, 15 jun. 2014.
84. SAMUDRALA, P. K.; KUMAR, P.; CHOUDHARY, K.; THAKUR, N.; WADEKAR, G. S.; DAYARAMANI, R.; AGRAWAL, M.; ALEXANDER, A. Virology, pathogenesis, diagnosis and in-line treatment of COVID-19. **European Journal of Pharmacology**, v. 883, 15 set. 2020.
85. SCHNEIDER, W. M.; CHEVILLOTTE, M. D.; RICE, C. M. **Interferon-stimulated genes: A complex web of host defenses** *Annual Review of Immunology*. Annual Reviews Inc., 2014.
86. SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE. **Boletim epidemiológico 11 - DOENÇA PELO NOVO CORONAVÍRUS (COVID-19)**. 2023.
87. SEMENZATO, L.; ER EMIE BOTTON, J.; ER^ OME DROUIN, J.; ERANG ERE BARICAULT, B.; BERTRAND, M.; JABAGI, M.-J. E.; CUENOT, F.; EPHANE LE VU, S.; DRAY-SPIRA, R.; WEILL, A.; ZUREIK, M. Characteristics associated with the

- residual risk of severe COVID-19 after a complete vaccination schedule: A cohort study of 28 million people in France. 2022.
88. SHASTRI, M. D.; SHUKLA, S. D.; CHONG, W. C.; KC, R.; DUA, K.; PATEL, R. P.; PETERSON, G. M.; O'TOOLE, R. F. **Smoking and COVID-19: What we know so far** *Respiratory Medicine* W.B. Saunders Ltd, 1 jan. 2021.
 89. SHIBABAW, T. **Inflammatory cytokine: Il-17a signaling pathway in patients present with covid-19 and current treatment strategy** *Journal of Inflammation Research* Dove Medical Press Ltd, 2020.
 90. SIERRA, B. et al. Association of early nasopharyngeal immune markers with COVID-19 clinical outcome: Predictive value of CCL2/MCP-1. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 7, n. 10, p. 1–5, 1 out. 2020.
 91. SIMONS, D.; SHAHAB, L.; BROWN, J.; PERSKI, O. **The association of smoking status with SARS-CoV-2 infection, hospitalization and mortality from COVID-19: a living rapid evidence review with Bayesian meta-analyses (version 7)** *Addiction* Blackwell Publishing Ltd, 1 jun. 2021.
 92. SOIZA, R. L.; SCICLUNA, C.; THOMSON, E. C. **Efficacy and safety of COVID-19 vaccines in older people** *Age and Ageing* Oxford University Press, 1 mar. 2021.
 93. SONG, Y.; LI, X.; WEI, X.; CUI, J. **Human Endogenous Retroviruses as Biomedicine Markers** *Virologica Sinica*. Science Press, 1 out. 2021.
 94. TAY, M. Z.; POH, C. M.; RÉNIA, L.; MACARY, P. A.; NG, L. F. P. **The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention.** *Nature Reviews Immunology*. Nature Research, 1 jun. 2020.
 95. TEIXEIRA, R. A.; VASCONCELOS, A. M. N.; TORENS, A.; FRANÇA, E. B.; ISHITANI, L.; BIERRENBACH, A. L.; ABREU, D. M. X. DE; MARINHO, F. Excess Mortality due to natural causes among whites and blacks during the COVID-19 pandemic in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 55, 2022.
 96. TEMEROZO, J. et al. Human endogenous retrovirus K activation in the lower respiratory tract of severe COVID-19 patients associates with early mortality. **Research Square**, v. 1, 2021.
 97. TOVO, P. A. et al. Covid-19 in children: Expressions of type I/II/III interferons, trim28, setdb1, and endogenous retroviruses in mild and severe cases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, 2 jul. 2021.

