



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

REBHECCA LENINA MARQUES DE ALMEIDA

VARIANTES GENÉTICAS DO ACE2 E SEUS IMPACTOS EM MULHERES GRÁVIDAS COM COVID-19 E PRÉ-ECLÂMPZIA

Recife
2024

REBHECCA LENINA MARQUES DE ALMEIDA

**VARIANTES GENÉTICAS DO ACE2 E SEUS IMPACTOS EM
MULHERES GRÁVIDAS COM COVID-19 E PRÉ-ECLÂMPسيا**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: MSc. Mauro César da Silva

Coorientadora: MSc. Neila Caroline Henrique da Silva

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Marques de Almeida, Rebhecca Lenina.

Variantes genéticas do ACE2 e seus impactos em mulheres grávidas com COVID-19 e pré-eclâmpsia / Rebhecca Lenina Marques de Almeida. - Recife, 2024.

59p : il., tab.

Orientador(a): Mauro César da Silva

Coorientador(a): Neila Caroline Henrique da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. COVID-19. 2. Polimorfismo. 3. ACE2. 4. Gravidez. 5. Pré-eclâmpsia. I. da Silva, Mauro César. (Orientação). II. Henrique da Silva, Neila Caroline. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

REBHECCA LENINA MARQUES DE ALMEIDA

VARIANTES GENÉTICAS DO ACE2 E SEUS IMPACTOS EM MULHERES GRÁVIDAS COM COVID-19 E PRÉ-ECLÂMPسيا

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Orientador: MSc. Mauro César da Silva
IAM/Fiocruz-PE / Departamento de Imunologia

Prof. Dr. Will de Barros Pita
Universidade Federal de Pernambuco / Departamento de Antibióticos

Dra. Rayssa Leal Borges de Medeiros
IAM/Fiocruz-PE / Departamento de Imunologia

Ao meu pai (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Mauro e coorientadora Neila, por me acolherem no laboratório, pelos ensinamentos, puxões de orelha e por ter encarado todo esse processo comigo.

À doutora Norma, pela oportunidade de me apresentar o universo da pesquisa e pela confiança no meu trabalho.

À minha família: meu pai (*in memoriam*), minha mãe Claudia, minha irmã Isabelle, meu primo Lukacs, minhas tias (Patrícia, Cybele e Maria das Graças), minha avó Maria José, meu avô Claudemir, meu cunhado Arthur, por sempre acreditarem no meu potencial e por torcerem pelo meu sucesso.

Aos meus bichinhos Ronny e Noah (*in memoriam*), Simba, Dandara, Amora e Mila, por todos os momentos que passamos juntos.

Ao meu namorado Willian, por todo o apoio ao longo da minha jornada acadêmica. Obrigada por ser essa pessoa incrível que você é e por fazer parte da minha vida.

À Tati, Romeu, Voc e Mafê, minha segunda família, pelo apoio de sempre.

Aos meus pcs Bea e Bielzito, por toda a parceria para trabalhos, fofocas e risadas durante toda a graduação.

À Bruna, minha amiga para todas as horas, obrigada pela sua amizade. Sou grata por todos os momentos que passamos juntas.

Aos meus amigos João Gabriel e João Blessed, pela nossa amizade, por aguentarem meus surtos na graduação e pelos conselhos.

Às minhas companheiras do laboratório Nath e Debs, pela parceria nessa jornada científica.

Ao Instituto Aggeu Magalhães e aos funcionários, em especial ao Núcleo de Plataformas Tecnológicas, pela colaboração no trabalho.

Aos órgãos de fomento (LACEN, HC, IMIP, FACEPE, UFPE e FIOCRUZ) pelo apoio financeiro.

Aos analistas e técnicos do laboratório Zeferino Veloso, por todos os ensinamentos que vocês me proporcionaram.

Aos não mencionados, mas que vivenciaram diversos momentos da graduação ao meu lado, sintam-se homenageados.

“A ciência e a vida cotidiana não podem e não devem ser separadas.”

Rosalind Franklin

ALMEIDA, Rebhecca. **Variantes genéticas do ACE2 e seus impactos em mulheres grávidas com COVID-19 e pré-eclâmpsia**. 2024. 59. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

A gestação é um fenômeno fisiológico, caracterizado por inúmeras mudanças que são necessárias para a formação e o desenvolvimento do feto. A COVID-19 pode gerar diferentes complicações na gravidez, dentre elas, distúrbios hipertensivos, assim como ocorre na pré-eclâmpsia. O SARS-CoV-2 infecta as células humanas a partir da ligação da proteína spike ao receptor da enzima conversora de angiotensina (ACE2), expresso em diversos tecidos, dentre eles a placenta. A função deste receptor envolve a regulação da pressão arterial, a partir da clivagem da angiotensina II em angiotensina (1-7), promovendo efeitos vasodilatadores. Sabendo que polimorfismos pode afetar a expressão do gene, o presente estudo identificou a frequência dos SNPs intrônicos rs2285666 (g.14845; G>A), rs1978124 (g.7130; G>A) e rs2106809 (g.7132; T>C) em 688 mulheres grávidas no estado de Pernambuco. As amostras sanguíneas destas pacientes, advindas do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) e do Hospital das Clínicas (HC), foram coletadas para a realização da genotipagem por meio do sequenciamento Sanger. Os alelos, genótipos e haplótipos foram analisados quanto à associação com a gravidade da COVID-19 e com a pré-eclâmpsia (PE), a diferença entre a gravidade na gestação entre a COVID-19 e a PE, e a possível influência do SARS-CoV-2 na gravidade da PE. Contudo, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação à gravidade da COVID-19 e da pré-eclâmpsia ($p>0,05$). No entanto, análises da expressão gênica do receptor e o desequilíbrio de ligação dos SNPs devem ser realizadas para a devida confirmação.

Palavras-chave: COVID-19. Polimorfismo. ACE2. Gravidez. Pré-eclâmpsia.

ALMEIDA, Rebhecca. **Genetic variants of ACE2 and their impacts on pregnant women with COVID-19 and preeclampsia.** 2024. 59. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

Pregnancy is a physiological phenomenon, characterized by numerous changes that are necessary for the formation and development of the fetus. COVID-19 can cause different complications in pregnancy, including hypertensive disorders, as occurs in pre-eclampsia. SARS-CoV-2 infects human cells by binding the spike protein to the angiotensin-converting enzyme receptor (ACE2), expressed in various tissues, including the placenta. The function of this receptor involves the regulation of blood pressure, through the cleavage of angiotensin II into angiotensin (1-7), promoting vasodilatory effects. Knowing that polymorphisms can affect gene expression, the present study identified the frequency of the intronic SNPs rs2285666 (g.14845; G>A), rs1978124 (g.7130; G>A) and rs2106809 (g.7132; T>C) in 688 pregnant women in the state of Pernambuco. Blood samples from these patients, coming from the Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) and Hospital das Clínicas (HC), were collected for genotyping using Sanger sequencing. The alleles, genotypes and haplotypes were analyzed for their association with the severity of COVID-19 and pre-eclampsia (PE), the difference between severity during pregnancy between COVID-19 and PE, and the possible influence of SARS -CoV-2 on the severity of PE. However, no statistically significant differences were observed in relation to the severity of COVID-19 and pre-eclampsia ($p>0.05$). However, analyzes of the receptor's gene expression and the linkage disequilibrium of the SNPs must be carried out for proper confirmation.

Key words: COVID-19. Polymorphism. ACE2. Pregnancy. Preeclampsia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Genoma e estrutura do SARS-CoV-2	20
Figura 2 – Ciclo replicativo do SARS-CoV-2	22
Figura 3 – SRAA normal e na infecção pelo SARS-CoV-2	27
Figura 4 – Immunopatogênese da COVID-19	29
Figura 5 – Eletroforese comprovando a amplificação do <i>ACE2</i> (rs2285666)	35
Figura 6 – Eletroforese comprovando a amplificação do <i>ACE2</i> (rs1978124 e rs2106809)	36
Figura 7 – Eletroferograma do SNP rs2285666 na região intrônica do gene <i>ACE2</i>	37
Figura 8 – Eletroferograma do SNP rs1978124 na região intrônica do gene <i>ACE2</i>	38
Figura 9 – Eletroferograma do SNP rs2106809 na região intrônica do gene <i>ACE2</i>	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs2285666 de acordo com as características das pacientes	43
Tabela 2 – Frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs1978124 de acordo com as características das pacientes	44
Tabela 3 – Frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs2106809 de acordo com as características das pacientes	45
Tabela 4 – Distribuição dos haplótipos do gene <i>ACE2</i> (rs2285666, rs1978124, rs2106809) de acordo com as características das pacientes	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2 (Enzima conversora de angiotensina 2)
ATP	Adenosina trifosfato
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
COVID-19	Coronavírus disease - 2019 (Doença do coronavírus)
DAMP	Padrão molecular associado ao dano
dNK	Células natural killer decíduais
ESPII	Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
HLA-G	Antígeno Leucocitário Humano G
HELLP	(H)emolysis, (e)levated (l)iver enzymes and (l)ow (p)latelets (hemólise, elevação de enzimas hepáticas e plaquetopenia).
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IMIP	Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira
MasR	Receptor do Mas
mRNA	RNA mensageiro
NK	Natural Killer
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	Open Reading Frame (Fase aberta de leitura)
PAMP	Padrão molecular associado ao patógeno
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PE	Pré-eclâmpsia
pNK	Células natural killer sangue periférico
RBD	Receptor Binding Domain (domínio de ligação ao receptor)
RNAg	RNA genômico
ROS	Reactive oxygen species (espécies reativas de oxigênio)
SARS-CoV-2	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SNP	Single nucleotide polymorphism (Polimorfismo de nucleotídeo único)
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
S1	Subunidade 1

S2	Subunidade 2
TLR	Receptores Toll-Like
TMPRSS2	Transmembrane Serine Protease 2 (Serina protease de membrana tipo 2)
TNF	Fator de necrose tumoral
Treg	Células T reguladoras
UNASUS	Universidade Aberta do Sistema Único de Saúde
uNK	Células natural killer uterinas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	HISTÓRICO DA COVID-19 E SEU IMPACTO NA GESTAÇÃO	16
2.2	Genoma do SARS-CoV-2 e seu Ciclo Replicativo	19
2.3	Gestação normal e pós-infecção por SARS-CoV-2	23
2.4	<i>Pré-eclâmpsia e semelhança com a COVID-19</i>	25
2.5	<i>Imunopatogênese do SARS-CoV-2</i>	28
2.6	<i>ACE2 e variantes genéticas</i>	29
3	OBJETIVOS	31
3.1	Objetivo Geral.....	31
3.2	Objetivos Específicos	31
4	METODOLOGIA	32
4.1	COLETA DE AMOSTRAS E TIPO DE ESTUDO	32
4.2	Processamento de Células Sanguíneas	32
4.3	Extração de DNA das PBMC	33
4.4	<i>Quantificação do DNA</i>	34
4.5	<i>Reação em cadeia da polimerase (PCR) e eletroforese</i>	34
4.6	<i>Sequenciamento do DNA genômico</i>	35
4.7	<i>Frequência genética, predição de haplótipos e análise estatística</i>	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	Amplificação de sítios do <i>ACE2</i>	35
5.2	Sequenciamento <i>ACE2</i>	36
5.3	Estudo do polimorfismo rs2285666 na região intrônica do <i>ACE2</i>	39
5.4	Estudo do polimorfismo rs1978124 na região intrônica do <i>ACE2</i>	40
5.5	Estudo do polimorfismo rs2106809 na região intrônica do <i>ACE2</i>	41
5.6	Estudo dos haplótipos das regiões intrônicas do gene <i>ACE2</i> ..	46
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXOS	57

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa - HC	57
ANEXO B – Parecer do comitê de ética em pesquisa - IMIP.....	58
ANEXO C – Parecer do comitê de ética em pesquisa - UFPE..	59

1 INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma doença respiratória provocada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2), cuja pandemia foi declarada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020. A transmissão ocorre principalmente por meio de gotículas liberadas durante a fala, tosse ou espirro de indivíduos infectados.; e o indivíduo pode ser assintomático, apresentar sintomas leves ou mais severos. Os principais sintomas dos indivíduos que desenvolvem COVID-19 são febre, tosse e fadiga, entretanto, também há outros sintomas possíveis como produção de secreção, dores de cabeça, tosse com sangue, diarreia, dificuldade respiratória e diminuição do número de linfócitos no sangue (Rothan & Byrareddy, 2020).

Mulheres grávidas que são infectadas pelo SARS-CoV-2 tendem a apresentar piores sinais clínicos em comparação a mulheres não grávidas. Isso ocorre porque há mudanças fisiológicas durante o período gestacional, como por exemplo, a supressão do sistema imunológico, importante para evitar a rejeição do feto. Essa supressão confere uma maior vulnerabilidade das gestantes para infecções. Devido a essas complicações, há uma maior chance de hospitalizações, uso de ventilação mecânica e aumento da mortalidade. Além disso, também é um fator de risco para morte fetal ou parto prematuro (Lai *et al.*, 2020).

Alguns estudos apontam uma possível relação entre a COVID-19 e a pré-eclâmpsia (PE), devido a algumas semelhanças na sintomatologia. A pré-eclâmpsia é uma desordem obstétrica frequente e uma das principais razões para a morbidade e mortalidade materna e neonatal. Pode apresentar diversas manifestações, desde uma hipertensão leve e proteinúria, até uma hipertensão grave que pode desencadear convulsões e danos em vários órgãos, podendo levar à morte materna (Sibai; Kker; Kupferminc, 2005). Os sintomas da pré-eclâmpsia também podem ser observados em mulheres com COVID-19, o que pode dificultar a distinção entre as duas condições e, por isso, aumentam as chances de um diagnóstico errôneo.

O receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) tornou-se um componente crucial para a compreensão da infecção do SARS-CoV-2. O ACE2 é uma proteína presente na superfície de células pulmonares, endoteliais, cardíacas, renais, dentre outros. Sua função é regular a pressão arterial, através da conversão

da angiotensina II em angiotensina 1-7, uma molécula com efeitos vasodilatadores e antiinflamatórios (Simões e Silva *et al.*, 2013). A entrada do SARS-CoV-2 nas células do hospedeiro ocorre através da ligação da proteína spike do vírus com o receptor ACE2 (Gheblawi *et al.*, 2020). Durante a infecção, há uma diminuição na expressão deste receptor, podendo resultar em desequilíbrio no SRAA, prevalecendo as propriedades vasoconstritoras e pró-inflamatórias da angiotensina II. Na gestação, a infecção pode interferir no SRAA na região placentária, comprometendo a perfusão e a pressão arterial materna (Cruz *et al.*, 2021).

Polimorfismos no gene *ACE2* podem influenciar na sua expressão e afinidade, o que, por sua vez, pode ter um impacto na capacidade da interação do vírus com o receptor. Os SNPs rs1978124 (g.7130; G>A) e rs2285666 (g.14845; G>A) estão localizados no início do íntron 2 e 3, respectivamente, e têm o potencial de criar novos sítios de splicing, afetando o processamento do mRNA e aumentando a expressão do ACE2 (Molina *et al.*, 2022). Além destes, o polimorfismo rs2106809 (g.7132; T>C), localizado no início do intron 2, pode influenciar nos níveis de angiotensina 1-7 (Liu *et al.*, 2016). As variações nos níveis dessa molécula podem ter consequências significativas decorrentes da infecção pelo vírus da COVID-19 (Carpenter *et al.*, 2022).

Assim, verificar a prevalência destes polimorfismos no gene *ACE2* é fundamental para compreender como estas variações genéticas podem impactar na suscetibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2 e na gravidade da COVID-19 nas mulheres grávidas de Pernambuco. Isso pode levar à identificação de biomarcadores e à implementação de estratégias de manejo clínico mais direcionadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO DA COVID-19 E SEU IMPACTO NA GESTAÇÃO

Inúmeros casos de uma síndrome respiratória aguda grave passaram a ser registrados em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, província de Hubei, localizada na China (Ferrer-Oliveras *et al.*, 2021), após a exposição de alguns indivíduos a um Mercado Atacadista de Frutos do Mar. O agente etiológico foi

identificado como sendo o SARS-CoV-2 (Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2) e a doença, por ele causada, foi denominada COVID-19 (do inglês - *Coronavirus Disease - 2019*) (Ahmad *et al.*, 2020). Em março de 2020, já existiam 118 mil casos confirmados em 114 países e 4.291 mortes, quando então a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou estado de emergência de saúde pública internacional e anunciou que a COVID-19 se tornara uma pandemia (Organização Pan-Americana da Saúde, 2023).

A rápida disseminação do vírus se deu devido ao fácil processo de transmissão, que ocorre a partir do contato direto ou indireto com secreções respiratórias de pessoas infectadas. A sintomatologia clínica da COVID-19 apresenta um amplo espectro, abrangendo desde casos assintomáticos, leves, moderados a graves, podendo requerer hospitalização, uso de oxigênio ou ventilação (Zizzo *et al.*, 2022). Os sintomas mais comumente observados são semelhantes ao de um resfriado, como tosse, espirro, febre, dor de garganta (Wiersinga *et al.*, 2020). Fatores que são considerados mais graves se enquadram em complicações extrapulmonares, como trombose vascular, coagulopatia, e também síndrome hiperinflamatória (McCalum *et al.*, 2021).

Existem grupos que são considerados de risco, compostos por pessoas que apresentam uma maior probabilidade de sofrerem consequências adversas decorrentes da sobreposição da COVID-19 a uma condição pré-existente capaz de fragilizar o indivíduo. Fazem parte desses grupos idosos, imunodeprimidos e pessoas com doenças de base como diabetes mellitus, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, entre outras (Zhou; Zhang; Qu, 2020). Indivíduos que pertencem aos grupos de risco apresentam maior susceptibilidade de serem considerados casos mais graves da COVID-19 e de enfrentar complicações adversas decorrentes da doença (Organização Pan-Americana da Saúde, 2023), por isso é essencial uma maior atenção e abordagem mais sensível a esses grupos a fim minimizar os riscos de complicações (Dashraath *et al.*, 2020).

O Brasil é o segundo país com o maior número de mortes por COVID-19 no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (Our World in Data, 2023). Até o momento foram confirmados cerca de 37 milhões e 900 mil casos e mais de 700 mil óbitos acumulados desde o estabelecimento da doença no país. No nordeste foram, aproximadamente, 7 milhões de casos e 136 mil óbitos, e o estado de Pernambuco

representa quase um quinto do quantitativo referente a região, sendo o 3º estado com maior número de óbitos (Brasil, 2023).

As mulheres grávidas são frequentemente afetadas por doenças respiratórias, que estão associadas a casos de infecções graves e mortalidade materna, devido a alterações cardiorrespiratórias e imunológicas que ocorrem durante o período gestacional (Dashraath *et al.*, 2020). Os sintomas mais relatados foram febre, tosse, mialgia e dispneia, e as alterações laboratoriais mais encontradas foram leucopenia e aumento da proteína C reativa (PCR) (Dileep; Zainalabdin; Aburuz, 2022).

Para frear a disseminação do vírus, foram empregadas medidas para combater o contágio da COVID-19, a fim de evitar a superlotação dos sistemas de saúde e mortes. Inicialmente, vários países fecharam suas fronteiras e adotaram medidas internas como o uso de máscaras faciais, ações de conscientização da importância da higiene das mãos e do isolamento social, dentre outras (Wilder-Smith; Freedman, 2020). Porém, essas medidas foram insuficientes, sendo necessária a determinação do lockdown. Diante deste cenário, o distanciamento social fez com que surgisse a necessidade de adaptação, por exemplo, dos ambientes de trabalho e escolares, a partir da implementação do home office e aulas remotas (Nascimento *et al.*, 2021).

A vigilância genômica do SARS-CoV-2 durante a pandemia foi de extrema relevância, por influenciar diretamente nas ações de políticas de saúde pública para o desenvolvimento de estratégias de contenção da disseminação do vírus (Turci; Holliday; Oliveira, 2020). No entanto, esse monitoramento deve ser contínuo, visto que esse vírus apresenta uma alta taxa de mutação, o que permite o surgimento de novas variantes, podendo, por exemplo, acarretar no comprometimento na eficácia dos imunizantes (Marquitti & Kraenkel, 2021).

Uma das maiores dificuldades encontradas na pandemia foi a ausência de tratamento para as pessoas que foram acometidas pela COVID-19. Por isso, houve a necessidade de desenvolver rapidamente um imunizante para tentar conter a rápida expansão dos casos da doença. O desenvolvimento da vacina se iniciou após a publicação da primeira sequência de genes do SARS-CoV-2, tendo a primeira fase de ensaio clínico sendo realizada 10 semanas após esta publicação (Lurie *et al.*, 2020). Isso foi possível graças à cooperação mundial em prol do controle sanitário. A imunização é uma ferramenta crucial para impedir a disseminação do SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2022), devido à capacidade de evitar a doença e reduzir os efeitos em

larga escala (Su; Du; Jiang, 2020). No âmbito mundial, foram desenvolvidas várias vacinas por diferentes fabricantes, que utilizam diferentes tecnologias. Um dos maiores impasses relacionados às vacinas se deve a má distribuição dos primeiros lotes dos imunizantes anti-SARS-CoV-2 no mundo (Oliveira *et al.*, 2021).

Desde a sua disponibilidade, mais de 13 bilhões de doses da vacina já foram administradas no mundo (Johns Hopkins, 2023). No Brasil, o processo de imunização iniciou-se em janeiro de 2021, nos profissionais da saúde e idosos acima de 75 anos, e apenas no segundo semestre do mesmo ano, que ocorreu na população geral, totalizando aproximadamente 519 milhões de doses aplicadas (Brasil, 2023). Em junho de 2021, as gestantes foram incluídas como grupo prioritário, inicialmente sendo vacinadas com a Oxford/AstraZeneca. No entanto, após relatos de casos de Síndrome de Trombose com Trombocitopenia, a ANVISA suspendeu o uso dessa vacina e optou substituir pela Pfizer (Silva *et al.*, 2023). Atualmente, a recomendação da Organização Mundial da Saúde é que as gestantes recebam uma dose única a cada gravidez, de preferência no segundo trimestre de gestação (Organização Mundial da Saúde, 2023). Essas orientações advindas dos órgãos de saúde visam proteger a população e garantir a eficácia do imunizante, já que os maiores desafios encontrados durante o desenvolvimento da vacina contra a COVID-19 foram relacionados à incapacidade de manter a imunidade a longo prazo e ao controle da tempestade de citocinas (Chung; Thone; Kwon, 2020).

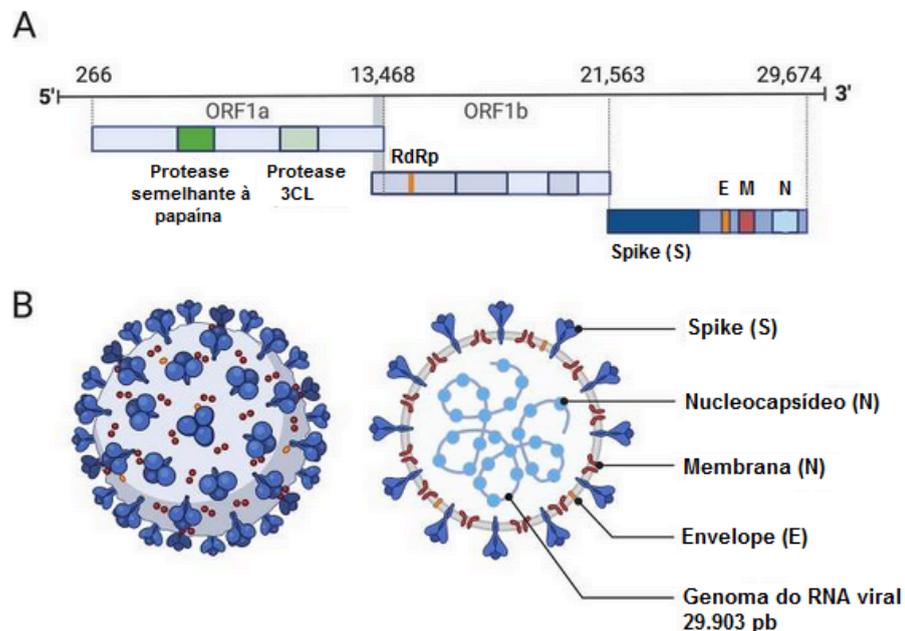
Em maio de 2023, a OMS declarou o fim da Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII). Contudo, isso não significa que a COVID-19 não é mais uma ameaça à saúde, mas que apenas ocorre uma mudança de foco voltada para o manejo da doença (UNASUS, 2023).

2.2 Genoma do SARS-CoV-2 e seu ciclo replicativo

O SARS-CoV-2 pertence à subfamília *Coronavirinae*, à família *Coronaviridae*, seu genoma é constituído por uma fita simples de RNA sentido positivo, cujo comprimento varia entre 26 e 32 kb (Wu *et al.*, 2020), e possui três seções, sendo as duas primeiras correspondentes à região dos ORFs 1a e 1b e, a última, a região codificadora de proteínas estruturais (Zheng *et al.*, 2023). As ORFs codificam proteínas não estruturais (nsp), como a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que participam de processos envolvidos com a replicação viral (Rando *et*

al., 2021). As proteínas de espícula (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N) compõem a estrutura do SARS-CoV-2 (figura 1). A glicoproteína S, mais conhecida como spike, está presente na superfície do nucleocapsídeo, e sua função é promover a ligação do vírus ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) da célula hospedeira e a fusão da membrana (Siu *et al.*, 2008). A proteína spike é clivada durante o processo de infecção em duas subunidades, a S1, que se liga a partir do seu domínio de ligação ao receptor (RBD) diretamente ao domínio peptidase do ACE2; e a S2, que é o responsável pela fusão da membrana (Yan *et al.*, 2020). A proteína E atua na montagem do nucleocapsídeo e liberação viral, estando diretamente envolvida na patogênese (Chen; Liu; Guo, 2020). A proteína M atua na montagem do vírion, moldando a curvatura da membrana. A principal função da proteína N é o empacotamento do RNA genômico viral, entretanto também age como antagonista de interferon- β (IFN- β), o que facilita o processo de infecção viral (Cui *et al.*, 2015).

Figura 1: Genoma e estrutura do SARS-CoV-2

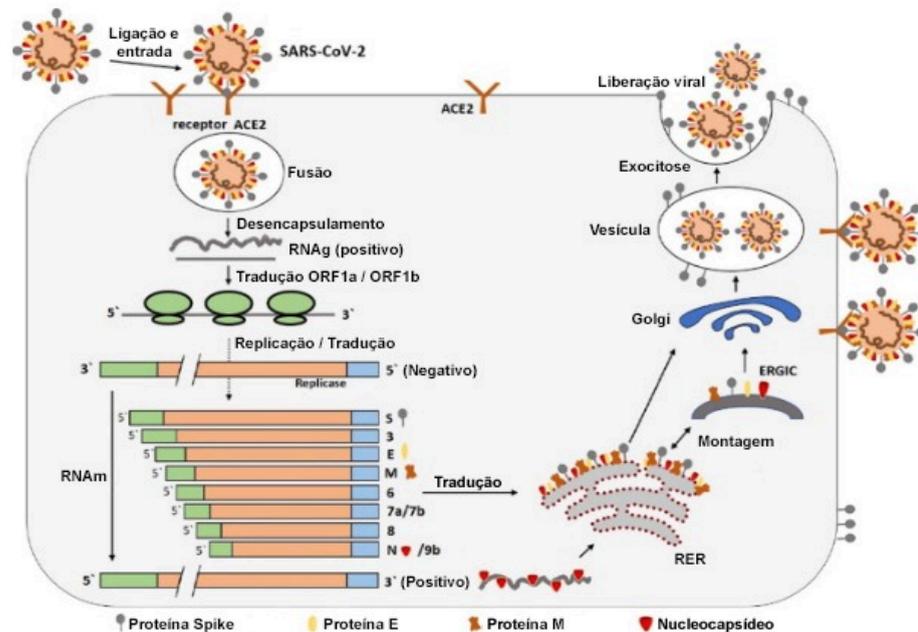


Fonte: Rando *et al.*, 2021 - modificado.

