



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

MELAYNE ROCHA ACIOLE

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE sTNFR1 E sTNFR2 EM PACIENTES
COM COVID-19

Recife
2022

MELAYNE ROCHA ACIOLE

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE sTNFR1 E sTNFR2 EM PACIENTES
COM COVID-19**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestra em Medicina Tropical.

Área de concentração: Medicina Tropical

Orientadora: Dr^a. Virgínia Maria Barros de Lorena

Coorientadora: Dr^a. Juliana Prado Gonçalves

Recife

2022

Catálogo na fonte:
Elaine Freitas, CRB4:1790

A191a Aciole, Melayne Rocha
 Avaliação dos níveis séricos de sTNFR1 e sTNFR2 em pacientes
 com COVID-19 / Melayne Rocha Aciole . – 2021.
 72 p. ; il.

 Orientadora: Virgínia Maria Barros de Lorena.
 Coorientadora: Juliana Prado Gonçalves.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
 Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Medicina
 Tropical. Recife, 2021.
 Inclui referências e anexo.

 1. COVID-19. 2. Receptores. 3. sTNFR1. 4. sTNFR2. 5. TNF 6.
 Biomarcadores. I. Lorena, Virgínia Maria Barros de (orientadora). II.
 Gonçalves, Juliana Prado (coorientadora). III. Título.

616.9792 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2022 - 110)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)

CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS (CCM)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

MELAYNE ROCHA ACIOLE

**AValiação DOS NÍVEIS SÉRICOS DE sTNFR1 e sTNFR2 EM PACIENTES COM
COVID-19**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Medicina Tropical.

Aprovado em: 25/02/2022.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Paulo Sérgio Ramos de Araújo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Heytor Victor Pereira da Costa Neco (Examinador Externo)
Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU)

Dedico a todos as vidas que se foram decorrentes da pandemia do SARS-CoV-2, aos pacientes que participaram do estudo, aos profissionais de saúde, e os pesquisadores que lutam e lutaram para ampliar o nosso conhecimento desta nova doença em momento tão caótico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Marcia e Marcos, e ao meu irmão, Márlon. Minha base! Palavras não conseguem descrever o quanto sou grata por vocês serem a minha família. Obrigada por sempre acreditarem em mim e me incentivarem do começo ao fim, por todo amor, carinho e compreensão. Amo vocês. Agradeço também a todos da família Rocha e da família Martins. E também aos meus pets: Dudu, Valentina, Melissa, Piu e Branca.

Ao meu companheiro, Túlio, meu maior incentivado da carreira acadêmica. Desde o início ao meu lado, enfrentando comigo cada degrau conquistado! Sempre me colocando para cima e lembrando-me o quanto sou sensacional naquilo que me proponho a fazer. Obrigada pelos conselhos, pelos puxões de orelha, pelo carinho, pela amizade e pelo amor, você é meu porto seguro.

À minha orientadora, Virginia Lorena, uma mulher, mãe, amiga, professora/pesquisadora maravilhosa! Que me aceitou de braços abertos nessa jornada. Sou muito grata por todos os conselhos, orientações, momentos de risadas e de troca de conhecimentos. Obrigada por tudo, você é luz! Conte comigo para sempre. Agradeço também a minha coorientadora, Juliana Prado, Juh, mais que coorientadora, minha grande amiga, sempre paciente e disposta a acolher e ensinar, obrigada pela amizade, ensinamentos e companheirismo, o que a vida científica uniu, ninguém separa! A Vi e a Juh, trilhar o caminho da pós-graduação não é fácil, mas com vocês ao meu lado tudo ficou mais simples. Vocês me inspiram, muito obrigada!

Agradeço a todos que fizeram parte da realização e execução deste projeto, em especial aos pacientes e familiares, que mesmo enfrentando um momento difícil, de incertezas e perdas, aceitaram participar da pesquisa e contribuir com ciência, um muito obrigado! E também aos funcionários do HC/UFPE, em especial, a Patrícia Neves, companheira no projeto e da pós, amizade que veio para agregar tanto ensinamentos; como sorrisos, obrigada pelos momentos de leveza no meio da correria que foram nossas coletas. E a Marta Oliveira, médica maravilhosa, que também fez parte dessa caminhada.

Um agradecimento mais que especial as minhas melhores amigas: Clara, Polly e Lara. Vocês são tudo para mim, mesmo cada uma seguindo seu caminho, nunca largamos a mão nenhuma, sempre compartilhando momentos de felicidades,

de estress, de tristeza, de compreensão, de carinho e de amizade. Vocês são sensacionais e morro de orgulho de cada uma, obrigada pela amizade, amo vocês! Quero também agradecer aos outros amigos que ofereceram suporte nos diferentes momentos ao longo da jornada.

Agradeço aos docentes, discentes e a todos colaboradores do programa de pós-graduação em Medicina Tropical da UFPE.

À FIOCRUZ pela infraestrutura laboratorial e em especial ao laboratório de Imunoparasitologia e seus colaboradores e à CAPES pelo apoio financeiro.

Obrigada a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, direta ou indiretamente. Minha entrada na pós-graduação foi num momento atípico, de pandemia e para trabalhar com COVID-19. Não foi fácil e ainda é uma dura realidade; correr atrás de informações, vê as diversas perdas e acompanhar a negligência do nosso governo com a vida, a saúde e a ciência. Mas, mesmo assim a ciência não para e não pode parar. Fazer ciência não é simples e muito menos fácil, mas há certeza de que nunca estou sozinha neste caminhar. GRATIDÃO!

“Aqueles que não conseguem se lembrar
do passado estão condenados a repeti-lo”
(SANTAYANA, 2011, p. 172)

RESUMO

A COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, teve seu início no final do ano de 2019 e segue sendo um grande desafio para saúde pública global, afetando mais de 414 milhões de pessoas e acarretando a morte de mais de 5 milhões de pessoas ao redor do mundo. A infecção pelo coronavírus provoca uma importante resposta inflamatória que influencia na progressão da doença, dentro deste perfil, encontramos o TNF, que consiste na citocina pró-inflamatória mais polivalente do sistema imune, essencial para a defesa do hospedeiro contra infecções e para a regulação da sobrevivência celular. Os receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) são considerados possíveis antagonistas naturais do TNF e encontram-se elevados em muitas condições inflamatórias e crônicas, mas há relatos também do papel agonista desses receptores na estabilidade e disponibilidade do TNF. O objetivo do presente estudo foi verificar os níveis séricos dos receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) em pacientes com COVID-19. Neste estudo, foram incluídos 131 pacientes com diagnóstico confirmado para o SARS-CoV-2, sendo separados em três grupos: pacientes em enfermaria sem necessidade de suporte de O₂, grupo A (14); pacientes em enfermaria com necessidade de suporte de O₂, grupo B (85), e pacientes em unidade de terapia intensiva (UTI), grupo C (32), os receptores foram dosados por *Citometric Beads Array* (CBA). Os resultados demonstraram que os sTNFR1 e sTNFR2, se elevam de forma diretamente proporcional a gravidade da doença, podendo ser um possível grupo de biomarcadores de progressão da doença. Ao avaliar os níveis dos receptores com o grau de acometimento pulmonar, encontramos que nos pacientes apresentando menor grau de acometimento, há maiores níveis de sTNFR1, sugerindo que os processos inflamatórios referentes ao TNF não estejam necessariamente associados ao local primário de infecção, os pulmões, e sim a uma inflamação sistêmica, que pode afetar órgãos distais. Ao analisar o grupo de pacientes que foram a óbito em comparação com os recuperados, houve associação de aumento de ambos receptores no grupo de pacientes que foram a óbito. E também, identificamos uma correlação positiva, na avaliação dos receptores com os diferentes estágios clínicos da COVID-19 nos grupos B e C, indicando que o aumento de ambos os receptores, sTNFR1e sTNFR2, são diretamente proporcionais. Esses achados sugerem a que os sTNFR1e sTNFR2 estão

aumentados em condições graves da COVID-19 e eles podem ser utilizados como biomarcadores de gravidade e mortalidade da doença.