98. TUFA, A.; GEBREMARIAM, T. H.; MANYAZEWA, T.; GETINET, T.; WEBB, D. L.; HELLSTRÖM, P. M.; GENET, S. Inflammatory mediators profile in patients hospitalized with COVID-19: A comparative study. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 25 jul. 2022.
99. VERITY, R. et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 6, p. 669–677, 1 jun. 2020.
100. WAN, S. et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). **MedRxiv**, 2020.
101. WANG, J.; JIANG, M.; CHEN, X.; MONTANER, L. J. **Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts** *Journal of Leukocyte Biology* John Wiley and Sons Inc., 1 jul. 2020a.
102. **Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. Journal of Leukocyte Biology.** John Wiley and Sons Inc., 1 jul. 2020b.
103. WARD, M. P.; LI, X.; TIAN, K. **Novel coronavirus 2019, an emerging public health emergency. Transboundary and Emerging Diseases.** Blackwell Publishing Ltd, 1 mar. 2020.
104. WEI, X. et al. **Sex Differences in Severity and Mortality Among Patients With COVID-19: Evidence from Pooled Literature Analysis and Insights from Integrated Bioinformatic Analysis.** [s.l: s.n.].
105. WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE. **GeneCards.** Disponível em: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/>>. Acesso em: 13 jul. 2023.
106. WHO. **WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 12 jul. 2023.
107. WU, D.; YANG, X. O. TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 3, p. 368–370, 1 jun. 2020.
108. XIONG, Y. et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. **Emerging Microbes and Infections**, v. 9, n. 1, p. 761–770, 1 jan. 2020.
109. XU, Z. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 4, p. 420–422, 1 abr. 2020.

110. YANG, X. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 5, p. 475–481, 1 maio 2020.
111. YUKI, K.; FUJIOGI, M.; KOUTSOGIANNAKI, S. **COVID-19 pathophysiology: A review***Clinical Immunology* Academic Press Inc., 1 jun. 2020.
112. ZARRILLI, G. et al. **The immunopathological and histological landscape of COVID-19-mediated lung injury***International Journal of Molecular Sciences* MDPI AG, 2 jan. 2021.
113. ZHANG, H. PING et al. **Recent developments in the immunopathology of COVID-19***Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* John Wiley and Sons Inc, 1 fev. 2023.
114. ZHANG, Q. et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. **Science**, v. 370, n. 6515, 23 out. 2020.
115. ZHOU, Z. et al. Heightened Innate Immune Responses in the Respiratory Tract of COVID-19 Patients. **Cell Host and Microbe**, v. 27, n. 6, p. 883- 890.e2, 10 jun. 2020.
116. ZHU, N. et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 8, p. 727–733, 20 fev. 2020.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
Autorizada pelo Decreto Federal Nº 77.498 de 27/04/76
Reconhecida pela Portaria Ministerial Nº 874/86 de 19/12/86

PROJETO: Estudo da assinatura molecular para a determinação de gravidade da doença do coronavírus 2019 (COVID-19)

PESQUISADORA RESPONSÁVEL: Soraya Castro Trindade

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
 Para ser lido para/por todos os participantes do estudo

As informações a seguir descrevem o estudo e os seus direitos como participante. Além do que for aqui esclarecido, o entrevistador poderá responder qualquer questão que você tenha referente ao estudo. Por favor, leia ou ouça com atenção e, sempre que achar necessário, interrompa para perguntar.

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa "Estudo da assinatura molecular para a determinação de gravidade da doença do coronavírus 2019 (COVID-19)". Antes de decidir participar, dedique um tempo para ler cuidadosamente as informações seguintes e, se preferir, peça para alguém de sua confiança ler para você. Se você desejar, pense melhor em casa, converse com seus familiares, amigos ou com seu médico. Pergunte-nos se houver qualquer coisa que não esteja clara ou se precisar de mais informações.

A COVID-19 é uma doença viral (virose) que se caracteriza por uma inflamação de todo o seu corpo e de seus pulmões. O estudo das células e moléculas envolvidas no processo inflamatório é importante para compreender melhor a atividade dessa doença e seus fatores de risco, inclusive os fatores genéticos. Os resultados desta pesquisa nos ajudarão a ter uma melhor compreensão da COVID-19 e poderão possibilitar um crescimento científico relacionado a esse tema, inclusive influenciando na forma de prevenir e tratar a doença aqui estudada.