Legenda: a. Configuração genômica do SARS-CoV-2. As ORFs 1a e 1b correspondem a maior parte do RNA genômico e são responsáveis pela codificação de proteínas não estruturais (snp); o terço final condiz com a região genômica que codificam as proteínas estruturais do nucleocapsídeo. b. Estrutura do nucleocapsídeo do coronavírus, composto pelas proteínas estruturais S, E, M e N.

O início da patogênese ocorre a partir da interação da proteína S ao receptor celular ACE2 (figura 2). O ACE2 é uma peptidase transmembrana que está presente na superfície de células alveolares, cardíacas, vasculares, renais, intestinais, na placenta, entre outros tecidos (Devaux; Rolain; Raoult, 2020). Sua função está associada ao sistema renina-angiotensina-aldosterona, agindo no controle da pressão sanguínea e no equilíbrio de líquidos e eletrólitos (Bosso *et al.*, 2020). Em relação à sua estrutura, possui uma região N-terminal, onde se encontra o domínio peptidase (PD) e uma região C-terminal, que contém uma hélice transmembrana (Yan *et al.*, 2020). A ligação vírus-receptor é estabelecida a partir do PD com o domínio da ligação ao receptor (RBD) da proteína spike e a serina-protease de membrana tipo II (TMPRSS2) realiza a clivagem na subunidade 2 da proteína spike, promovendo então a entrada do RNA viral (Yan *et al.*, 2020). Após entrar na célula, o ciclo replicativo se inicia com a tradução do RNA viral em proteínas não estruturais que vão formar o complexo replicase. Este complexo dará origem a RNA genômico de sentido negativo e subgenômico para a produção de cópias de RNAg positivas e proteínas, respectivamente (Lee *et al.*, 2022). O término do ciclo se dá com a montagem dos vírions e sua maturação no retículo endoplasmático rugoso e Golgi. A sua liberação da célula ocorre por brotamento, e assim os vírus estão aptos para infectar novas células (Shereen *et al.*, 2020).

Figura 2: Ciclo replicativo do SARS-CoV-2



Fonte: Shereen *et al.*, 2020 - modificado.

Legenda: O ciclo replicativo do SARS-CoV-2 tem início quando a proteína spike se liga ao receptor ACE2. Após essa ligação, ocorre uma mudança conformacional que facilita a fusão do envelope viral com a membrana celular. O RNAg do SARS-CoV-2 vai para o citoplasma da célula hospedeira, para ser replicado e traduzido. Posteriormente, as proteínas virais e o RNAg recém sintetizados são montados em vírions no retículo endoplasmático e complexo de Golgi, sendo transportados por vesículas e liberados para fora da célula.

As altas taxas de mutação observadas no SARS-CoV-2 propiciam o surgimento de novas variantes do vírus. Essas mutações ocorrem devido às altas taxas de erro da RNA polimerase viral e têm potencial para alterar as características do vírus, incluindo a sua virulência e transmissibilidade, podendo interferir na proteção imunológica fornecida pelas vacinas atualmente disponíveis (Canton *et al.*, 2021). A eficácia das vacinas direcionadas a proteína spike pode ser comprometida em razão da alta taxa de mutação na região genômica correspondente (Chung; Thone; Kwon, 2020). Por isso, a vigilância genômica e as atualizações vacinais são cruciais para combater a infecção do SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2022).

2.3 Gestação normal e pós-infecção pelo SARS-CoV-2

A gestação é um fenômeno fisiológico que se inicia desde a fecundação do espermatozoide no ovócito até o momento do parto. Durante todo o período, diversas modificações ocorrem no organismo da mulher para proporcionar a formação e o desenvolvimento fetal. Em geral, a gestação transcorre sem complicações, no entanto, uma pequena parcela de gestantes podem apresentar uma evolução desfavorável devido a uma doença crônica preexistente ou agravos imprevistos durante a gravidez (Brasil, 2023).

As gestantes apresentam um sistema imunológico diferenciado em razão das alterações causadas pela presença fetal e placentária para viabilizar a gravidez (Racicot *et al.*, 2014). No primeiro trimestre, há uma predominância de um estado pró-inflamatório, ocasionado pela invasão das células trofoblásticas no endométrio com a finalidade de formar a placenta (Weng; Couture; Girard, 2023); no segundo trimestre, há uma transição para um estágio anti-inflamatório, que favorece o desenvolvimento do feto; e no último semestre, o ambiente pró-inflamatório favorece a contração uterina, promovendo então a expulsão do feto e da placenta durante o parto (Mor *et al.*, 2012).

Os trofoblastos são as células da camada externa do blastocisto, que é uma estrutura do desenvolvimento embrionário. Essas células são encarregadas de propiciar a invasão do blastocisto no endométrio, fase conhecida como implantação, levando então à fixação do embrião, e posteriormente dando origem à parte embrionária da placenta (Moore, 2013). Além disso, estão envolvidos tanto na regulação da interface materno-fetal, pois participam da remodelação da artéria espiralada, como também influencia na função imune, impedindo a rejeição do feto semi-alogênico (Hussain *et al.*, 2022). O sucesso da gravidez é resultado do equilíbrio das interações entre trofoblastos e células imunológicas decíduais que vão dar suporte para o desenvolvimento fetal (Prabhudas *et al.*, 2015).

Ao longo de uma gestação saudável, a decídua abriga células imunológicas, como macrófagos, células natural killer (NK) e células T reguladoras (Treg). A presença de células imunitárias no local de implantação é essencial para facilitar e proteger a gravidez, pois modulam a função imunológica próxima ao local de

implantação do trofoblasto na decídua, além de promover uma resposta ativa em casos de infecções (Mor *et al.*, 2012).

Os macrófagos se infiltram na decídua e contribuem para um micro ambiente marcado por reações inflamatórias ou maior tolerância imunológica, a depender do período gestacional. As células NK são classificadas em células NK uterinas (uNK), células NK do sangue periférico (pNK) e células NK decíduais (dNK). dNK são os leucócitos presentes na decídua no primeiro trimestre de gestação e vão atuar no processo de remodelação da artéria espiral após a invasão trofoblástica (Weng; Couture; Girard, 2023).

Mudanças nos níveis hormonais e no sistema imunológico durante a gestação podem tornar as mulheres mais suscetíveis a infecções. Os elevados índices de mortalidade e as complicações decorrentes da infecção viral são mais prevalentes neste grupo em relação à população em geral (Alberca *et al.*, 2020). A COVID-19 pode causar complicações obstétricas, induzidas pelo efeito viral ou pelas intensas respostas inflamatórias. Alterações imunológicas nas gestantes podem favorecer estados hiper inflamatórios, elevando o risco de lesões pulmonares e morbidade em decorrência da infecção pelo SARS-CoV-2. A super ativação do complemento e o aumento dos receptores toll-like TLR-1 e TLR-7 têm sido associados à maior liberação de fatores pró-inflamatórios, como IL-6, IL-12, IFN- α e TNF- α e danos pulmonares (Rangchaikul; Venketaraman, 2021). No geral, as citocinas e os interferons desempenham um papel crucial na manutenção da gravidez, devido à sua participação na regulação de processos celulares. Entretanto, quando há um desequilíbrio, pode afetar vias relacionadas ao desenvolvimento fetal e placentário (Yockey; Iwasaki, 2018). Um ambiente hiper inflamatório na gravidez pode ser nocivo principalmente no neurodesenvolvimento do feto, podendo acarretar em disfunções neuronais (Ferrer-Oliveras *et al.*, 2021).

As mulheres grávidas infectadas pelo coronavírus podem apresentar sintomas semelhantes aos que ocorrem na população em geral, como febre, tosse e falta de ar. No entanto, as alterações fisiológicas e imunológicas que acontecem no desenvolvimento da gravidez podem predispor as gestantes a complicações respiratórias mais graves. Alguns estudos mostram que a taxa de parto prematuro é maior em mulheres grávidas com COVID-19 em comparação com mulheres grávidas saudáveis e não infectadas em todo o mundo (Karasek *et al.*, 2021; Marchand *et al.*, 2022). Além disso, há um risco aumentado de resultados adversos, incluindo

hospitalização materna na unidade de terapia intensiva (UTI), necessidade de suplementação de oxigênio (pela predisposição à hipóxia devido à demanda fetal de oxigênio), morte materna, morte fetal, ruptura prematura de membranas, parto prematuro e baixo peso ao nascer (Dubey *et al.*, 2020; Karaçam *et al.*, 2022; Narang; Enninga; Gunaratne, 2020; Pereira & Wendt, 2020; Souza *et al.*, 2020).

2.4 Pré-eclâmpsia e semelhança com a COVID-19

A pré-eclâmpsia (PE) é um distúrbio multissistêmico grave que ocorre a partir do segundo trimestre da gestação. É considerada uma das principais causas de complicações da gravidez, acometendo cerca de 2 a 8% das gestantes. Esta condição apresenta índices elevados de morbidade e mortalidade, com cerca de 4 milhões de diagnósticos no mundo e resulta na morte de mais de 70.000 mulheres e 500.000 recém nascidos a cada ano (Dimitriadis *et al.*, 2023). Os principais sinais clínicos da doença são hipertensão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou diastólica ≥ 90 mmHg de início precoce, acompanhada por um ou mais sinais clínicos como proteinúria, lesão renal, elevação nos níveis das transaminases, sinais neurológicos, alterações hematológicas, complicações cardiorrespiratórias ou disfunção uteroplacentária (Dimitriadis *et al.*, 2023). A pré-eclâmpsia pode progredir para a eclâmpsia, condição caracterizada por crises convulsivas que podem causar complicações mais graves, como danos cerebrais e lesões em órgãos, podendo também levar à morte materna, ou fetal devido ao desfecho adverso ocasionado pela restrição do crescimento intrauterino (Chaiworapongsa *et al.*, 2014). Além disso, a maioria das mulheres que sofrem de convulsões podem desenvolver a síndrome HELLP (Akre *et al.*, 2022), um distúrbio da gravidez que apresenta uma alta incidência de mortalidade, caracterizado por hemólise, elevação das transaminases e plaquetopenia (Mihu *et al.*, 2007).

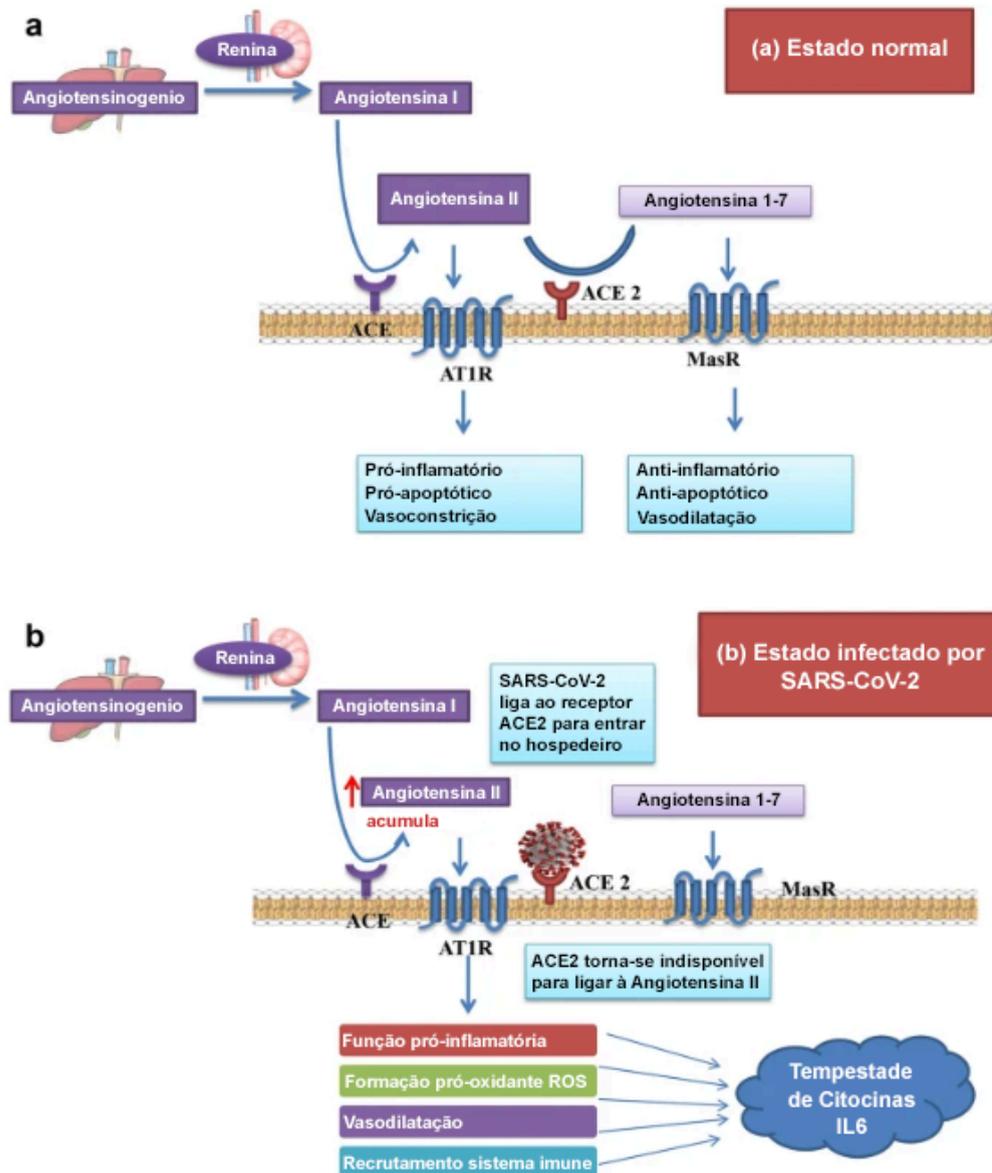
A patogênese da pré-eclâmpsia ainda não é bem elucidada, porém acredita-se que pode estar relacionada a uma disfunção placentária ou a uma intolerância imunológica materna. A disfunção placentária tem relação com a invasão superficial dos trofoblastos que não conduz a remodelação da artéria espiral, permanecendo estreita e restringindo o suprimento sanguíneo ao feto. Isso resulta numa isquemia placentária e hipóxia, e essa condição está associada a uma

diminuição de fatores angiogênicos, enquanto há um aumento de fatores antiangiogênicos, como também espécies reativas de oxigênio (ROS), citocinas pró-inflamatórias, dentre outros (Sowmya *et al.*, 2015). Na intolerância imunológica há um comprometimento da invasão citotrofoblástica, que está relacionado a uma diminuição da expressão de HLA-G (antígeno leucocitário humano G) por estas células. O HLA-G é uma das moléculas que participa da tolerância imunológica na interface materno-fetal e sua função está relacionada com a inibição da atividade de células NK e T presentes na decídua, para que o sistema imune materno não reconheça o feto como um corpo estranho, favorecendo uma gravidez sem complicações (Yie *et al.*, 2008). Mulheres com pré-eclâmpsia apresentam uma baixa expressão de HLA-G, possivelmente devido a uma predisposição, que é observada a partir do histórico familiar, ou pela própria patogênese da doença (Alves *et al.*, 2007). Assim, saber como a baixa expressão de HLA-G pode influenciar nas alterações imunológicas e vasculares, e a sua atuação como mediador na patogênese da pré-eclâmpsia pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas (Goldman-Wohl *et al.*, 2000).