Palavras-chave: COVID-19; Receptores; sTNFR1; sTNFR2; TNF; Biomarcador.

ABSTRACT

COVID-19, caused by SARS-CoV-2, started at the end of 2019 and remains a major challenge for global public health, affecting more than 396 million people and causing a mortality of more than 5 million people around the world. The coronavirus infection has an important inflammatory response that influences the progression of the disease, within this profile, we find TNF, which consists of a more polyvalent pro-inflammatory cytokine of the immune system, essential for the defense of the host against infections and for the regulation of cell survival. Soluble TNF receptors (sTNFR1 and sTNFR2) are considered possible natural antagonists of TNF and are elevated in many inflammatory and chronic conditions, but there are also reports of the agonist role of these receptors in the stability and availability of TNF. The aim of the present study was to verify the serum levels of soluble TNF receptors (sTNFR1 and sTNFR2) in patients with COVID-19. In this study, 131 patients with a confirmed diagnosis of SARS-CoV-2 were included, divided into three groups: patients in the ward requiring O2 support, group B (85), and patients in the intensive care unit (ICU), group C (32), the receptors were dosed by cytometric beads array (CBA). The results showed that sTNFR1 and sTNFR2, increase directly proportionally to the severity of the disease, which may be a possible group of biomarkers of disease progression. When evaluating the levels of receptors with the degree of pulmonary involvement, we found that in patients with a lower degree of involvement, higher levels of sTNFR1, suggesting that inflammatory processes related to TNF are not necessarily associated with the primary site of infection, the lungs, and yes to systemic inflammation, which can affect distal organs. When analyzing the group of patients who died compared to those who recovered, there was an association of an increase in both receptors in the group of patients who died. Finally, we identified a positive correlation in the evaluation of receptors with the different clinical stages of COVID-19 in groups B and C, indicating that the increase in both receptors, sTNFR1 and sTNFR2, are directly proportional. These findings suggest that sTNFR1 and sTNFR2 are increased in severe COVID-19 conditions and they can be used as biomarkers of disease severity and mortality.

Keywords: COVID-19; receptor; sTNFR1; sTNFR2; TNF; biomarker.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de literatura

Figura 1 -	Ilustração da estrutura morfológica do SARS-CoV-2.....	19
Figura 2 -	Organização do genoma do SARV-CoV-2.....	20
Figura 3 -	Imagens de tomografia computadorizada do tórax.....	24
Figura 4 -	Processos de ligação do TNF e síntese de seus receptores.....	29
Figura 5 -	Vias de sinalização celular ativada por TNF.....	30
Figura 6 -	Breve visão da resposta imunológica após a infecção pelo coronavírus.....	34

Artigo

Figura 1-	Concentração dos receptores solúveis (sNTFR1 e sTNFR2) em soro de pacientes infectados por SARS-CoV-2.....	49
Figura 2-	Concentração do receptor solúvel (sNTFR1) em soro de pacientes infectados por SARS-CoV-2 relacionado com o grau de acometimento pulmonar.....	50

LISTA DE TABELAS

Metodologia

Tabela 1-	Caracterização dos pacientes.....	41
-----------	-----------------------------------	----

Artigo

Tabela 1-	Caracterização dos pacientes.....	47
Tabela 2-	Correlação entre a concentração séricas de sTNFR1/2 nos diferentes estágios clínicos COVID-19.....	51
Tabela 3-	Correlação entre a concentração séricas de sTNFR1/2 com o tempo de internamento dos pacientes com COVID-19.....	51
Tabela 4-	Correlação entre a concentração séricas de sTNFR1/2 com parâmetros laboratoriais dos pacientes com a COVID-19.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Enzima conversora da angiotensina 2, do inglês <i>angiotensin-converting enzyme 2</i>
CBA	<i>Citometric Beads Array</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
COVID-19	Doença coronavírus 19
CPK	Creatinofosfoquinase
DHL	Lactato desidrogenase
DIP	Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias
ESPII	Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FADD	Proteína associada a Fas com o domínio da morte, do inglês <i>Fas-Associated Protein With Death Domain</i>
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HC/UFPE	Hospital das Clínicas da Universidade de Federal de Pernambuco
IAM	Instituto Aggeu Magalhães
Ig	Imunoglobulina
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
mTNF	TNF- α Transmembrana, do inglês <i>Transmembrane TNF</i>
MERS-CoV	Síndrome respiratória do Oriente Médio coronavírus, do inglês <i>Middle East Respiratory Syndrome</i>
RBD	Domínio de ligação ao receptor
RNA	Ácido ribonucleico
NK	Célula Assassina Natural, do inglês <i>Natural-Killer</i>
PCR	Proteína C reativa
qRT-PCR	PCR em Tempo Real Quantitativa, do inglês <i>Real time quantitative PCR</i> .
SARS-CoV	Síndrome respiratória aguda grave coronavírus, do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
SARS-CoV-2	Síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2, do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SRAG	Síndrome respiratória aguda grave
sTNF	Fator de Necrose Tumoral solúvel, do inglês <i>Soluble Tumor Necrosis</i>

Factor

sTNFR	Receptor solúvel do fator de necrose tumoral, do inglês <i>Soluble Tumor Necrosis Factor Receptors</i>
TACE	Enzima Conversora de TNF Alfa, do inglês <i>TNF Alpha Converting Enzyme</i>
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de consentimento Livre e Esclarecido
Th1	Linfócito T auxiliar 1, do inglês <i>T helper 1</i>
Th2	Linfócito T auxiliar 2, do inglês <i>T helper 2</i>
Th17	Linfócito T auxiliar 17, do inglês <i>T helper 17</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral, do inglês <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNFR	Receptores do fator de necrose tumoral, do inglês <i>Tumor Necrosis Factor Receptors</i>
TRADD	Proteína do domínio de morte associada ao TNFR1, <i>TNFR1</i> , do inglês <i>Associated Death Domain Protein</i>
UTI	Unidade de terapia intensiva
WHO	Organização Mundial da Saúde, do inglês <i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	Características gerais do SARS-CoV-2	18
2.2	Epidemiologia.....	21
2.3	Aspectos clínicos da doença.....	23
2.4	Tratamento e prevenção.....	26
2.5	Fator de necrose tumoral (TNF) e receptores do fator de necrose tumoral (TNFRS).....	28
2.6	Receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2) de TNF e COVID-19.....	32
2.7	Aspectos imunológicos da doença	33
3	JUSTIFICATIVA.....	37
4	PERGUNTA CONDUTORA.....	38
5	OBJETIVOS.....	39
5.1	Objetivo geral	39
5.2	Objetivos específicos.....	39
6	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
6.1	População de estudo.....	40
6.2	Confirmação da infecção por SARS-CoV-2.....	41
6.3	Coleta de sangue.....	42
6.4	Quantificação de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) e em soro.....	42
6.5	Análise estatística.....	42
7	RESULTADOS.....	44
7.1	ARTIGO - Níveis de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) aumentam de acordo com agravamento na COVID-19.....	44
8	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61
	ANEXO A- PARECER DE APROVAÇÃO NO CEP.....	72

1 INTRODUÇÃO

A pandemia da COVID-19, ocasionada pelo vírus SARS-CoV-2, é uma ameaça à saúde pública global, até o momento não há fármacos capazes de conter a ação do vírus. Diversos estudos buscam elucidar os aspectos imunológicos da doença, uma vez que a gravidade pode estar associada a uma resposta exacerbada e descontrolada do próprio sistema imune (FELSENSTEIN et al., 2020; LUCAS et al., 2020; MATHEW et al., 2020). Portanto, buscar entender os mecanismos envolvidos na imunopatogênese desta doença segue sendo um dos objetivos da ciência.