O objetivo deste estudo é identificar componentes do sistema imune humano que atuam em casos mais graves da doença. Para tanto, serão realizados, no momento do seu atendimento médico, em local reservado, respeitando sua privacidade:

- a) preenchimento de questionário com perguntas sobre sua saúde;
- b) exame clínico para diagnóstico da doença, realizado por um (a) médico (a) participante da pesquisa (pesquisador);
- c) coleta de uma amostra de sangue do seu braço (exame de sangue comum), realizada por um (a) profissional capacitado (a) e treinado (a) para a coleta;
- d) coleta da secreção do seu nariz e da sua boca de forma delicada, sem dor.

Seus dados são confidenciais. O questionário de saúde, a ficha do exame clínico e este documento serão guardados em sigilo na universidade sob a responsabilidade da pesquisadora responsável por 05 anos após o término da pesquisa e serão descartados após esse período. Sua identidade nunca será revelada.

As secreções do seu nariz e da sua boca serão utilizadas para verificar a presença do vírus em seu organismo. O sangue coletado será utilizado para se obter o soro que será testado na pesquisa para observar os níveis de anticorpos e componentes inflamatórios do seu organismo. Solicitamos aqui a sua autorização para coleta e utilização do seu sangue para esta pesquisa. **Todo o material coletado (amostras) será descartado após o término da pesquisa (não será armazenado).**

Rubrica do pesquisador

Rubrica do participante da pesquisa

Durante a coleta de sangue do seu braço, você poderá sentir dor. A intensidade da dor varia entre cada indivíduo, porém é uma dor suportável. Quanto mais tranquilo (a) você estiver, menos doloroso será o procedimento.

Após a coleta, pode-se formar um hematoma (ficar um pouco roxo) ou ficar dolorido, mas o (a) pesquisador (a) que realizará a coleta dispõe de meios para contornar esses efeitos indesejáveis.

Você pode possuir uma alteração na coagulação da qual não tenha conhecimento, podendo apresentar sangramento além do esperado após a coleta do sangue. O (a) pesquisador (a) realizará os procedimentos para conter o sangramento e você será levado ao atendimento médico necessário sem nenhum custo para você, recebendo o suporte do (a) pesquisador (a) responsável. Lembre-se que o (a) profissional está capacitado (a) para o procedimento e para evitar tais complicações e para contorná-las caso ocorram. Faça perguntas sobre essas complicações para o (a) profissional a fim de se tranquilizar.

Participando desta pesquisa, você não receberá nenhum tipo de benefício material, como dinheiro, mas estará contribuindo para a elaboração de um trabalho científico que poderá proporcionar benefícios futuros à sociedade. Os profissionais de saúde envolvidos na pesquisa realizarão o seu tratamento. Como você é um paciente do serviço de saúde, sua participação ocorrerá no horário do atendimento médico, então você não terá custo adicional com sua participação.

Os resultados dessa pesquisa podem ajudar no desenvolvimento, pelos serviços de saúde, de ações voltadas para prevenção e tratamento da COVID-19; as quais trarão benefícios futuros para você, sua família e sua comunidade.

Vale ressaltar que, a qualquer momento, você poderá fazer perguntas sobre esta pesquisa com a garantia de que serão respondidas. Tem a liberdade de abandonar a pesquisa sem prejuízo para si, podendo entrar em contato com os pesquisadores desta pesquisa para pedir que os seus dados sejam retirados da mesma, sem qualquer prejuízo para o seu atendimento médico.

Os dados obtidos neste estudo serão apresentados em congressos e encontros da comunidade científica e serão publicados em revistas especializadas. No entanto, a sua identidade nunca será revelada.

Caso ocorram danos a sua saúde causados diretamente pela pesquisa, a mesma será interrompida e os pesquisadores farão os encaminhamentos necessários. Nenhum custo será cobrado a você, pois será coberto pelo orçamento da pesquisa. Você tem o direito a buscar indenização. Vale ressaltar que o risco de danos causados pela sua participação na pesquisa é baixo, pois serão realizados procedimentos médicos que já seriam realizados na sua avaliação clínica e laboratorial.

Para o esclarecimento de dúvidas sobre o projeto, você pode entrar em contato com a pesquisadora Soraya Castro Trindade no telefone (71) 99983-3870 ou ligue (75) 3161-8112 (NUPPIIM- UEFS).