A COVID-19 e a pré-eclâmpsia apresentam semelhanças na sintomatologia, como a presença do quadro hipertensivo e alterações vasculares secundárias, que vão acarretar na diminuição do fluxo sanguíneo, e conseqüentemente no aporte de oxigênio. Além disso, a infecção pelo SARS-CoV-2 durante a gestação tem sido relacionada a uma maior probabilidade de desenvolver pré-eclâmpsia, tanto em pacientes sintomáticas quanto assintomáticas (Conde-Agudelo; Romero, 2021; Mendonza *et al.*, 2020). Em mulheres com pré-eclâmpsia, observa-se uma supressão do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), que resulta no aumento da resistência vascular e compromete o desenvolvimento da hipervolemia, um estado fisiológico esperado durante a gestação (Sayad *et al.*, 2022). Segundo Sayad *et al.*, 2022, a infecção pelo SARS-CoV-2 também impacta desfavoravelmente o SRAA, devido a redução na disponibilidade do ACE2 na superfície celular (figura 3). A entrada do SARS-CoV-2 nas células por meio do ACE2, cuja expressão é potencialmente ampliada durante o período gestacional, pode contribuir para uma maior suscetibilidade à infecção pelo vírus e, por conseguinte, o risco de complicações durante o período gestacional (Sayad *et al.*, 2022). Embora existam semelhanças na redução da disponibilidade da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) na superfície celular, a patogênese da

pré-eclâmpsia e da infecção por SARS-CoV-2 durante a gravidez apresentam variações distintas. As semelhanças na sintomatologia, por vezes, podem ter induzido à admissão de pacientes gestantes infectadas com COVID-19 em hospitais que não são especializados no tratamento de casos relacionados à gestação.

Figura 3: SRAA normal e na infecção pelo SARS-CoV-2



Fonte: Shekhawat *et al.*, 2021 - modificado.

Legenda: **a.** Em condições normais, a interação da angiotensina II com seu receptor (AT1R) desencadeia respostas pró-inflamatórias, enquanto a interação da angiotensina 1-7 com o MasR induz respostas anti-inflamatórias. Ambos atuam em equilíbrio para manter a pressão arterial. **b.** Na infecção pelo SARS-CoV-2, a conversão da angiotensina II em angiotensina 1-7 é prejudicada devido

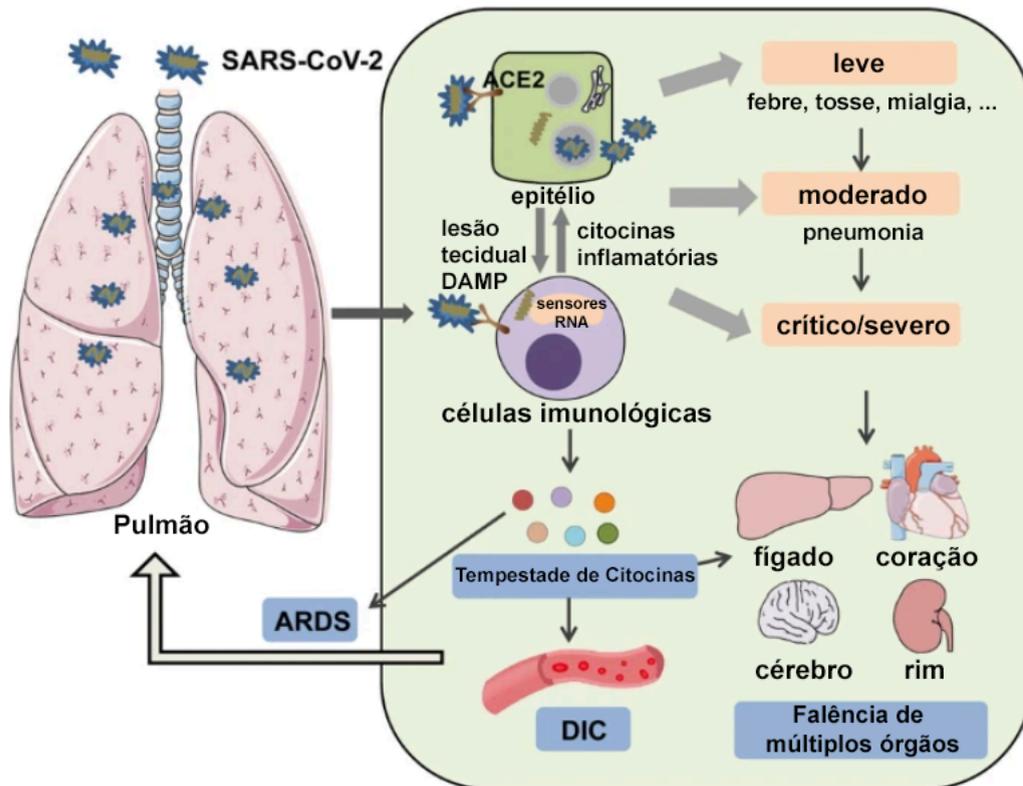
à indisponibilidade do receptor por estar interagindo com o vírus, causando um desequilíbrio e favorecendo a vasoconstrição e a reação pró-inflamatória.

2.5 Imunopatogênese do SARS-CoV-2

O vírus infecta a célula do hospedeiro, utiliza o aparelho celular para se replicar, e em seguida ocorre morte celular programada devido a infecção do patógeno intracelular. Nesse processo há liberação de ácidos nucleicos e ATP no meio extracelular, o que desencadeia o estímulo das células próximas a recrutar células imunológicas para o início da resposta inflamatória (An Wastnedge *et al.*, 2020). Os Receptores Toll-like, expressos na membrana plasmática e em compartimentos endossomais, agem no reconhecimento dos padrões moleculares presentes nos coronavírus. Após a interação com os PAMPs e DAMPs, os TLRs ativam vias de sinalização que estimulam a liberação de mediadores, como citocinas e quimiocinas. Esses mediadores vão induzir a transcrição e secreção de fatores para combater o SARS-CoV-2 nas células infectadas e nas células próximas, a partir do recrutamento de células imunes para enfrentar a infecção (Silva *et al.*, 2021). As células imunes inatas locais liberam citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ , dentre outras) para o recrutamento de mais células imunes inatas e adaptativas. Em contrapartida, a produção de citocinas inflamatórias, como a IL-10, atuam na modulação da resposta inflamatória, buscando restabelecer a homeostase (Yang *et al.*, 2021).

A complexidade da reação inflamatória consiste no equilíbrio de combater a infecção sem causar danos ao organismo. Quando modulada, a partir da produção balanceada de citocinas pró e anti-inflamatórias, juntamente com a ação coordenada das células envolvidas e imunoglobulinas, é capaz de conter a disseminação viral e a recuperação do indivíduo infectado torna-se mais rápida (An Wastnedge *et al.*, 2020). Entretanto, nos casos mais graves da doença há um desequilíbrio na resposta imunológica, o que desencadeia um estado hiper-inflamatório conhecido como tempestade de citocinas (figura 4).

Figura 4: Imunopatogênese da COVID-19



Fonte: Yang *et al.*, 2021 - modificado.

Legenda: Quando o SARS-CoV-2 invade as células epiteliais das vias aéreas através da ligação ao ACE2, o tecido é danificado e há liberação de DAMPs, além da produção de citocinas inflamatórias. Essas citocinas vão recrutar células imunológicas e a interação destas provoca sintomas em diferentes gravidades: leves (febre, tosse, mialgia), moderados (pneumonia) e críticos. Nos casos mais graves, a tempestade de citocinas pode manifestar a SDRA, coagulação intravascular disseminada (CIVD), além de causar a falência de múltiplos órgãos como fígado, coração, cérebro e rins.

2.6 ACE2 e variantes genéticas

O gene do *ACE2* está localizado no braço curto do cromossomo X (Xp22), apresentando 18 éxons e 20 íntrons (Ragia & Manolopoulos, 2020), dando origem à enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), proteína com 805 aminoácidos, cujo peso é de aproximadamente 120 kDa (Bakhshandeh *et al.*, 2021). Esta proteína é

uma metalo carboxipeptidase transmembrana do tipo I, cuja atividade está ligada à regulação da homeostase do sistema renina angiotensina, desempenhando um papel crucial na manutenção dos sistemas cardiovascular e imunológico (Aleksova *et al.*, 2021). A ACE2 é expressa na maioria dos tecidos, como células pulmonares, endoteliais, cardíacas, renais, cerebrais, dentre outros (Ashraf *et al.*, 2021). Sua ação na regulação negativa do SRAA se dá a partir da clivagem da angiotensina II em angiotensina 1-7, que interage com o receptor do Mas (MasR), resultando em efeitos vasodilatadores e antiinflamatórios (Oudit & Pfeffer, 2020).

Durante a fase inicial da gravidez, o ACE2 é expresso pelos citotrofoblastos vilosos, sinciciotrofoblastos e células trofoblásticas extravilosas (Verma *et al.*, 2021). Entretanto, à medida que a gravidez progride, o ACE2 tende a diminuir. Essa redução durante a gestação pode ter implicações decorrentes da infecção pelo SARS-CoV-2, devido a interação da proteína viral com o receptor, interferindo o SRA na região placentária (Cruz *et al.*, 2021). Além disso, sabe-se que a infecção pelo SARS-CoV-2 também reduz a disponibilidade do ACE2 na superfície das células, podendo representar um risco para a vascularização da placenta, contribuir para o aumento da pressão arterial materna, além de agravar condições preexistentes (Cruz *et al.*, 2021).

Polimorfismos no gene do ACE2 podem influenciar na sua expressão, por isso é importante avaliar a relação destes com os casos clínicos de mulheres grávidas com COVID-19 e com pré-eclâmpsia. Os SNPs rs1978124 (g.7130; G>A) e rs2285666 (g.14845; G>A) estão localizados no início do íntron 2 e íntron 3, respectivamente. Esses SNPs levam a criação de um novo sítio de splicing, o que pode interferir no processamento do mRNA e, conseqüentemente, na síntese da proteína (Molina *et al.*, 2022).

O rs1978124 foi previamente relacionado a um risco de hipertrofia ventricular esquerda e dislipidemia, e um estudo recente de Molina *et al.*, 2022, sugere que o genótipo heterozigoto confere uma proteção em relação à gravidade da COVID-19, especialmente em mulheres. Por outro lado, o rs2285666 estava relacionado à hipertensão e insuficiência cardíaca devido ao aumento da expressão do ACE2 (Pan *et al.*, 2018). Além destes, o polimorfismo rs2106809 (g.7132; T>C), também localizado no íntron 2, leva a criação de um intensificador de splicing e influencia nos níveis circulantes de angiotensina 1-7 (Liu *et al.*, 2016).

Portanto, torna-se importante a verificação da frequência desses polimorfismos no gene do *ACE2*, visando compreender a influência dessas variantes nos processos de infecção pelo SARS-CoV-2, e também na progressão da COVID-19 para casos graves na população de gestantes de Pernambuco.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as variantes genéticas do *ACE2* e seus impactos nas gestantes com COVID-19 e pré-eclâmpsia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a frequência de alelos, genótipos e haplótipos dos polimorfismos rs2285666, rs1978124 e rs2106809 do gene *ACE2* em mulheres grávidas saudáveis, com COVID-19 e com pré-eclâmpsia;
- b) Verificar se há associação entre os polimorfismos e a susceptibilidade à gravidade da COVID-19 e da pré-eclâmpsia, em comparação ao grupo controle.
- c) Verificar se há influência na gravidade na gestação entre pacientes com COVID-19 e pré-eclâmpsia;
- d) Verificar se a infecção pelo SARS-CoV-2 influencia na gravidade da pré-eclâmpsia.

4 METODOLOGIA

4.1 COLETA DE AMOSTRAS E TIPO DE ESTUDO

O estudo transversal, descritivo com grupo interno de comparação, foi conduzido com gestantes e puérperas, diagnosticadas com COVID-19, atendidas no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) em Recife, no estado de Pernambuco, local que foi referência para os casos de COVID-19 em gestantes na capital pernambucana. A coleta das amostras e dados clínicos das pacientes foram realizadas no ano de 2021. Todas as pacientes foram informadas sobre o propósito da pesquisa, e as pacientes que aceitaram participar do estudo, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). No IMIP, dentro do grupo internamento do COVID-19, foram coletadas 317 pacientes, que tiveram o sangue periférico coletados em três momentos distintos: na triagem, durante o parto e na enfermaria 24 horas após o parto. Além disso, foram coletadas 217 gestantes, sem suspeita de COVID, atendidas no pré-natal, para compor o grupo controle. O projeto também consta com uma coorte de 154 amostras de pacientes com pré-eclâmpsia confirmada e conta com a aprovação dos comitês de ética da UFPE (CAAE: 32359320.3.3002.8807), IMIP (CAAE: 32359320.3.3001.5201) e do Hospital das Clínicas da UFPE (CAAE: 32359320.3.3002.8807).