Recentes investigações têm associado o evento da “tempestade de citocinas” à gravidade da doença, já que há um aumento dos níveis de diversas citocinas, especialmente as citocinas pró- inflamatórias, como o TNF (fator de necrose tumoral) (MANGALMURTI; HUNTER, 2020; PEDERSEN; HO, 2020; KIM et al., 2021). O TNF é uma das citocinas mais pleiotrópicas, sendo de grande importância na imunopatologia de diversas doenças, onde sua ativação se dá quando ligado aos seus receptores (TNFR1/2). A ativação do TNFR1 é relacionada principalmente à apoptose celular e a ativação do TNFR2 está relacionada à proliferação ou sobrevivência celular (CHU, 2013; SEDGER; MCDERMOTT, 2014). Sabe-se que há possível inibição no TNF quando ligado aos receptores solúveis sTNFR1 e sTNFR2, agindo como antagonistas naturais (VAN ZEE et al., 1992).

Com relação aos receptores solúveis sTNFR1 e sTNFR2, poucos e divergentes são os relatos na literatura de sua relação com a COVID-19. Há estudos que relatam um aumento dos níveis de sTNFR1 nos pacientes com COVID-19, principalmente em pacientes graves de UTI, quando comparados a pacientes controles, e pacientes com COVID-19 estáveis, surgem que o sTNFR1 pode ser um possível biomarcador de gravidade e mortalidade de doença (MC ELVANEY et al., 2020; MORTAZ, et al., 2021).

Por outro lado, estudo de Bhatraju et al., (2021), avaliou pacientes com COVID-19 em UTI, comparando com pacientes de UTI sem ser por SARS-CoV-2, e os níveis de sTNFR1 foram menores em pacientes com a COVID-19, e demonstrou que não houve associação do sTNFR1 com a mortalidade hospitalar. Outro estudo de Sinha et al., (2020) avaliou pacientes em SRAG por COVID-19 e comparou com

uma coorte já existente de pacientes em SRAG sem ser por COVID-19, encontraram valores menores de sTNFR1 em pacientes COVID-19 em SRAG.

Com relação a ambos os receptores solúveis, estudo de Palacios et al., (2021) avaliou os níveis dos receptores solúveis nos três grupos da COVID-19 (leve, moderado e grave), onde nos pacientes moderados e graves os níveis de sTNFR1 são maiores e para o nível de sTNFR2 foi maior em cada status de COVID-19. Estudo de Ferrando et al., (2022), avaliou os níveis de sTNFR 1 e 2 em associação com falência de órgãos e desfecho em pacientes críticos com COVID-19, e resultou que ambos os níveis de sTNFR 1 e 2 foram maiores em pacientes com COVID-19.

Até o momento, os estudos apresentam resultados discordantes, além disso, nenhum dos estudos trabalhou com a população do Brasil, onde é importante avaliar diferentes populações e localidades, pois o SARS-CoV-2 já possui diversas cepas circulantes com diferentes características genéticas.

Desse modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar os níveis séricos receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) entre os pacientes nos diferentes estágios clínicos (pacientes de enfermaria sem suporte de O₂, enfermaria com suporte de O₂ e UTI), e bem como relacionar os níveis dos receptores aos dados laboratoriais, dados de imagens, e aos desfechos clínicos e a possível utilização destes, como possíveis marcadores de prognóstico clínico da doença e elucidar o papel desses receptores solúveis de TNF na imunopatogênese da COVID-19.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais do SARS-CoV-2

A síndrome respiratória aguda grave causada pelo coronavírus 2 (SARS-CoV-2), agente etiológico da doença por coronavírus 19 (COVID-19), teve início em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, China, onde foi observado pela primeira vez em um grupo de pacientes com pneumonia de etiologia desconhecida. Após o sequenciamento no fluido do lavado broncoalveolar de pacientes infectados, uma nova espécie de coronavírus (CoV) foi descrita. Inicialmente, o vírus nomeado de novo coronavírus 2019 (2019-nCoV) e em seguida a Organização Mundial da Saúde (OMS) anunciou uma formação padrão para o nome, alterando para doença por coronavírus 2019 (COVID-19) (JIN et al., 2020; ROTHAN; BYRAREDDY, 2020; SUN et al., 2020; WHO, 2022)

Pertencente à ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, da subfamília *Coronavirinae*, da, com base nas relações filogenéticas e genéticas, a subfamília é dividida em quatro gêneros principais: *Alphacoronavirus* (α -CoVs), *Betacoronavirus* (β -CoVs), *Gammacoronavirus* (γ -CoVs), e *Deltacoronavirus* (δ -CoVs), de maneira geral os dois primeiros gêneros são coronavírus que causam infecção em mamíferos e já os dois últimos incluem os que causam infecção em aves (ICTV, 2020).

Anteriormente ao surgimento do SARS-CoV-2, já se tinha relatado na literatura seis tipos de coronavírus humanos (H-CoV) causadores de infecções no trato respiratório e gastrointestinal, que são os dos grupos dos α -CoVs, HCoV-NL63 e o HCoV-229E, e dos β -CoVs: HCoV-OC43, o HCoVHKU1, o SARS-CoV e o MERS-CoV. E agora o mais recente membro dos β -CoVs, devido a similaridade verificada após análises filogenética do genoma viral, o SARS-CoV-2 (JIN et al., 2020; NEERUKONDA; KATNENI, 2020; SUN et al., 2020; WANG et al., 2020b). Sendo então, atualmente, sete coronavírus humanos relatados.

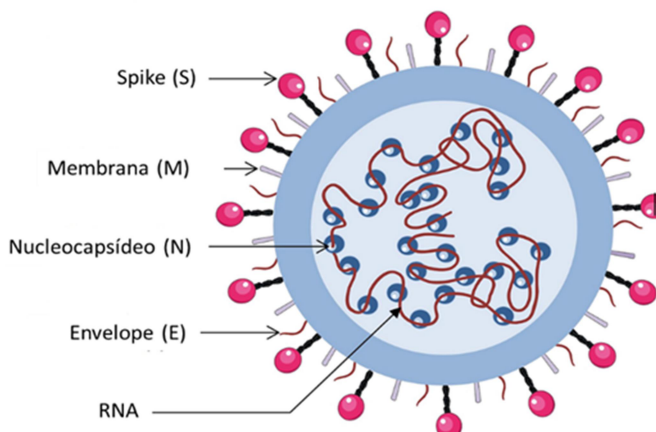
Indícios apontam que os primeiros casos ocorreram a partir de uma transmissão zoonótica, que teria acontecido em um mercado de frutos do mar, que também comercializava animais silvestres vivos, em Wuhan, entretanto ainda não há confirmação da sua origem (WHO, 2022). O sequenciamento de amostras do SARS-CoV-2 verificou que o suposto vírus compartilhava 79,5% da sua sequência genética com o SARS-CoV e compartilhava 96,2% com um coronavírus de morcego (cepa RaTG13), supondo desta forma que os morcegos são os hospedeiros naturais

(NEERUKONDA; KATNENI, 2020; ZHOU et al., 2020). Entretanto, o vírus presente nos morcegos apresenta na sua proteína Spike (conhecido como proteína S, que tem papel fundamental na ligação patógeno-hospedeiro) divergência no domínio de ligação ao receptor (RBD), que implica na ineficaz ligação com o receptor humano *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2, enzima conversora de angiotensina 2).

Visto que os morcegos são os hospedeiros reservatórios (naturais), sua separação ecológica geral dos humanos torna provável que outras espécies de mamíferos atuem como hospedeiros intermediários, o SARS-CoV-2 foi capaz de adquirir todas ou algumas das mutações necessárias para uma transmissão humana eficiente (NEERUKONDA; KATNENI, 2020; ZHANG; HOLMES, 2020). Alguns estudos relatam o mamífero pangolim como sendo o hospedeiro intermediário, apresentando mais de 90% de similaridade genética entre um CoV descoberto em pangolins e o SARS-CoV-2 (XIAO et al., 2020; ZHANG; WU; ZHANG, 2020), entretanto são necessários mais estudos para embasar melhor essa hipótese.