Estando de acordo, assinam:

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do pesquisador

Local e Data: _____

Pesquisadora responsável: Soraya Castro Trindade.
NUPPIIM - UEFS. Campus Universitário, Feira de Santana - Bahia.
BR-116, quilômetro 3, avenida Universitária, sem número.

ATENÇÃO:

- ✓ A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária.
- ✓ Você tem o direito a ressarcimento do custo do deslocamento em dinheiro, caso seja convidado a participar de um procedimento fora do horário do seu atendimento médico.
- ✓ Qualquer dúvida adicional sobre os aspectos éticos dessa pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UEFS), através do fone: (75) 3161-8124 ou email: cep@uefs.br.
- ✓ Em caso de denúncia pelo não cumprimento do que foi acordado ligue (75) 3161-8124 ou envie um email para cep@uefs.br.
- ✓ Este documento foi elaborado em duas vias, sendo uma entregue a você e outra mantida em sigilo pelo pesquisador responsável. Todas as páginas deverão ser rubricadas pelo pesquisador responsável / pessoa por ele delegada e por você.

1ª via do participante da pesquisa
2ª via da pesquisadora responsável

Rubrica do pesquisador

Rubrica do participante da pesquisa

APÊNDICE II - Questionário estruturado

FICHA CLÍNICA

Nº _____ Aplicado por: _____ Data da coleta: ____/____/____

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

Nome da mãe: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

CEP: _____ Estado: _____

Telefone: _____ Profissão: _____

Naturalidade: _____

Data de Nascimento: ____/____/____

VARIÁVEIS SOCIOECONÔMICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS**1 Idade:** _____ **2 Sexo:** (0) Masculino (1) Feminino**3 Raça/Cor (autorreferida):** (0) Amarelo (1) Branco (2) Preto (3) Pardo**4 Escolaridade:** (0) Pós-graduação (1) Ens. superior completo (2) Ens. superior incompleto (3) 2º grau completo (4) 2º grau incompleto (5) Ens. fundamental completo (6) Ens. fundamental incompleto (7) Analfabeto**5 Anos de estudos:** _____**6 Ocupação atual:** (0) Desempregado (1) Empregado (2) Aposentado (3) Autônomo (4) Não trabalha (5) Outro. Qual? _____**7 Se empregado(a), qual a ocupação atual:** _____**8 Possui renda própria?** (0) Sim (1) Não.**9 Renda familiar em salários mínimos:** (0) 1 (2) <1 (3) 1 a 2 (4) 3 ou mais**10 Número de moradores em sua residência:** _____**11 Estado civil:** (0) Solteiro (1) Casado (2) Viúvo (3) Divorciado (4) União estável**VARIÁVEIS DE ESTILO DE VIDA****12 É fumante?** (0) Não (1) Sim. (2) Ex-fumante.**13 Em caso positivo, há quanto tempo?** _____. **E qual a quantidade de cigarros/dia?** _____**14 Se ex-fumante, por quanto tempo fumou?** _____ **E há quanto tempo parou de fumar?** _____**15 Consumo de bebida alcoólica:** (0) Não (1) Sim (2) Já consumi
Tipo de bebida: _____. Tempo de consumo (em anos): _____**16 Prática de atividade física:** (0) Não (1) Sim **17 Em caso positivo, qual tipo de atividade?** _____ **E qual frequência/semana?** _____