4.2 Processamento de Células Sanguíneas

As amostras de sangue periférico foram processadas e separadas por um gradiente de densidade, adicionado 8 mL de sangue com anticoagulante EDTA sobre 3 mL de Ficoll em um tubo cônico de 15 mL. Em seguida, ocorreu a centrifugação a 2000 RPM durante 30 minutos com uma aceleração de 7 e frenagem de 5. A próxima etapa foi a remoção do plasma, que posteriormente foi dividido em dois criotubos, que foram armazenados e utilizados no diagnóstico sorológico. O anel de leucócitos formado foi transferido para outro tubo cônico contendo 15 mL, depois foi adicionado o PBS 1x para completar o volume restante. O tubo foi homogeneizado com o intuito de lavar as células e em seguida foi centrifugado a 1600 RPM durante 6 minutos com uma aceleração de 9 e frenagem

de 7. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e foram adicionados 1000 μL de PBS 1x para ressuspender o pellet formado. A contagem de células foi feita para definir a quantidade de criotubos que seriam armazenados. Na contagem de células, foram adicionados 95 μL de Trypan Blue e 5 μL de amostra, para depois ser homogeneizado. Após essa etapa, foram pipetados 10 μL da mistura e adicionados na Câmara de Neubauer para ser possível a visualização no microscópio óptico. Quando a contagem de células resultava igual ou aproximado de 5×10^6 em 1 mL, a amostra precisava ser dividida em três criotubos. Seguinte da divisão, os criotubos foram centrifugados a 1600 RPM, durante 3 minutos. O sobrenadante foi descartado e depois no primeiro criotubos, foi acrescentado 500 μL de Trizol, no segundo criotubo, 500 μL de DNazol, e no terceiro nada foi adicionado. Por fim, foi realizada a ressuspensão do material e as células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram armazenadas a -80°C em DNazol®. O reagente DNazol (Invitrogen, Carlsbad, CA) foi utilizado para a extração de DNA e em TRizol® Reagente (Invitrogen, Carlsbad, CA) para a extração de RNA. O DNA extraído foi armazenado a -20°C e antes de cada rodada de PCR foram aquecidas a 55°C para que todo DNA seja diluído e homogeneizado antes de serem adicionados no mix de reação em cadeia da polimerase (PCR).

4.3 Extração de DNA das PBMC

Para realizar a extração de DNA genômico, foram acrescentados mais 500 μL de DNazol® Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA) em uma alíquota de PBMC, que já continha 500 μL de DNazol. Em seguida, as células foram lisadas no vórtex por aproximadamente 1 minuto. Foi adicionado 500 μL de etanol 100% para cada 1ml de DNazol, seguido de homogeneização manual através de inversão por 6 vezes, e incubação à temperatura ambiente por 3 minutos. Os tubos foram centrifugados a 13.000 rpm por 10 minutos a 4°C . Posteriormente, o sobrenadante foi descartado, e 1ml de etanol 75% foi adicionado para a lavagem do DNA. Os tubos foram homogeneizados por inversão (6-10 vezes) e as amostras foram centrifugadas a 4000 g por 5 minutos a 4°C . Ao finalizar, o sobrenadante foi descartado e a lavagem do DNA foi realizada novamente com etanol 75%. Foi aguardada a evaporação do

etanol por aproximadamente 30 minutos com os tubos invertidos no fluxo. O DNA foi eluído em 200 μ L de NaOH a 8 mM e, por fim, armazenado a -20 °C.

4.4 Quantificação do DNA

A avaliação da quantidade de DNA foi realizada utilizando o espectrofotômetro NanoDrop 2000 (ThermoScientific, Massachusetts, Estados Unidos da América - EUA), o que determinou a concentração do ácido nucleico através da razão ng/ μ L. A quantificação do DNA ocorreu pela medição da absorbância a 260nm, e a pureza do DNA foi estabelecida com base na razão 260/280 nm, sendo considerado indicativo de pureza um valor entre 1,7 e 2,0.

4.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR) e eletroforese

Com o DNA extraído, a PCR convencional foi preparada em um volume final de 20 μ l contendo 1x tampão da polimerase (Invitrogen, São Paulo/Brasil); 1,5 mM MgCl₂; 3% DMSO; 200 μ M dNTP's, 1,0 μ M de iniciadores ACE2.2 F/R, para a amplificação da região dos SNPs rs1978124 e rs2106809; ACE2.3 F/R para amplificação de fragmento da região do SNP rs2285666, ambos no gene ACE2; 1,0 unidade de Taq DNA polimerase recombinante e 100-200 ng de DNA genômico.

As condições para a ocorrência da PCR foram inicialmente 5 ciclos de 3 minutos a 94°C; seguida por 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 63°C e 1 minuto a 72°C. Posteriormente, foram realizados 35 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto. Para finalizar a reação, foi realizado um ciclo de extensão a 72°C por 7 minutos. Nesse caso, apenas um controle negativo foi utilizado, contendo o mix desprovido de amostra, uma vez que o gene em questão é constitutivo, e espera-se que todas as amostras sejam amplificadas. A visualização do fragmento amplificado ocorreu em gel de agarose a 1,5% em 100 mL de TAE 1x contendo 10 μ l de Sybr Safe. Após quarenta minutos da corrida de eletroforese, à 80 mV e 150 mA, o gel foi revelado por meio de um transiluminador, utilizando a ação do intercalante pela luz ultravioleta.

4.6 Sequenciamento do DNA genômico

Todos os produtos da PCR foram sequenciados utilizando o método de sequenciamento Sanger, de acordo com o protocolo BigDye em sequenciador ABI3500 da AppliedBiosystems, sendo a técnica realizada pelo Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT) do Instituto Aggeu Magalhães. A leitura dos SNPs do ACE2 foi feita pelo programa Seqman® (Roche 454, Life Science™, Basel, Whisker).

4.7 Frequência genética, predição de haplótipos e análise estatística

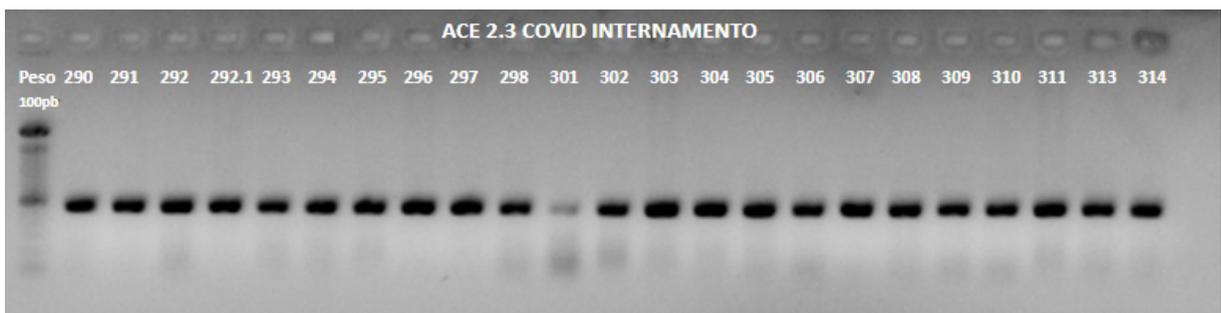
Os dados relativos às frequências de alelos, genótipos e haplótipos foram submetidos a análises de associação por meio dos testes estatísticos de Fisher (bilateral) e qui-quadrado (utilizando GraphPad Prism 5), onde uma significância estatística foi atribuída a valores de $P < 0,05$. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliado com base na fórmula do teorema correspondente. O haplótipo mais provável para cada amostra foi determinado utilizando o software Phase versão 2.1, e apenas haplótipos com uma probabilidade superior a 98% foram considerados nas análises.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AMPLIFICAÇÃO DE SÍTIOS DO ACE2

A figura 5 apresenta o resultado da PCR realizada para o polimorfismo rs2285666 no gene ACE2, sendo possível a identificação do fragmento de 551 pares de base (pb).

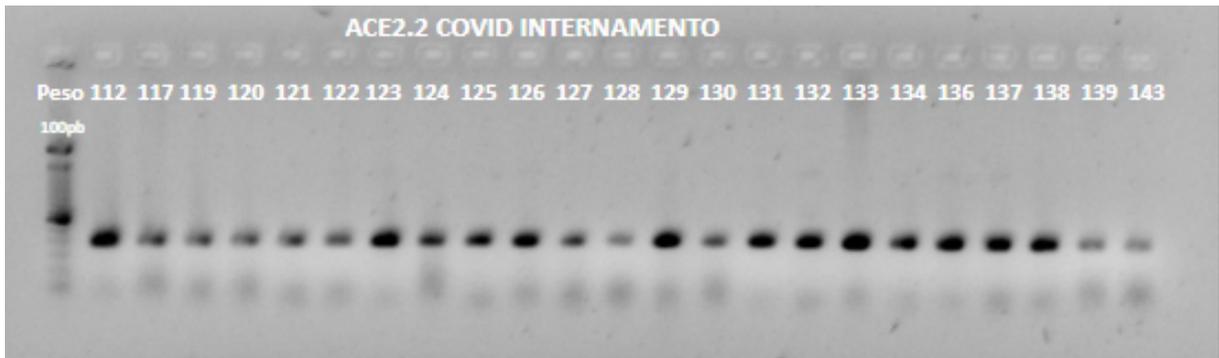
Figura 5: Eletroforese comprovando a amplificação do ACE2 (rs2285666).



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

A figura 6 ilustra o resultado da amplificação do fragmento correspondente à região onde se localizam os polimorfismos rs1978124 e rs2106809, cujo tamanho é de 399pb.

Figura 6: Eletroforese comprovando a amplificação do *ACE2* (rs1978124 e rs2106809).

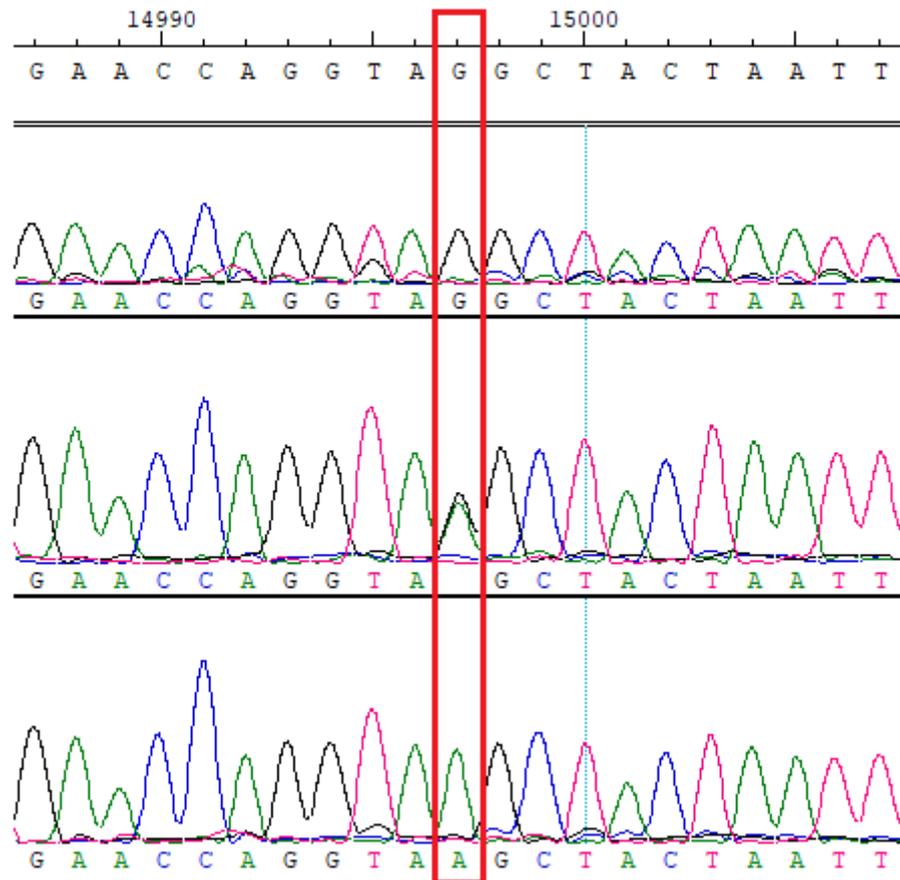


Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

5.2 SEQUENCIAMENTO *ACE2*

O eletroferograma correspondente aos amplicons do *ACE2* mostra as regiões polimórficas do rs2285666 (figura 7), rs1978124 (figura 8) e rs2106809 (figura 9).

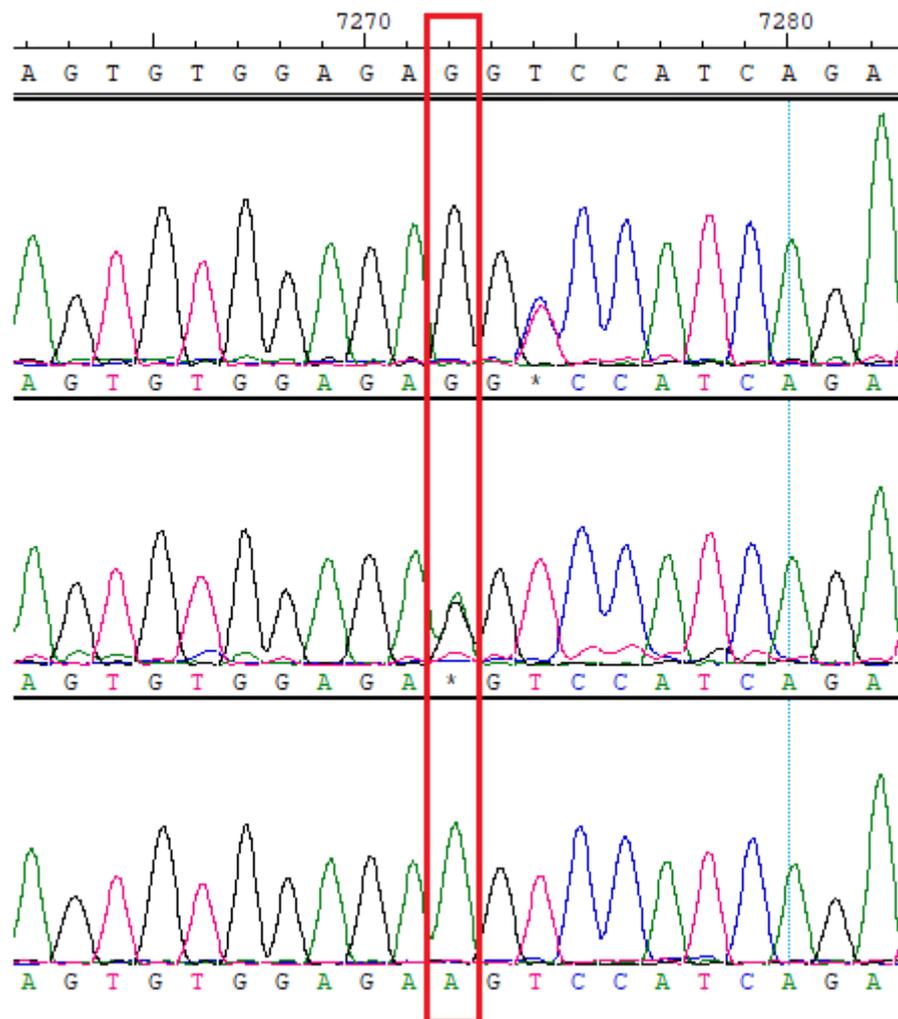
Figura 7: Eletroferograma do SNP rs2285666 na região intrônica do gene *ACE2*



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Legenda: Genótipo homocigoto (GG): pico em preto; genótipo heterocigoto (GA): pico sobreposto em preto e verde; genótipo homocigoto (AA): pico em verde.