Em sua morfologia, o SARV-CoV-2 é esférico, com cerca de 60 a 100 nm de diâmetro. O vírion possui nucleocapsídeo composto de RNA genômico e proteína fosforilada do nucleocapsídeo (N), neste nucleocapsídeo há duas diferentes proteínas de pico, um é a spike (S) e a outra é a hemaglutinina-esterase (HE). Já a proteína do envelope (E) e a proteína de membrana (M) estão localizadas entre as proteínas S no envelope viral (**Figura 1**).

Figura 1: Ilustração da estrutura morfológica do SARS-CoV-2



Fonte: adaptado Bhardwaj (2021)

O SARS-CoV-2 apresenta um genoma de RNA, fita simples de sentido positivo com o tamanho de 29 kb. Tendo arranjo de genes: Região 5 'não traduzida'

(5' -UTR), quadro de leitura aberto (orf) 1a / b que codifica proteínas não estruturais (nsp) para replicação, proteínas estruturais, incluindo spike, envelope, proteínas de membrana e nucleocapsídeo, proteínas acessórias como orf 3, 6, 7a, 7b, 8 e 9b e a região 3 'não traduzida' (3' -UTR) (**Figura 2**) (JIN et al., 2020; NEERUKONDA; KATNENI, 2020).

Figura 2: Organização do genoma do SARS-CoV-2



Fonte: Shereen (2020). Legenda: ORF1a/1b/3/6/7a/8/9b- quadro de leitura aberta 1a/1b/3/6/7a/8/9b, S- proteína Skipe, M- proteína e membrana, E- proteína do envelope, N-proteína do nucleocapsídeo.

Dentro dessas proteínas, a proteína S, é a principal responsável pela ligação entre partícula viral-receptor, sendo determinante no tropismo e patogenicidade no hospedeiro (YAN et al.,2020). Diversos estudos já demonstraram que o SARS-CoV-2 utiliza o receptor da célula hospedeira a ACE2 (enzima conversora de angiotensina 2), para internalizar na célula (HOFFMANN et al., 2020; WRAPP et al., 2020). A ACE2 é uma proteína de membrana tipo I, presente em células do pulmão, coração, rim e intestino. Seu papel fisiológico é facilitar a conversão de angiotensina, hormônio peptídico que controla a vasoconstrição e a pressão sanguínea (DONOGHUE et al., 2000).

A proteína S é uma proteína de fusão trimérica de classe I, de conformação de pré-fusão metaestável que sofre um rearranjo estrutural que culminará na fusão da membrana viral com a membrana da célula hospedeira (LI, 2016). A subunidade S1 se liga ao receptor da célula hospedeira, que desestabiliza o trímero de pré-fusão, resultando na eliminação da subunidade S1 e na transição da subunidade S2 para uma conformação de pós-fusão e consequentemente entrada no interior celular (JIN et al., 2020; WRAPP et al., 2020).

No estudo de Wrapp et al., (2020), foi demonstrado que há uma maior afinidade de 10-20 vezes na ligação domínio S do SARS-CoV-2 com a ACE2, do que com o SARS-CoV, podendo contribuir para aparente facilidade de que a COVID-19 se espalha de humano para humano, tornando a ACE2 um dos principais alvos

dos estudos terapêuticos a fim de bloquear esta ligação específica, porém, necessitando de maiores investigações sobre o tema.

Sabe-se que os vírus estão sujeitos a constantes mutações e essas mutações ocasionam a diversidade genética viral que pode implicar na geração de novas cepas virais, que consequentemente origina variações na infectividade e patogenicidade. Com o SARS-CoV-2 não é diferente, diversos são os estudos que relatam as diferentes cepas circulantes no Brasil e no mundo, atualmente já se é classificado pela Organização Mundial da Saúde, cinco variantes preocupantes (VOCs): a Alfa, primeiramente relatada no Reino Unido em setembro de 2020; a Beta, primeiramente relatada na África do Sul em maio de 2020; a Gamma, primeiramente relatada do Brasil em novembro de 2020; a Delta primeiramente relatada na Índia em outubro de 2020; e por fim a Omicron primeiramente relatada na África do Sul em novembro de 2021 (STEFANELLI et al., 2020; VAN ELSLANDE et al., 2021; WANG & POWELL, 2021; WHO, 2022).

Essas supracitadas variantes possuem importantes mutações nos aminoácidos que constituem a proteína spike (S), sendo a principal proteína para internalização viral. Sendo assim, esta situação pode implicar na possibilidade de novas reinfecções, maior transmissibilidade e infectividade, gravidade da doença e dificuldade na produção e efetividade de fármacos e vacinas (TAO, et al., 2021; WHO, 2022).

2.2 Epidemiologia

Após os primeiros casos de SARS-CoV-2 terem sido relatados em 31 de dezembro de 2020, não demorou muito para que houvesse uma rápida disseminação desse novo vírus. Dentro de um mês, em 30 de janeiro de 2020 a OMS declarou o surto do SARS-CoV-2 como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), sendo o maior nível de alerta da OMS, que alarma para que haja uma resposta internacional coordenada e imediata frente à situação. Em 11 de março de 2020, a COVID-19 foi caracterizada pela OMS como uma pandemia (WHO, 2022).

Atualmente, a COVID-19 está presente em quase todas as regiões do globo, atingindo mais de 200 países, causando com grande número de infectados, diversas mortes, colapsos na área da saúde, da economia, da política, e deixando muitas perguntas em aberto sobre como solucionar esse problema de saúde global. Hoje,

até a data de 16 de fevereiro de 2022, mundialmente temos mais de 414.525.183 casos confirmados e mais de 5.832.333 mortes decorrentes da COVID-19 (WHO, 2022).

No Brasil, o primeiro caso de COVID-19 foi confirmado em 26 de fevereiro de 2020, o paciente tinha histórico de viagem recente para Itália (alóctone). Em 5 de março, já se tinha 8 casos confirmados no Brasil e nesta mesma data foi registrada a primeira transmissão autóctone. Em 20 de março de 2020 foi declarado que a transmissão do SARS-CoV-2 passou a ser considerada comunitária em todo o território brasileiro, que mesmo ainda não estando em todas as regiões do país, a declaração do Ministério da Saúde informava sobre o dever da adoção das medidas de distanciamento social e evitar aglomerações. Porém a falta de conscientização e negligência por parte da população, não permitiu que houvesse uma diminuição dos casos. E até o dia 16 de fevereiro de 2022, no Brasil, o SARS-CoV-2 já infectou mais de 27.806.786 pessoas e já matou mais de 640.774 pessoas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A transmissão da COVID-19 pode ocorrer tanto de portadores assintomáticos e sintomáticos da doença, podendo ser por contato direto (pessoa-pessoa) ou das pessoas infectadas por meio das secreções da boca e do nariz, como por exemplo: saliva, gotículas de secreção ou secreções respiratórias, que podem ocorrer no ato de tossir, espirrar, falar e entre outros. Ou por contato indireto, que ocorre por meio de objetos ou superfícies contaminadas (fômites), como por exemplo: chaves, maçanetas, corrimãos, mesas, onde indivíduos não infectados podem entrar em contato com esses objetos infectados, levando as mãos aos olhos, nariz ou boca, permitindo assim a entrada do vírus no organismo (ADHIKARI et al., 2020; VAN DOREMALEN et al., 2020; WHO, 2022).