VARIÁVEIS DE CONDIÇÃO DE SAÚDE	
--------------------------------	--

- | | |
|--|--|
| 18 Tosse seca: (0) Não (1) Sim | 21 Temp.: (0) $\leq 37,5^{\circ}\text{C}$ (1) $>37,5^{\circ}\text{C} \leq 39^{\circ}\text{C}$
(2) $> 39^{\circ}\text{C}$ |
| 19 Tosse produtiva: (0) Não (1) Sim | 22 Febre: (0) Não (1) Sim |
| 20 Dispneia: (0) Não (1) Sim | 23 Mialgia ou fadiga: (0) Não (1) Sim |
- 24 Hipertensão arterial?** (0) Não (1) Sim. Medicação: _____.
- 25 Diabetes?** (0) Não (1) Sim. Tipo: _____. Medicação: _____.
- 26 Doença renal?** (0) Não (1) Sim. Qual? _____. Medicação: _____.
- 27 Doença cardiovascular?** (0) Não (1) Sim Medicação: _____.
- 28 Doença hepática?** (0) Não (1) Sim Medicação: _____.
- 29 Síndrome do ovário policístico?** (0) Não (1) Sim
- 30 Doença Pulmonar (asma/tuberculose/bronquite/pneumonia/enfisema/DPOC)?** (0) Não (1) Sim Qual? _____. Medicação: _____.
- 31 Alergia?** (0) Não (1) Sim. Qual? _____.
- 32 Obesidade?** (0) Não (1) Sim
- 33 Doença autoimune?** (0) Não (1) Sim Qual? _____.
- 34 Neoplasia maligna (câncer)?** (0) Não (1) Sim Qual? _____.
- 35 Doença neurológica (Alzheimer, Parkinson, Epilepsia, Demência, etc.)?** (0) Não (1) Sim Qual? _____.
- 36 Doença hematológica?** (0) Não (1) Sim Qual? _____.
- 37 Possui alguma outra doença não citada anteriormente?** (0) Não (1) Sim Qual? _____.
- 37 Usa algum outro tipo de medicamento não citado anteriormente?** (0) Não (1) Sim Qual(s)? _____.

OBSERVAÇÕES

Método diagnóstico:

Início dos sintomas:

Outros sintomas:



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
 Programa de Pós-graduação em Imunologia



Nº12M/2023,

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA PARA JULGAMENTO DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO INTITULADO: "EXPRESSÃO DE IFN, IL-17, IL-2, CCL2, CCL3 E HERVs ASSOCIADA À GRAVIDADE DA COVID-19" DA MESTRANDA TAIANE DE MACÊDO GONDIM.

Ao vigésimo quinto dia do mês de julho do ano de dois mil e vinte e três, na plataforma google meet, a Banca Examinadora composta pelos Professores: **Dra. Soraya de Castro Trindade (orientadora)**, **Dr. Marcos da Costa Silva** e **Dra. Vera Lúcia Costa Vale**, se reúne com a finalidade de discutir, avaliar e julgar o trabalho de dissertação intitulado: "EXPRESSÃO DE IFN, IL-17, IL-2, CCL2, CCL3 E HERVs ASSOCIADA À GRAVIDADE DA COVID-19" da mestranda **Taiane de Macêdo Gondim**. Após a apresentação, arguição e comentários dos membros da Banca Examinadora ficam determinados que as sugestões discutidas sejam implementadas na versão final da dissertação. Havendo cumprido as exigências do Programa quanto à defesa do trabalho final, a Banca Examinadora conclui que mediante a entrega do exemplar final pelo aluno com as devidas modificações no prazo de 60 dias, a Pós-Graduanda está habilitada à obtenção do título de Mestre em Imunologia. Adicionalmente, os pareceres individuais dos membros da Banca Examinadora serão anexados à ata. Nada mais havendo a tratar se encerra a sessão da qual é lavrada a presente ata que após lida e aprovada vai assinada pelos componentes da Banca examinadora, pela mestranda e pela Coordenadora do Programa de Pós-Graduação. Salvador, vinte e cinco de julho do ano de dois mil e vinte e três.

Soraya Castro Trindade
 Dra. Soraya de Castro Trindade
 Orientadora

Dra. Vera Lúcia Costa Vale
 Dra. Vera Lúcia Costa Vale
 Banca Examinadora

Dr. Marcos da Costa Silva
 Dr. Marcos da Costa Silva
 Banca Examinadora

Taiane de Macêdo Gondim
 Taiane de Macêdo Gondim
 Mestranda

Dra. Silvia Lima Costa
 Profa. Dra. Silvia Lima Costa
 Coordenadora PPG - Imunologia
 Instituto de Ciências da Saúde-UFBA

Dra. Silvia Lima Costa
 Coordenadora do PPGIm
 ICS-UFBA