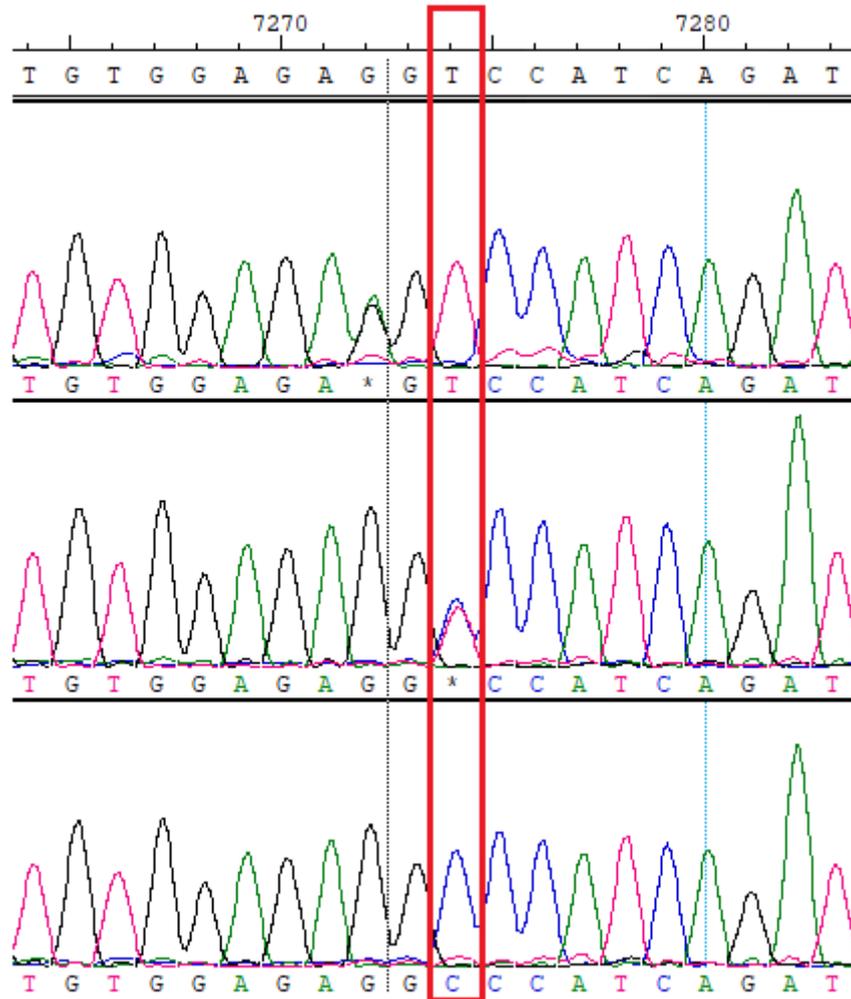
Figura 8: Eletroferograma do SNP rs1978124 na região intrônica do gene *ACE2*



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: Genótipo homocigoto (GG): pico em preto; genótipo heterocigoto (GA): pico sobreposto em preto e verde; genótipo homocigoto (AA): pico em verde.

Figura 9: Eletroferograma do SNP rs2106809 na região intrônica do gene *ACE2*



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: Genótipo homocigoto (TT): pico em rosa; genótipo heterocigoto (TC): pico sobreposto em rosa e azul; genótipo homocigoto (CC): pico em azul.

5.3 ESTUDO DO POLIMORFISMO rs2285666 NA REGIÃO INTRÔNICA DO *ACE2*

A genotipagem do rs2285666 no *ACE2*, que aborda a região do íntron 3, foi realizada em 298 pacientes (tabela 1). A frequência do alelo selvagem G foi encontrada em 74% das amostras, e a distribuição genotípica GG = 56,38%, GA = 36,24%, AA = 7,38%, encontrando-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0,4$). Não houveram diferenças significativas em relação a gravidade da COVID-19, associação com pré-eclâmpsia, diferença na gravidade da gestação pela COVID-19 e pré-eclâmpsia ou a influência do vírus na gravidade da PE ($p > 0,05$).

A frequência do alelo mutante *A* do polimorfismo, detectada em 26% entre mulheres grávidas em Pernambuco, destaca uma notável congruência com os resultados do estudo realizado por Pinheiro *et al.*, 2019 no estado de Goiás. Nesse estudo, que abordou o impacto do rs2285666 em uma ampla faixa etária (de 22 a 86 anos) e em ambos os sexos, tanto em pacientes com hipertensão arterial sistêmica (HAS) quanto no grupo de controle (saudáveis), a frequência do alelo mutante foi encontrado em 28% entre mulheres nos grupos de estudo, embora não tenha sido observada associação significativa ($p > 0,05$). Em comparação com países globais, verifica-se que a frequência do alelo *A* é a mais próxima observada em europeus (20%) e italianos (20,6%), enquanto a prevalência do alelo mutante é mais elevada nos asiáticos orientais (55%), no leste asiático (54,8%) e nos indianos (66%) (Asselta *et al.*, 2020; Cao *et al.*, 2020). A discrepância na frequência dos alelos, quando comparado ao nosso estudo, pode ser atribuída à composição específica da população a qual analisamos, que é composta por pacientes grávidas saudáveis, acometidas pela COVID-19 ou pré-eclâmpsia e não com a população em geral.

Considerando que a presença do SNP poderia possivelmente aumentar os níveis de expressão do receptor *ACE2* a partir da criação de um novo sítio de splicing, sendo relacionado a uma menor infecção pelo SARS-CoV-2 (Srivastava *et al.*, 2020), o estudo de Novelli *et al.*, 2020 não encontrou diferenças significativas entre as distintas gravidades da COVID-19. Além deste, o estudo de Karakaş Celik *et al.*, 2021 também não mostrou associação à gravidade da infecção pelo SARS-CoV-2. No entanto, Sheikhan *et al.*, 2023 identificaram associações entre os genótipos *AA* e *GA* à mortalidade em diferentes variantes do vírus. Por fim, Molina *et al.*, 2022 encontraram associações entre o SNP e o aumento de hospitalização das mulheres (OR = 6,56, IC 95% : 0,71–60,20; $p = 0,048$).

5.4 ESTUDO DO POLIMORFISMO rs1978124 NA REGIÃO INTRÔNICA DO *ACE2*

A análise genotípica do *ACE2*, na região do polimorfismo intrônico rs1978124, foi realizada em 288 pacientes, conforme mostrado na tabela 2. A presença do alelo selvagem *G* foi observada em 71,53% das amostras, enquanto a distribuição genotípica foi de 51,39% para *GG*, 40,28% para *GA* e 8,33% para *AA*, estando em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0,04$). Assim como no caso do SNP citado

anteriormente, também não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

A frequência alélica do alelo *A*, encontrada em 28,47% dos pacientes, revela uma prevalência significativa em nossa amostra. No entanto, ao compararmos com um estudo realizado por Sheikhian *et al.*, 2023 em 4.330 iranianos com COVID-19 de diferentes variantes, observa-se uma frequência mais alta, atingindo 60% para o alelo mutante. Além disso, analisando as frequências alélicas em outras regiões, nota-se uma semelhança com as observadas em populações africanas (26,1%) e em populações afro-americanas (26,1%), como também em algumas áreas do continente asiático (30%) (NCBI, 2024).

Tendo em vista que a presença do SNP possivelmente aumentaria os níveis de expressão do receptor *ACE2* a partir da criação de um novo sítio de splicing, e que foi relacionado a uma menor infecção pelo SARS-CoV-2, o nosso estudo não observou diferença significativa entre o polimorfismo e as variáveis analisadas (tabela 2). No entanto, ao comparar com os resultados de Molina *et al.*, 2022, o genótipo *A/G* dos SNPs rs1978124 era predominante no grupo de pacientes ambulatoriais, demonstrando uma associação significativa entre o polimorfismo e a proteção de acordo com a condição clínica (OR = 0,37 (0,14–0,96); $p = 0,038$). Por outro lado, no estudo de Sheikhian *et al.*, 2023 o genótipo *TC* foi relacionado à mortalidade por COVID-19 nas variantes Omicron BA.5 e Alpha, enquanto o genótipo *TT* foi associado à mortalidade na variante Delta. As diferenças na população de estudo e no enfoque da pesquisa pode influenciar nos resultados obtidos, já que os grupos analisados nos outros estudos foram determinados a partir da gravidade da doença, sem distinção de sexo (Molina *et al.*, 2022) e avaliando o impacto em relação a diferentes variantes do vírus (Sheikhian *et al.*, 2023).

5.5 ESTUDO DO POLIMORFISMO rs2106809 NA REGIÃO INTRÔNICA DO *ACE2*

Na região intrônica do gene *ACE2*, o polimorfismo rs2106809 foi avaliado em 289 diferentes amostras, em que o alelo selvagem *G* apresentou uma frequência de 79%. A distribuição genotípica *TT* (62,28%), *TC* (32,87%) e *CC* (4,84%) estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0,59$). Não houve diferenças significativas na

distribuição de genótipos e alelos em relação a gravidade da COVID-19, associação com pré-eclâmpsia, diferença na gravidade da gestação pela COVID-19 e pré-eclâmpsia ou a influência do vírus na gravidade da PE (tabela 3).

A frequência do alelo C mutante foi encontrada em 21% das amostras analisadas. O estudo conduzido por Mohammadi-Berenjestanaki e colaboradores em 142 pacientes iranianos mostrou a frequência de 39,2% do alelo mutante no grupo das mulheres. Embora a frequência do alelo selvagem tenha sido maior nas pacientes que apresentaram a forma grave da doença, não houve associação estatística significativa ($p = 0,22$), assim como no nosso estudo. Por outro lado, três estudos associaram o alelo T a um risco de hipertensão nas populações chinesas e indianas (Fan *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2016; Patnaik *et al.*, 2013).

No que diz respeito à função polimorfismo rs2106809, que potencialmente favorece o processo de splicing alternativo, possivelmente gerando isoformas do receptor, poderia afetar a ligação com a proteína spike do SARS-CoV-2 e conseqüentemente, trazer diferenças quanto à infectividade do vírus e a gravidade da COVID-19. Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas em relação às variáveis analisadas no estudo envolvendo mulheres grávidas pernambucanas (tabela 3). Nossa conclusão se assemelha ao estudo de Karakaş *et al.*, 2021, no qual o SNP em questão não demonstrou associação com a gravidade da infecção por COVID-19. Em contrapartida, os achados do estudo de Molina *et al.*, 2022 indicam que o polimorfismo rs2106809 está associado a um aumento no risco de hospitalização. Vale ressaltar que nenhum dos estudos avaliam o impacto do polimorfismo na gravidez, além de serem realizados com grupos populacionais distintos.

Tabela 1 - Frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs2285666 de acordo com as características das pacientes

Características das pacientes	ACE2 (rs2285666)											
	GG		GA		AA		P	G		A		P
	N = 168	%	N = 108	%	N = 22	%		N = 444	%	N = 152	%	
Associação com a gravidade da COVID-19												
COVID-19 +48h de internação	73	43.5	52	48.1	6	27.3	0.1946	198	44.6	64	42.1	0.6363
Ambulatório (IgG+)	95	56.5	56	51.9	16	72.7		246	55.4	88	57.9	
Total	168	100	108	100	22	100		444	100	152	100	
Associação com a Pré-Eclâmpsia (PE)												
PE (IgA-)	62	39.5	40	41.7	7	30.4	0.6128	164	40.0	54	38.0	0.6917
Ambulatório (IgG+)	95	60.5	56	58.3	16	69.6		246	60.0	88	62.0	
Total	157	100	96	100	23	100		410	100	142	100	
Diferença entre gravidade na gestação pela PE e pela COVID-19												
PE (IgA-)	62	55.9	40	54.1	7	58.3	0.9489	164	55.4	54	55.1	1.0000
COVID-19 +48h de internação (s/ PE)	49	44.1	34	45.9	5	41.7		132	44.6	44	44.9	
Total	111	100	74	100	12	100		296	100	98	100	
Influência do SARS-CoV-2 na gravidade da PE												
COVID-19 + PE	29	31.9	22	35.5	1	12.5	n/a	80	32.8	24	30.8	0.7823
PE (IgA-)	62	68.1	40	64.5	7	87.5		164	67.2	54	69.2	
Total	91	100	62	100	8	100		244	100	78	100	

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: N = número amostral; P = p valor; G = alelo selvagem; A = alelo variante.