Outra forma de transmissão é por aerossóis, que ocorrem geralmente em procedimentos hospitalares que podem produzir pequenas partículas que ficam suspensas no ar produzidas por um paciente com a COVID-19, outras pessoas do âmbito hospitalar que não estiver protegido, pode inalar e contrair a infecção (VAN DOREMALEN et al., 2020; WHO, 2022). Outra possível rota relatada, é a fecal-oral, visto que a ACE2 tem alta expressão nos enterócitos absortivos do íleo e colón (ZHANG et al., 2020), porém ainda são necessários mais estudos que fundamentem melhor esta hipótese. A transmissão vertical também é uma possível rota,

principalmente quando a infecção pelo vírus acomete a mãe no terceiro trimestre (KOTLYAR et al., 2021).

Diante de uma pandemia é importante conhecer melhor todas as possíveis rotas de transmissão para a COVID-19, já que essas informações podem auxiliar em promover estratégias específicas de prevenção à transmissão.

2.3 Aspectos clínicos da doença e diagnóstico da COVID-19

Os aspectos clínicos da COVID-19 envolvem uma diversidade de sintomas e cursos da doença, após a infecção. A infecção apresenta um período de incubação que varia entre 1 e 14 dias, em que o aparecimento dos sintomas pode ocorrer após 5 ou 6 dias depois da infecção. O curso clínico da infecção pela SARS-CoV-2 pode ser diferente de indivíduo para indivíduo, seu espectro clínico pode variar em diferentes fases: pessoas infectadas assintomáticas, pessoas infectadas com sintomas leves ou moderados, e por fim pessoas infectadas com sintomas graves. Os sinais e sintomas da doença apresentam ampla pluralidade, que pode ser desde um simples resfriado, a uma síndrome gripal ou até mesmo uma pneumonia grave (CDC, 2020; WHO, 2022).

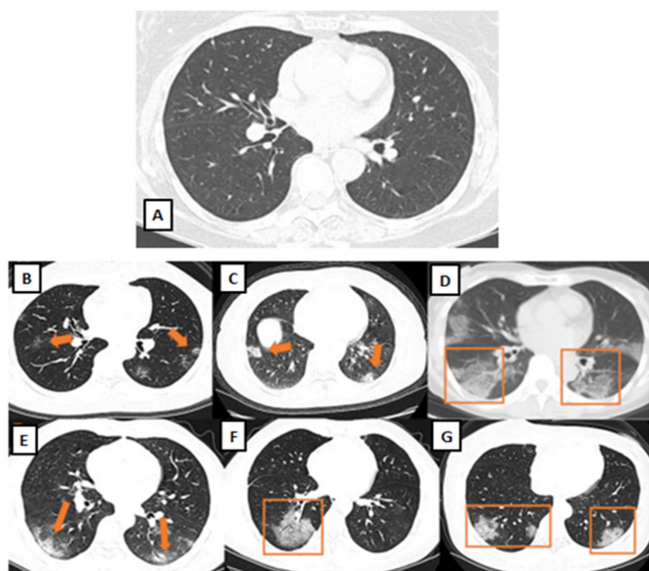
Os sintomas mais comuns da COVID-19 são: febre, tosse seca, cansaço, falta de ar (dispneia), dores musculares, dor de cabeça, anosmia, ageusia, distúrbios gastrointestinais. Em casos mais graves, a evolução da infecção pode levar a pneumonia grave com insuficiência respiratória, síndrome respiratória aguda grave (SRAG), sepse, falência renal e de outros órgãos, e eventualmente a morte. Na maioria das pessoas infectadas de forma leve a moderada, os sintomas podem ser controlados em casa, sem a necessidade de hospitalização, porém, nos casos de piora do quadro clínico, a maioria dos pacientes necessita de internação em UTI (CDC, 2020; NEERUKONDA; KATNENI, 2020; WANG et al., 2020a, 2020c; WHO, 2022).

Assim como qualquer outra doença, a COVID-19 apresenta fatores de riscos que podem agravar a situação do paciente infectado, entre elas são: idade avançada, diabetes, hipertensão, doença do sistema respiratório, doença cardiovascular, obesidade, imunossupressão, entre outros, que estão sendo estudados (CDC, 2020; SALES-PERES et al., 2020; WANG et al., 2020c; WHO, 2022; YANG et al., 2020). Portanto, a identificação precoce de fatores de risco para

pacientes graves pode facilitar a escolha do tratamento de suporte ideal e com isso ajudar a reduzir a mortalidade.

Nas análises radiológicas e laboratoriais dos pacientes infectados, pode-se observar alterações em diversos parâmetros. Os pulmões são o principal local de infecção do vírus, onde em imagens de tomografia computadorizada (TC) do tórax, os achados mais comuns na pneumonia por COVID-19 são: distribuição bilateral de sombras irregulares ou opacidade em vidro fosco e áreas subsegmentares de consolidação (**Figura 3**), podendo ainda aparecer outros achados como: derrame pleural, espessamento vascular, enfisema pulmonar e outros (BAI et al., 2020; RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020; TU et al., 2020; WANG et al., 2020c). Já as alterações laboratoriais mais comuns são: linfopenia, leucopenia, tempo de protrombina prolongado, elevação nos níveis de: D - dímero; proteína C reativa (PCR), creatinofosfoquinase (CPK), lactato desidrogenase (LDH), alanina transaminase (ALT), alta taxa de sedimentação de eritrócito e uma diminuição nas taxas de albumina (GAO et al., 2020; HUANG et al., 2020; RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020; WANG et al., 2020b, 2020c).

Figura 3: Imagens de tomografia computadorizada do tórax.



Fonte: Adaptado Miao (2020). Nota: Imagem A demonstra uma TC com achados normais de uma pessoa saudável e já nas imagens de B a G há várias combinações de achados de opacidade em vidro fosco de diferentes pessoas com a COVID-19, demarcado com quadros e setas vermelhas.

Ainda não se sabe por completo todo o espectro clínico- laboratorial da doença, visto que pode apresentar diferentes níveis de acometimento do sistema

respiratório (principal fonte de replicação), sendo que alguns estudos relataram sequelas neurais (KANBERG et al., 2020) e gastrointestinais (TIAN et al., 2020) demonstrando consequências fisiológicas fora do sítio principal de infecção. Por isso, há necessidade constante de estudos que busquem uma definição completa do quadro clínico e suas consequências em cada sistema do corpo humano.

Para diagnóstico da COVID-19, são utilizados, principalmente, a reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qRT-PCR- *Reverse transcription polymerase chain reaction*) e testes para detecção de IgM, IgG e IgA específicos ao SARS-CoV-2. O teste molecular, qRT-PCR, é considerado o padrão-ouro no diagnóstico da COVID-19 nos protocolos da OMS, cuja confirmação é obtida através da detecção do RNA do SARS-CoV-2 na amostra analisada, via material coletado por swab de oro e nasofaringe. A coleta deve ser realizada até o 7º dia do início dos sintomas, mas preferencialmente a partir 3º dia para evitar os falsos negativos, é um diagnóstico rápido (muitas vezes no mesmo dia, a depender dos laboratórios e da demanda), e é altamente específico (TANG et al., 2020; ZHAI et al., 2020).

Já os testes sorológicos buscam a detecção dos anticorpos produzidos (IgM, IgG e IgA), sendo recomendado para pacientes com mais de 10 dias de sintomas e/ou exposição. A detecção dos anticorpos pode ser realizada pelo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA- *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), quimioluminescência (CLIA), eletroquimioluminescência (ECLIA) e outros (JÄÄSKELÄINEN et al., 2020; VASHIST, 2020). Utiliza-se amostra sanguínea do paciente para realização do exame, vale lembrar que nem todos os pacientes irão desenvolver anticorpos para vírus, havendo a possibilidade de que o exame sorológico apresente resultado não reagente, porém a RT-PCR com resultado positivo.