Tabela 2 - Frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs1978124 de acordo com as características das pacientes

Características das pacientes	ACE2 (rs1978124)											
	GG		GA		AA		P	G		A		P
	N = 148	%	N = 116	%	N = 24	%		N = 409	%	N = 164	%	
Associação com a gravidade da COVID-19												
COVID-19 +48h de internação	61	42.1	47	40.5	10	41.7	0.9682	169	41.6	67	40.9	0.9252
Ambulatório (IgG+)	84	57.9	69	59.5	14	58.3		237	58.4	97	59.1	
Total	145	100	116	100	24	100		406	100	164	100	
Associação com a PE												
PE (IgA-)	64	43.2	44	38.9	8	36.4	0.7040	172	42.1	60	38.2	0.4454
Ambulatório (IgG+)	84	56.8	69	61.1	14	63.6		237	57.9	97	61.8	
Total	148	100	113	100	22	100		409	100	157	100	
Diferença entre gravidade na gestação pela PE e pela COVID-19												
PE (IgA-)	64	58.7	44	55.0	8	57.1	0.8781	172	57.7	60	55.6	0.7340
COVID-19 +48h de internação (s/ PE)	45	41.3	36	45.0	6	42.9		126	42.3	48	44.4	
Total	109	100	80	100	14	100		298	100	108	100	
Influência do SARS-CoV-2 na gravidade da PE												
COVID-19 + PE	22	25.6	18	29.0	5	38.5	0.6099	62	26.5	28	31.8	0.4032
PE (IgA-)	64	74.4	44	71.0	8	61.5		172	73.5	60	68.2	
Total	86	100	62	100	13	100		234	100	88	100	

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: N = número amostral; P = p valor; G = alelo selvagem; A = alelo variante.

Tabela 3 - Frequências genotípicas e alélicas de acordo com as características das pacientes do polimorfismo rs2106809

Características das pacientes	ACE2 (rs2106809)											
	TT		TC		CC		P	T		C		P
	N = 180	%	N = 95	%	N = 14	%		N = 453	%	N = 123	%	
Associação com a gravidade da COVID-19												
COVID-19 +48h de internação	75	41.7	41	44.1	3	25.0	0.4508	191	42.2	47	40.2	0.7527
Ambulatório (IgG+)	105	58.3	52	55.9	9	75.0		262	57.8	70	59.8	
Total	180	100	93	100	12	100		453	100	117	100	
Associação com a PE												
PE (IgA-)	68	39.3	43	45.3	5	35.7	0.5835	179	40.6	53	43.1	0.6787
Ambulatório (IgG+)	105	60.7	52	54.7	9	64.3		262	59.4	70	56.9	
Total	173	100	95	100	14	100		441	100	123	100	
Diferença entre gravidade na gestação pela PE e pela COVID-19												
PE (IgA-)	68	55.7	43	58.9	5	62.5	0.8674	179	56.5	53	59.6	0.6295
COVID-19 +48h de internação (s/ PE)	54	44.3	30	41.1	3	37.5		138	43.5	36	40.4	
Total	122	100	73	100	8	100		317	100	89	100	
Influência do SARS-CoV-2 na gravidade da PE												
COVID-19 + PE	31	31.3	14	24.6	0	0	n/a	76	29.8	14	20.9	0.1700
PE (IgA-)	68	68.7	43	75.4	5	100		179	70.2	53	79.1	
Total	99	100	57	100	5	100		255	100	67	100	

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: N = número amostral; P = p valor; T = alelo selvagem; C = alelo variante.

5.6 ESTUDO DOS HAPLÓTIPOS DAS REGIÕES INTRÔNICAS DO GENE ACE2

Foram identificados a presença de seis possíveis haplótipos em 456 pacientes com os SNPs rs2285666, rs1978124 e rs2106809 (tabela 4). A distribuição das frequências haplotípicas foi de 11,96% para *AGC*; 5,82% para *AGT*; 33,81% para *GAT*; 3,18% para *GGC*; 45,12% para *GGT*; e 0,11% para *AAT*.

A análise dos haplótipos foi realizada para investigar se a combinação dos polimorfismos genéticos apresentava diferenças estatisticamente significativas, considerando a ausência de associação estatística quando os SNPs foram analisados individualmente. No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada entre esses haplótipos.

Tabela 4 - Distribuição dos haplótipos do gene *ACE2* (rs2285666, rs1978124, rs2106809) de acordo com as características das pacientes

Características das pacientes	Haplótipo (<i>ACE-2</i> rs2285666, rs1978124 e rs2106809)																	
	AGC		P	AGT		P	GAT		P	GGC		P	GGT		P	AAT		P
	N	%		N	%		N	%		N	%		N	%		N	%	
Associação com a gravidade da COVID-19																		
COVID-19 +48h de internação	20	10.5	0.3139	11	5.8	1.0000	60	31.4	0.4798	8	4.2	0.0601	92	48.2	0.3898	0	0.0	n/a
Ambulatório (IgG+)	36	13.8		16	6.2		91	35.0		3	1.2		114	43.8		0	0.0	
Associação com a PE																		
PE (IgA-)	28	15.4	0.6816	10	5.5	0.8395	56	30.8	0.3584	6	3.3	0.1704	81	44.5	0.9226	1	0.5	n/a
Ambulatório (IgG+)	36	13.8		16	6.2		91	35.0		3	1.2		114	43.8		0	0.0	
Diferença entre gravidade na gestação pela PE e pela COVID-19																		
PE (IgA-)	28	15.4	0.5177	10	5.5	1.0000	56	30.8	1.0000	6	3.3	0.5687	81	44.5	0.9094	1	0.5	n/a
COVID-19 +48h de internação (s/ PE)	17	12.5		8	5.9		42	30.9		7	5.1		62	45.6		0	0.0	
Influência do SARS-CoV-2 na gravidade da PE																		
COVID-19 + PE	3	6.5	0.1502	3	6.5	0.7288	17	37.0	0.4799	1	2.2	1.0000	22	47.8	0.7413	0	0.0	n/a
PE (IgA-)	28	15.4		10	5.5		56	30.8		6	3.3		81	44.5		1	0.5	

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: N = número amostral; P = p valor.

6 CONCLUSÃO

Em suma, os resultados apresentados neste trabalho não demonstram uma relação significativa dos polimorfismos rs2285666, rs1978124 e rs2106809 na alteração ou gravidade da COVID-19 e pré-eclâmpsia em mulheres grávidas de Pernambuco. Não foi encontrada associação entre os polimorfismos e a susceptibilidade à gravidade da COVID-19 e da pré-eclâmpsia em comparação ao grupo controle. Além disso, não foi observada influência na gravidade da gestação entre pacientes com COVID-19 e pré-eclâmpsia, como também não foi identificada influência da infecção pelo SARS-CoV-2 na gravidade da pré-eclâmpsia. Entretanto, é importante ressaltar que diversos fatores podem influenciar na expressão fenotípica de um genótipo. Por isso, é importante analisar a expressão gênica do ACE2, por PCR em tempo real, analisar a expressão do receptor nas placentas destas pacientes a partir da imunohistoquímica, como também verificar a possibilidade de um desequilíbrio de ligação entre os SNPs estudados para a confirmação das associações evidenciadas.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, T. et al. COVID-19: Zoonotic aspects. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 36, p. 101607, jul. 2020.
- AKRE, S. et al. Eclampsia and Its Treatment Modalities: A Review Article. **Cureus**, v. 14, n. 9, p. e29080, [s.d.].
- ALBERCA, R. W. et al. Pregnancy, Viral Infection, and COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1672, 7 jul. 2020.
- ALEKSOVA, A. et al. Effects of SARS-CoV-2 on Cardiovascular System: The Dual Role of Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) as the Virus Receptor and Homeostasis Regulator-Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4526, 26 abr. 2021.
- ALVES, C. et al. O papel do complexo principal de histocompatibilidade na fisiologia da gravidez e na patogênese de complicações obstétricas. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 7, n. 4, p. 357–363, dez. 2007.
- ASHRAF, U. M. et al. SARS-CoV-2, ACE2 expression, and systemic organ invasion. **Physiological Genomics**, v. 53, n. 2, p. 51–60, 1 fev. 2021.
- BAKSHANDEH, B. et al. Variants in ACE2; potential influences on virus infection and COVID-19 severity. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 90, p. 104773, jun. 2021.
- BOSSO, M. et al. The Two Faces of ACE2: The Role of ACE2 Receptor and Its Polymorphisms in Hypertension and COVID-19. **Molecular Therapy - Methods & Clinical Development**, v. 18, p. 321–327, set. 2020.
- CARPENTER, R. M. et al. Repressed Ang 1–7 in COVID-19 Is Inversely Associated with Inflammation and Coagulation. **mSphere**, v. 7, n. 4, p. e00220-22, [s.d.].
- CANTÓN, R. et al. New variants of SARS-CoV-2. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 34, n. 5, p. 419–428, 25 out. 2021.
- CHAIWORAPONGSA, T. et al. Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. **Nature reviews. Nephrology**, v. 10, n. 9, p. 531–540, set. 2014.

CHEN, Y.; LIU, Q.; GUO, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 4, p. 418–423, abr. 2020.

CHUNG, J. Y.; THONE, M. N.; KWON, Y. J. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 170, p. 1–25, mar. 2021.

CONDE-AGUDELO, A.; ROMERO, R. SARS-CoV-2 infection during pregnancy and risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 226, n. 1, p. 68- 89.e3, jan. 2022.

CORONAVÍRUS BRASIL. **Painel Coronavírus**. Disponível em: <<https://covid.saude.gov.br/>>. Acesso em: 29 nov. 2023.

CRUZ, N. et al. Role of ACE2 in pregnancy and potential implications for COVID-19 susceptibility. **Clinical Science**, v. 135, n. 15, p. 1805–1824, 13 ago. 2021.

CUI, L. et al. The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. **Journal of Virology**, v. 89, n. 17, p. 9029–9043, set. 2015.

DASHRAATH, P. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 222, n. 6, p. 521–531, jun. 2020.

DE OLIVEIRA, B. R. B. et al. Determinants of access to the SARS-CoV-2 vaccine: a preliminary approach. **International Journal for Equity in Health**, v. 20, p. 183, 14 ago. 2021.

DEVAUX, C. A.; ROLAIN, J.-M.; RAOULT, D. ACE2 receptor polymorphism: Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 3, p. 425–435, 1 jun. 2020.

DILEEP, A.; ZAINALABDIN, S.; ABURUZ, S. Investigating the association between severity of COVID-19 infection during pregnancy and neonatal outcomes. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 3024, 22 fev. 2022.

DIMITRIADIS, E. et al. Pré-eclâmpsia. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 9, n. 1, p. 1–22, 16 fev. 2023.

DUBEY, P. et al. Maternal and neonatal characteristics and outcomes among COVID-19 infected women: An updated systematic review and meta-analysis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 252, p. 490–501, set. 2020.

FAN, X. et al. Polymorphisms of ACE2 Gene are Associated With Essential Hypertension and Antihypertensive Effects of Captopril in Women. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 82, n. 2, p. 187–196, ago. 2007.

FERRER-OLIVERAS, R. et al. Immunological and physiopathological approach of COVID-19 in pregnancy. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 304, n. 1, p. 39–57, jul. 2021.

GIARDINI, V. et al. Can Similarities between the Pathogenesis of Preeclampsia and COVID-19 Increase the Understanding of COVID-19? **International Journal of Translational Medicine**, v. 2, n. 2, p. 186–197, 6 maio 2022.

GOLDMAN-WOHL, D. S. Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with pre-eclampsia. **Molecular Human Reproduction**, v. 6, n. 1, p. 88–95, 1 jan. 2000.

HUSSAIN, T. et al. Understanding the Immune System in Fetal Protection and Maternal Infections during Pregnancy. **Journal of Immunology Research**, v. 2022, p. 1–12, 24 jun. 2022.

Johns Hopkins University. **Mapa do COVID-19**. Disponível em: <<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>>. Acesso em: 29 nov. 2023.

KARAÇAM, Z. et al. Maternal and perinatal outcomes of pregnancy associated with COVID-19: Systematic review and meta-analysis. **European Journal of Midwifery**, v. 6, n. July, p. 1–22, 6 jul. 2022.

KARASEK, D. et al. The association of COVID-19 infection in pregnancy with preterm birth: A retrospective cohort study in California. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 2, p. 100027, out. 2021.

LAI, J. et al. SARS-CoV-2 and the subsequent development of preeclampsia and preterm birth: evidence of a dose-response relationship supporting causality. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 225, n. 6, p. 689- 693.e1, dez. 2021.

LEE, J. et al. TMPRSS2 and RNA-Dependent RNA Polymerase Are Effective Targets of Therapeutic Intervention for Treatment of COVID-19 Caused by SARS-CoV-2 Variants (B.1.1.7 and B.1.351). **Microbiology Spectrum**, v. 9, n. 1, p. e00472-21, 3 set. 2021.

LI, M. et al. COVID-19 vaccine development: milestones, lessons and prospects. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 146, 3 maio 2022.

LIU, D. et al. Association between circulating levels of ACE2-Ang-(1–7)-MAS axis and ACE2 gene polymorphisms in hypertensive patients. **Medicine**, v. 95, n. 24, p. e3876, jun. 2016.

LURIE, N. et al. Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 21, p. 1969–1973, 21 maio 2020.

MARCHAND, G. et al. Systematic review and meta-analysis of COVID-19 maternal and neonatal clinical features and pregnancy outcomes up to June 3, 2021. **AJOG Global Reports**, v. 2, n. 1, p. 100049, fev. 2022.

MARQUITTI, F. M. D. et al. Brazil in the face of new SARS-CoV-2 variants: emergencies and challenges in public health. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 24, p. e210022, 2021.

MCCALLUM, M. et al. SARS-CoV-2 immune evasion by the B.1.427/B.1.429 variant of concern. **Science**, v. 373, n. 6555, p. 648–654, 6 ago. 2021.

MENDOZA, M. et al. Pre-eclampsia-like syndrome induced by severe COVID-19: a prospective observational study. **Bjog**, v. 127, n. 11, p. 1374–1380, out. 2020.

MIHU, D. et al. HELLP Syndrome – a Multisystemic Disorder. **Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases**, v. 16, n. 4, p. 419–424, 1 dez. 2007.

MOLINA, M. et al. Polymorphisms in ACE, ACE2, AGTR1 genes and severity of COVID-19 disease. **PLOS ONE**, v. 17, n. 2, p. e0263140, 4 fev. 2022.

MOORE, Keith L. Primeira Semana de Desenvolvimento. In: MOORE, Keith L. **Embriologia Básica**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.21-27.

MOR, G. et al. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1221, n. 1, p. 80–87, mar. 2011.

NARANG, K. et al. SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 During Pregnancy: A Multidisciplinary Review. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 95, n. 8, p. 1750–1765, ago. 2020.

NASCIMENTO, F. S. et al. Saúde, Home Office e Trabalho Docente: Construção Compartilhada de Estratégias de Sobrevivência em Tempos de Pandemia. **REVISTA DO NUFEN: PHENOMENOLOGY AND INTERDISCIPLINARITY**, v. 13, n. 2, 10 ago. 2021.

ODUIT, G. Y.; PFEFFER, M. A. Plasma angiotensin-converting enzyme 2: novel biomarker in heart failure with implications for COVID-19. **European Heart Journal**, v. 41, n. 19, p. 1818–1820, 14 maio 2020.

OUR WORLD IN DATA. **Coronavirus (COVID-19) Deaths**. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/covid-deaths>>. Acesso em: 29 nov. 2023.

PAN, Y. et al. Association of ACE2 polymorphisms with susceptibility to essential hypertension and dyslipidemia in Xinjiang, China. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 241, dez. 2018.

PATNAIK, M. et al. Association of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-converting enzyme-2 gene polymorphisms with essential hypertension in the population of Odisha, India. **Annals of Human Biology**, v. 41, n. 2, p. 145–152, mar. 2014.

PEREIRA, O. A.; WENDT, G. W. Manifestações clínicas e laboratoriais do novo coronavírus (COVID-19) em gestantes e análise do possível risco de transmissão vertical intrauterina: uma revisão sistemática. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 6, p. 601–608, 20 dez. 2020.

Perguntas frequentes: vacinas contra a COVID-19 - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/vacinas-contracovid-19/perguntas-frequentes-vacinas-contracovid-19>>. Acesso em: 26 nov. 2023.

PRABHUDAS, M. et al. Immune mechanisms at the maternal-fetal interface: perspectives and challenges. **Nature Immunology**, v. 16, n. 4, p. 328–334, abr. 2015.

RACICOT, K. et al. Understanding the Complexity of the Immune System during Pregnancy. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 72, n. 2, p. 107–116, ago. 2014.

RAGIA, G.; MANOLOPOULOS, V. G. Assessing COVID-19 susceptibility through analysis of the genetic and epigenetic diversity of ACE2-mediated SARS-CoV-2 entry. **Pharmacogenomics**, v. 21, n. 18, p. 1311–1329, dez. 2020.

RANDO, H. M. et al. Pathogenesis, Symptomatology, and Transmission of SARS-CoV-2 through Analysis of Viral Genomics and Structure. **mSystems**, v. 6, n. 5, p. e00095-21, 26 out. 2021.

RANGCHAIKUL, P.; VENKETARAMAN, V. SARS-CoV-2 and the Immune Response in Pregnancy with Delta Variant Considerations. **Infectious Disease Reports**, v. 13, n. 4, p. 993–1008, 30 nov. 2021.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **Journal of Autoimmunity**, v. 109, p. 102433, maio 2020.

SAYAD, B. et al. Pregnancy, Preeclampsia, and COVID-19: Susceptibility and Mechanisms: A Review Study. **International Journal of Fertility and Sterility**, v. 16, n. 2, abr. 2022.

SHEREEN, M. A. et al. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **Journal of Advanced Research**, v. 24, p. 91–98, jul. 2020.

SIBAI, B.; DEKKER, G.; KUPFERMINEC, M. Pré-eclâmpsia. **The Lancet**, v. 365, n. 9461, p. 785–799, fev. 2005.

SILVA, C. A. et al. IMUNOPATOGÊNESE NO DESENVOLVIMENTO DA COVID-19. **REVISTA SAÚDE & CIÊNCIA**, v. 10, n. 1, p. 85–102, 16 set. 2021.

SILVA, M. C. D. et al. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 in Brazilian pregnant women vaccinated with one or two doses of BNT162b2 mRNA vaccine (Pfizer/Wyeth™). **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 1054460, 4 jan. 2023.

SIU, Y. L. et al. The M, E, and N Structural Proteins of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Are Required for Efficient Assembly, Trafficking, and Release

of Virus-Like Particles. **Journal of Virology**, v. 82, n. 22, p. 11318–11330, 15 nov. 2008.

SOUZA, H. C. C. D. et al. COVID-19 e gestação: manifestações clínicas, alterações laboratoriais e desfechos maternos, uma revisão sistemática de literatura/COVID-19 and pregnancy: clinical manifestations, laboratorial alterations and maternal endpoints, a systematic review of the literature. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 6, p. 15901–15918, 2020.

SOWMYA, S. et al. Role of IL-6 -174(G/C) promoter polymorphism in the etiology of early-onset preeclampsia. **Inflammation Research**, v. 64, n. 6, p. 433–439, 1 jun. 2015.

SU, S.; DU, L.; JIANG, S. Learning from the past: development of safe and effective COVID-19 vaccines. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 211–219, mar. 2021.

TODROS, T.; MASTURZO, B.; DE FRANCIA, S. COVID-19 infection: ACE2, pregnancy and preeclampsia. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 253, p. 330, out. 2020.

TURCI, M. A.; HOLLIDAY, J. B.; DE OLIVEIRA, N. C. V. C. A Vigilância Epidemiológica diante do Sars-Cov-2: desafios para o SUS e a Atenção Primária à Saúde. **APS EM REVISTA**, v. 2, n. 1, p. 44–55, 15 abr. 2020.

VERMA, S. et al. SARS-CoV-2 colonization of maternal and fetal cells of the human placenta promotes alteration of local renin-angiotensin system. **Med**, v. 2, n. 5, p. 575- 590.e5, maio 2021.

WASTNEDGE, E. A. N. et al. Pregnancy and COVID-19. **Physiological Reviews**, v. 101, n. 1, p. 303–318, 1 jan. 2021.

WENG, J.; COUTURE, C.; GIRARD, S. Innate and Adaptive Immune Systems in Physiological and Pathological Pregnancy. **Biology**, v. 12, n. 3, p. 402, 3 mar. 2023.

WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>>. Acesso em: 26 nov. 2023.

WIERSINGA, W. J. et al. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. **JAMA**, v. 324, n. 8, p. 782–793, 25 ago. 2020.

WILDER-SMITH, A.; FREEDMAN, D. O. Isolation, quarantine, social distancing and community containment: pivotal role for old-style public health measures in the novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak. **Journal of Travel Medicine**, v. 27, n. 2, p. 020, 13 mar. 2020.

WU, A. et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. **Cell Host & Microbe**, v. 27, n. 3, p. 325–328, mar. 2020.

YAN, R. et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. **Science**, v. 367, n. 6485, p. 1444–1448, 27 mar. 2020.

YANG, L. et al. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, p. 255, 7 jul. 2021.

YIE, S. -M. et al. A single base-pair mutation in the 3'-untranslated region of HLA-G mRNA is associated with pre-eclampsia. **Molecular Human Reproduction**, v. 14, n. 11, p. 649–653, 14 out. 2008.

YOCKEY, L. J.; IWASAKI, A. Interferons and Proinflammatory Cytokines in Pregnancy and Fetal Development. **Immunity**, v. 49, n. 3, p. 397–412, set. 2018.

ZHANG, C. et al. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 5, p. 105954, maio 2020.

ZHENG, L. et al. Digestive system infection by SARS-CoV-2: Entry mechanism, clinical symptoms and expression of major receptors (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 51, n. 3, p. 19, 20 jan. 2023.

ZHOU, M.; ZHANG, X.; QU, J. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a clinical update. **Frontiers of Medicine**, v. 14, n. 2, p. 126–135, abr. 2020.

ZIZZO, G. et al. Immunotherapy of COVID-19: Inside and Beyond IL-6 Signalling. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 795315, 22 fev. 2022.

ANEXOS

ANEXO A

**PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - HOSPITAL DAS CLÍNICAS
(HC)**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Contribuição de moléculas/genes de histocompatibilidade, receptores, citocinas e fatores pós-transcricionais na patogênese e evolução da infecção por Coronavírus (SARS-CoV-2) em gestantes e recém-nascidos.

Pesquisador: Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 32359320.3.3002.8807

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.457.517

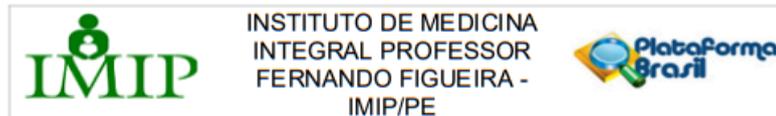
Apresentação do Projeto:

Projeto de Centro Coparticipante para o enfrentamento da COVID 19 entre as Instituições Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) e Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) a ser desenvolvido pela mestranda Camila Rodrigues de Melo Barbosa, Programa de Biotecnologia e Biotecnologia em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz/Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/CPqAM) sob orientação da Profa Dra Norma Lucena Cavalcante Licínio da Silva. Será realizado um estudo de coorte com gestantes com síndrome gripal atendidas nas duas instituições participantes da pesquisa (IMIP e HC/UFPE), em Recife, além de homens e mulheres não gestantes atendidas no município de Vitória de Santo Antão. A amostra será consecutiva de conveniência. Por se tratar de estudo de uma doença nova, serão incluídas todas as gestantes maiores de 18 anos com síndrome gripal que comparecerem na maternidade do IMIP e Hospital das Clínicas durante o período estabelecido para captação do estudo, 1º semestre de 2021 ou enquanto dure a epidemia e que aceitem participar da pesquisa mediante assinatura de TCLE. O grupo controle para o estudo da resposta imunológica contra o coronavírus será composto por mulheres não gestantes e homens, ambos com mais de 18 anos e suspeita de COVID-19, sendo as amostras provenientes da parceria com a Vigilância Epidemiológica da Prefeitura da Cidade de Vitória de Santo Antão e do Centro Acadêmico de Vitória/UFPE. Os dados socioepidemiológicos serão coletados através de entrevista

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)			
Bairro: Cidade Universitária	CEP: 50.670-901		
UF: PE	Município: RECIFE		
Telefone: (81)2126-3743	E-mail: oephcupe@gmail.com		

ANEXO B

**PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - INSTITUTO DE MEDICINA
INTEGRAL PROFESSOR FERNANDO FIGUEIRA (IMIP/PE)**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Contribuição de moléculas/genes de histocompatibilidade, receptores, citocinas e fatores pós-transcricionais na patogênese e evolução da infecção por Coronavírus (SARS-CoV-2) em gestantes e recém-nascidos.

Pesquisador: Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 32359320.3.3001.5201

Instituição Proponente: Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira - IMIP/PE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.370.193

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas dos arquivos: Informações Básicas da Plataforma Brasil (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1629539.pdf, de 16/10/2020) e/ou do Projeto Detalhado (projetoCompletoCovid19imip.pdf, de 05/10/2020).

1. INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, em Wuhan, China, os primeiros casos de pacientes acometidos por uma síndrome respiratória aguda grave (SRAG) foram relatados, e em janeiro/2020 foi identificado, a partir da amostra de esfregaço da nasofaringe de um paciente, um novo coronavírus denominado pela OMS de Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) (BOGOCH, 2020). O primeiro epicentro da pandemia fora da China foi a Itália, que teve o primeiro caso da doença relatado em 31/01/2020 e logo depois foi declarado pela OMS a situação de pandemia (LAI, 2020; POON, 2020).

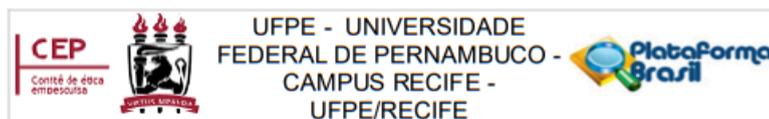
Até o dia 21 de abril, foram mais de 2,7 milhões de casos confirmados em todo o mundo, atingindo 210 países, com mais de 170 mil mortes (WORLDMETER, 2020). No Brasil, a primeira morte foi confirmada pela doença aconteceu em 17 de março, e em 21/04 já havia sido notificado mais de 40 mil casos com 2.575 mortes(BRASIL, 2020).

Pernambuco tem 2.690 casos com 234 mortes e conta com 319 leitos de UTI estando atualmente

Endereço: Rua dos Coelhos, 300	CEP: 50.070-902
Bairro: Boa Vista	
UF: PE	Município: RECIFE
Telefone: (81) 2122-4756	Fax: (81) 2122-4782
	E-mail: comitedeetica@imip.org.br

ANEXO C

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Contribuição de moléculas/genes de histocompatibilidade, receptores, citocinas e fatores pós-transcricionais na patogênese e evolução da infecção por Coronavírus (SARS-CoV-2) em gestantes e recém-nascidos.

Pesquisador: Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 32359320.3.0000.5208

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.270.369

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa para o enfrentamento da pandemia COVID-19. Será um estudo observacional, prospectivo, tipo caso-controle, a ser desenvolvido no Hospital das Clínicas e IMIP, em parceria com o laboratório Aggeu Magalhães e Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão (CAV) UFPE, com tamanho amostral de 200 participantes, no segundo semestre de 2020.

Hipótese: A interação de moléculas solúveis na gestante está diretamente relacionada ao seu perfil de resposta imunológica contra o SARS-COV-2.

Metodologia Proposta:

A amostra será consecutiva de conveniência. Por se tratar de estudo de uma doença nova, serão incluídas todas as gestantes maiores de 18 anos com síndrome gripal que comparecerem na maternidade do IMIP e Hospital das Clínicas, durante o período estabelecido para captação do estudo ou enquanto durar a epidemia e que aceitem participar da pesquisa mediante assinatura de TCLE.

O grupo controle para o estudo da resposta imunológica contra o coronavírus será composto por mulheres não gestantes e homens, ambos com suspeita da COVID-19, sendo as amostras provenientes da parceria com a Vig. Epidemiológica da Cidade de Vitória de Santo Antão e do Centro Acadêmico de Vitória/UFPE. As técnicas de diagnóstico de RT-PCR e real time - RT PCR (qRT-PCR) serão implementadas por meio do swab orofaríngeo, além de coletas de sangue e urina.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81) 2126-8588 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br