O ensaio imunocromatográfico (teste rápido) pode ser utilizado para detecção de antígeno (proteínas de replicação) ou anticorpos. Entretanto, não apresenta grande sensibilidade e especificidade em comparação com outras metodologias, mas apresenta resultados rápidos e podem auxiliar no manejo inicial do paciente (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2020).

Portanto, o diagnóstico da COVID - 19 deve ser baseado em uma compreensão abrangente da história epidêmica, características clínicas, características radiográficas e detecção laboratorial (WANG et al., 2020b). Para que

só assim a equipe médica possa escolher a melhor forma de acompanhamento ao paciente acometido.

2.4 Tratamento e prevenção

Até o momento, não há tratamento medicamentoso eficaz e específico para a infecção por SARS-CoV-2. A terapia de suporte é a estratégia de tratamento para essa pneumonia, incluindo terapia de oxigênio suplementar, tratamento de fluidos (ingestão de líquidos, perfusão de soro) e aplicação de antibióticos para infecções bacterianas secundárias, se necessário, são recomendadas (HARAPAN et al., 2020; WHO, 2022). Em 18 de janeiro de 2021, no Brasil foi iniciado o método preventivo de extrema importância para o combate da pandemia, a campanha nacional de vacinação contra a COVID-19, que tem como objetivo evitar as numerosas internações e óbitos, principalmente nos grupos de maior risco. Atualmente no Brasil encontram em uso das seguintes vacinas: AstraZeneca/Fiocruz, Sinovac/Butantan, Janssen e Pfizer/Comirnaty. Sendo este atualmente o método preventivo mais importante e recomendado por todos os órgãos de saúde (MINISTERIO DA SAÚDE, 2022).

O Ministério da Saúde desenvolveu protocolos do manejo para os três quadros clínicos da doença (leve, moderado e grave). No caso de pacientes leve, os sinais e sintomas apresentados são importantes para decidir a melhor abordagem e conduta que o médico terá com o paciente, há orientação sobre higienização das mãos e utilização de máscara, o afastamento/tratamento era inicialmente de 14 dias, agora diminuiu para 10 dias, a contar da data de início dos sintomas e seguido de constante acompanhamento, medicação se necessária, a depender da conduta do médico, e se disponível realizar a RT-PCR ou teste rápido, nesses casos não é necessário internamento (MINISTERIO DA SAÚDE, 2022).

No caso dos pacientes moderados, a internação hospitalar é necessária para o acompanhamento, porém, o paciente não preenche os critérios de gravidade para ser internado em UTI (não têm disfunções orgânicas ou instabilidade hemodinâmica e não estão necessitando de ventilação mecânica ou outros procedimentos de cuidado intensivo). Após a estabilização clínica e melhora dos parâmetros laboratoriais, o paciente tem alta e segue com o serviço de acompanhamento e monitoramento do caso (MINISTERIO DA SAÚDE, 2022).

E por fim, no caso de pacientes graves, que atendem aos parâmetros de gravidade para internação em UTI, sendo necessário realizar oxigenoterapia suplementar imediata para os que estiverem com dificuldade respiratória, hipoxemia ou choque; administração de antibacteriano para tratamento de sepse ou pneumonia comunitária; acompanhar os exames laboratoriais em busca de possíveis alterações, e diversos outros cuidados que estão disponíveis no guia de “Orientações e manejo de pacientes com COVID-19”, disponível pelo Ministério da Saúde. Vale ressaltar que todos os casos desde leve a grave, devem ser compulsoriamente notificados (MINISTERIO DA SAÚDE, 2022).

A vigilância eficaz é o pré-requisito para bloquear a fonte de infecções, sendo o reconhecimento precoce de casos suspeitos que irá auxiliar na contenção da disseminação da doença por meio de isolamento imediato e medidas de controle de infecção. Os antivirais estão sendo avaliados de acordo com investigações anteriores, envolvendo coronavírus (MERS e SARS-CoV-1), entretanto ainda não há resultados robustos de que haja melhora significativa no desfecho clínico. Atualmente os seguintes antivirais estão sendo avaliados: oseltamivir, ramsedivir, lopinavir/ritonavir, ribavirina e entre outros estão em testes para o tratamento da doença (HABIBZADEH; STONEMAN, 2020; HARAPAN et al., 2020)

Outros medicamentos bastante relatados contra o SARS-CoV-2 é a hidroxicloroquina e cloroquina, inicialmente alguns estudos mostram um efeito positivo na melhora da progressão da doença (ARSHAD et al., 2020; GAUTRET et al., 2020). Entranto, estudos mais atuais, apontam além da não efetividade, possíveis efeitos colaterais e aumento da mortalidade dos pacientes que utilizaram a hidroxicloroquina e cloroquina (AXFORS et al., 2021; BOULWARE et al., 2020; MEHRA et al., 2020). O papel dos corticóides no tratamento de infecção por SARS-CoV-2 vem sendo bem relatado, há estudo que relata a melhora dos casos graves quanto o paciente era tratado com dexametasona (SINGH et al., 2020) e uma revisão sistemática e metanálise de 44 ensaios clínicos e estudos observacionais confirmou uma redução na mortalidade a curto prazo e na necessidade de ventilação mecânica em pacientes com COVID-19 tratados com corticosteroides (VAN PAASSEN et al., 2020).

Para prevenir a doença é recomendado: uso de máscara, higienização das mãos (com frequência, com água e sabão ou álcool 70%), manter um distanciamento seguro (mínimo 1m), higienização dos objetos de uso diário (celular,

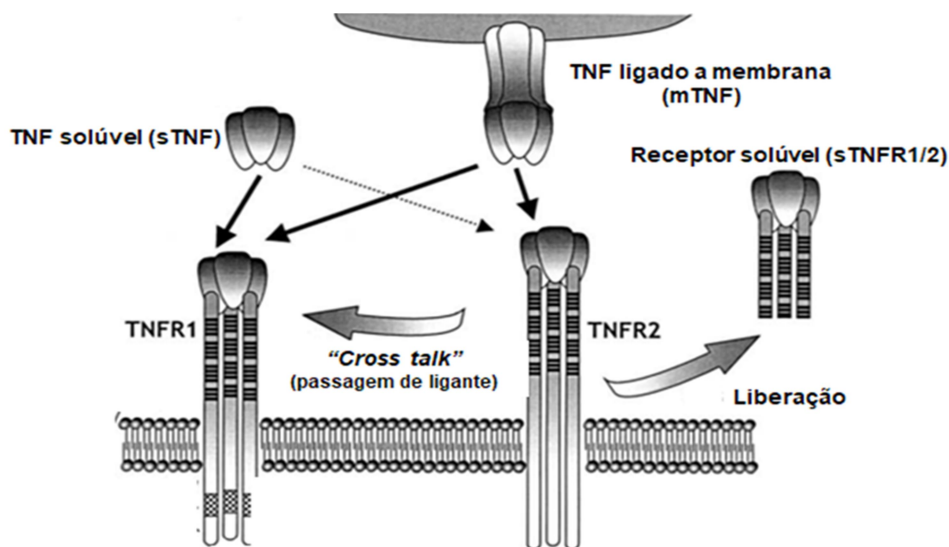
computador, chaves), evitar aglomerações, evitar locais fechados de pouca ventilação, evitar tocar nos olhos e boca com mãos sujas, cobrir nariz ou boca quando for espirrar ou tossir, se estiver indisposto ficar em casa e no aparecimento de febre, tosse e dificuldade de respirar procurar um atendimento médico (WHO, 2022). A conscientização da população frente aos cuidados necessários é peça chave no controle da disseminação da doença.

2.5 Fator de necrose tumoral (TNF) e receptores do fator de necrose tumoral (TNFRS)

Em 1975, Carswell et al, descobriram uma molécula induzível por endotoxina que causava necrose de tumores *in vitro*, o TNF (fator de necrose tumoral) (CARSWELL et al., 1975). Atualmente esta citocina pró-inflamatória é conhecida como a mais polivalente, que pode estar envolvida em processos fisiológicos, inflamação sistêmica, lise tumoral, apoptose, imunomodulação, patologias (bacterianas, virais, autoimune, infecto parasitárias) (CHU, 2013; SEDGER; MCDERMOTT, 2014).

O TNF é produzido predominantemente por monócitos/macrófagos e linfócitos T, porém uma ampla gama de células pode produzir essa molécula, tais como: mastócitos, linfócitos B, células natural killer (NK), neutrófilos, células endoteliais, células lisas e células do músculo cardíaco, fibroblastos e osteoclastos. Inicialmente é uma proteína de 26kDa, que é expressa na membrana plasmática (mTNF/pró-TNF), onde será clivado no domínio extracelular pela enzima conversora de TNF (TACE) e resultará na liberação de uma forma solúvel (sTNF) de 17kDa (BRADLEY, 2008; SEDGER; MCDERMOTT, 2014). Esta forma solúvel é a forma circulante, encontrada no plasma sanguíneo, que percorrerá por todo o corpo e confere funções endócrinas, podendo atuar em sítios fisiológicos distantes dos sítios em que foi sintetizado (FAUSTMAN; DAVIS, 2013) (**Figura. 4**).

Figura 4: Processos de ligação do TNF e síntese de seus receptores.



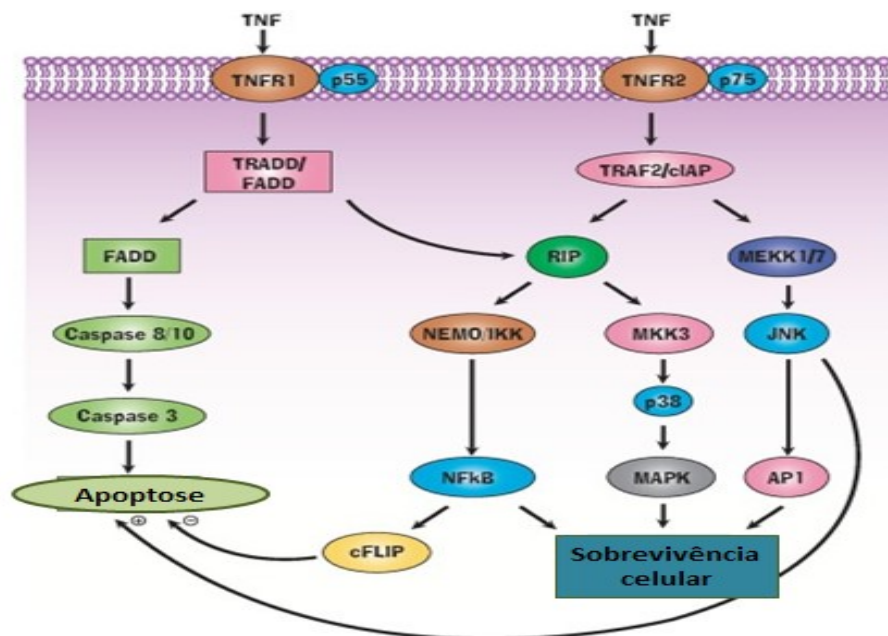
Fonte: Adaptado MacEwan (2002)

Tanto o TNF solúvel quanto o de membrana, se ligam a duas moléculas receptoras transmembrana: TNFR1 (p55 / p60) e TNFR2 (p75 / p80). O TNFR1 é expresso na maioria dos tipos celulares, exceto em eritrócitos, e contém o domínio de morte (DD) citoplasmática, sendo este receptor responsável pela ativação da via apoptótica (pró-inflamatória), mas também pode estar envolvido na sobrevivência celular. Já o TNFR2 é somente expresso em células endoteliais, células do sistema imunológico e algumas células do sistema nervoso, não tendo o DD citoplasmático, estando envolvido na ação de proliferação ou sobrevivência celular (BREMER, 2013; CHU, 2013; SEDGER; MCDERMOTT, 2014). Sabe-se que a sinalização de TNFR1 é fortemente ativada por mTNF e sTNF, enquanto a sinalização de TNFR2 só pode ser ativada de forma eficiente por mTNF (CHU, 2013). Portanto, tanto o TNFR1 como o TNFR2 têm impactos distintos nas células individuais (SHENG; LI; QIN, 2018).

Após a interação ligante ao receptor, ocorre uma cascata de reações que vai culminar na ativação de todas as funcionalidades do TNF. O TNF ao interagir com o TNFR1, através do seu domínio de morte que se liga a proteína adaptadora da proteína do domínio da morte associada ao TNFR1 (TRADD), irá ocorrer o recrutamento e agrupamento diversas proteínas adaptadoras, para culminar na morte celular (apoptose), e é predominante uma via pró-inflamatória (BREMER, 2013; SIEGMUND et al., 2016). Já no TNFR2, por não possuir o domínio de morte, estimula a via do fator nuclear pró-sobrevivência (NF- κ B) (**Figura 5**) (FAUSTMAN;

DAVIS, 2013; SHENG; LI; QIN, 2018). O TNFR2, por não possuir o DD não causa diretamente a morte celular, isso só acontece através da cooperação TNFR1-TNFR2, por “*cross-talk*” (comunicação cruzada) (GUPTA, 2002), onde TNFR2 irá potencializar a apoptose induzida pelo TNFR1, por meio de recrutamento de moléculas de TNF pelo receptor TNRF2 e transferindo para o TNFR1, aumentando desta forma a ligação e sinalização através do TNFR1 (DRI et al., 1999; SHENG; LI; QIN, 2018) (**Figura 4**).

Figura 05: Vias de sinalização celular ativada por TNF. Após o TNFR1 ser ativado, ocorre o recrutamento de proteínas adaptadoras (TRADD, FADD e caspases) que induzirá a apoptose celular, e o TNFR2, recruta (TRADD, FADD e RIP), que ativam as vias de transdução de sinal, levando a ativação de NF- κ B.



Fonte: Adaptado de Faustman; Davis (2013). **Legenda:** TNFR1/2- receptor transmembrana TNF 1/2: TRADD- proteína do domínio de morte associada ao receptor do fator de necrose tumoral, FADD- proteína de domínio de morte associada ao Fas, TRAF - fator associado ao receptor de TNF, cIAP- inibidor de apoptose, RIP- proteína quinase de interação ao receptor, NEMO- modulador essencial do fator nuclear kappa B, NF- κ B-Fator nuclear κ B, cFlip: peptídeo de cadeia invariante associado à classe II, IKK – quinase do complexo IKK, MKK3- MAP quinase quinase 3, p38: MAP quinase 38, MAPK- Proteínas quinases ativadas por mitógenos, MEKK 1/7- Proteína quinase quinase ativada por mitógeno 1/7, JNK - JUN aminoterminal quinase, AP1- proteína ativadora 1.

Tanto o TNFR1 e TNFR2, são sintetizadas como proteínas ligadas a membrana, que podem sofrer clivagem proteolítica, num processo chamado de

“*shedding ectodomain*”, formando os receptores solúveis do tipo 1 e 2 (sTNFR 1/2), que podem ser considerados potentes inibidores naturais de TNF, podendo competir pelo sítio de ligação do TNF (VAN ZEE et al., 1992). Foi sugerido que os receptores solúveis do TNF funcionariam como antagonistas naturais do TNF, porém foi visto que em concentrações menores de receptores solúveis, podem estabilizar as moléculas de TNF, aumentando a disponibilidade desta molécula para a ligação com os receptores na superfície celular, atuando como agonistas do TNF (ADERKA et al., 1992; DAI et al., 2005). Vale ressaltar que estes receptores solúveis são liberados na circulação e seus níveis podem aumentar durante o curso de várias doenças (XANTHOULEA et al., 2004).

Vários distúrbios estão associados ao TNF e seus receptores (TNFR1/2). Em estudo de Kim et al., (2016) foi relatado uma relação entre os receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) e os distúrbios cardiovasculares associados com rigidez arterial podendo contribuir diretamente para arteriosclerose e insuficiência cardíaca. Estudo com camundongos deficientes em TNFR1 demonstrou serem resistentes à encefalopatia induzida por lipopolissacarídeo (LPS), onde administração sistêmica de LPS induz uma resposta inflamatória generalizada semelhante à observada na sepse. Apresentaram menos apoptose dependente de caspase nas células cerebrais e menos neutrófilos infiltrando-se no cérebro (ALEXANDER et al., 2008). Em outra análise, de Lucas et al., (1997), relataram que camundongos geneticamente deficientes do receptor TNFR2 apresentaram proteção à malária cerebral.

Em um modelo animal, foi demonstrado que o TNF desempenha papel fundamental no desenvolvimento da fibrose pulmonar, onde embora o TNFR1 e o TNFR2 sejam amplamente expressos, reconhece-se que a maioria da sinalização inflamatória é induzida por meio do TNFR1, o que pode impactar nas manifestações desencadeadas neste camundongo, pois induz a liberação de moléculas bioativas adicionais que induzem efeitos autócrina, parácrinos e até endócrinos (LUNDBLAD et al., 2005). Em estudo de Yang et al., (2018), relatam que o TNFR2 está presente, principalmente em células T regulatórias (Tregs), que são conhecidas por regular o sistema imune, agindo em cima das células imunes que continuam indefinidamente a exercer sua função, influenciando negativamente ao organismo, que ocorre geralmente com as doenças autoimunes e na destruição de tecidos. Sendo que a sinalização do TNFR2 pode aumentar a expansão e estabilidade das células Tregs.

No caso da COVID-19, ainda não há uma extensa literatura que relatem o papel dos receptores de TNF, necessitando de estudos mais detalhados a fim de entender melhor os mecanismos envolvidos na resposta imunológica dessa nova doença.

2.6 Receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2) de TNF e COVID-19

Estudos que buscam avaliar os níveis séricos dos receptores solúveis de TNF durante a infecção dos pacientes com a COVID-19, são poucos ou estão em desenvolvimento. Mc Elvaney et al., (2020), estudaram a caracterização do perfil inflamatório em 70 pacientes, divididos em grupo controle, pacientes com COVID-19 estáveis, pacientes COVID-19 UTI e pacientes COVID-19 UTI com suporte de oxigênio, foi encontrado um aumento de sTNFR1 em todos os grupos com COVID-19. E quando comparado, entre os grupos com COVID-19, o sTNFR1 foi maior nos pacientes de UTI do que nos estáveis. No estudo de Mortaz, et al., (2021), que estudou um grupo de 46 pacientes com COVID-19 (15 graves em UTI e 29 não graves), e observaram um aumento de sTNFR1 nos pacientes de UTI e surgem que o sTNFR1 pode ser um possível biomarcador de gravidade e mortalidade de doença.

Em contrapartida, o estudo observacional prospectivo, que avaliou 39 pacientes em SRAG por COVID-19 e comparou com uma coorte já existente de pacientes em SRAG sem ser por COVID-19, encontraram então níveis menores de sTNFR1 em pacientes COVID-19 em SRAG, do que quando comparados com pacientes com SRAG por outro motivo sem ser COVID-19 (SINHA et al., 2020). Também em um estudo de Bhatraju et al., (2021), avaliaram 171 pacientes de UTI, sendo 78 positivos para COVID-19 e 93 negativos para COVID-19. Em análises comparativas, os níveis circulantes de sTNFR1 foram menores em pacientes COVID-19 do que pacientes não COVID-19. Além disso, relataram que não houve associação do sTNFR1 com a mortalidade hospitalar.

Em um estudo na cidade do México, os pesquisadores relataram que os níveis de sTNFR1 e sTNFR2 foram comparados entre os grupos de COVID-19 (leve, moderado e grave) e com um grupo controle. O nível de sTNFR1 não foi diferente entre o grupo leve e controle, mas, pacientes com COVID-19 moderados e graves apresentaram um alto nível de sTNFR1 em comparação com o grupo controle e com o grupo leve. O nível de sTNFR2 foi maior em cada status de COVID-19 em

comparação com o grupo controle. Concluindo que o sTNFR1 pode ser considerado um potencial alvo no desenvolvimento de novas opções terapêuticas (PALACIOS et al., 2021). E em estudo de Ferrando et al., (2022), que buscou analisar os níveis plasmáticos de sTNFR 1 e 2 em associação com falência de órgãos e desfecho em pacientes críticos com COVID-19, em 122 pacientes admitidos em UTI e comparando com 25 controles saudáveis, relatou que ambos os níveis de sTNFR 1 e 2 foram maiores em pacientes com COVID-19, e foram associados a gravidade da doença, sendo ambos os receptores preditores de óbitos.

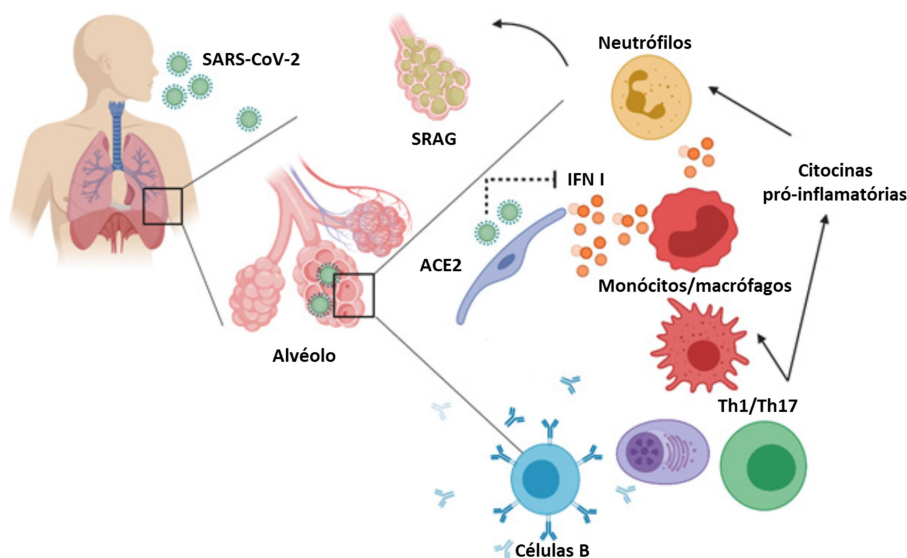
Portanto, devido aos achados divergentes juntamente a recém-descoberta da doença, outros estudos são necessários para caracterizar o perfil imunológico, com relação aos níveis dos receptores solúveis em pacientes nos diferentes estágios clínicos da COVID-19, a fim de elucidar melhor sua dinâmica.

2.7 Aspectos imunológicos da doença

Por ser uma doença de descoberta recente, buscar entender os mecanismos envolvidos na imunopatogênese da COVID-19, segue sendo um grande desafio para comunidade científica. Com a infecção por SARS-CoV-2 e a destruição das células pulmonares, o sistema imune se prepara para uma resposta local, através do recrutamento de macrófagos e monócitos, que respondem a infecção liberando citocinas e ativando as respostas imunes adaptativas mediada por células T e B, que por si só já são capazes de resolver a infecção (TAY et al., 2020) (**Figura 6**).

Em uma visão mais ampliada da resposta imunológica ao SARS-CoV-2, após a ligação específica do vírus, através da proteína spike (S) ao receptor das células alveolares (ACE2), há internalização da partícula viral por endocitose, e liberação do RNA no citosol celular, esse RNA pode ser reconhecido pelo sistema imune inato por três receptores de reconhecimento de padrões (PRRs): os receptores do tipo Toll (TRL), os receptores semelhantes a RIG (RLRs) e os receptores semelhantes a NOD (NLRs). Após o reconhecimento pelos receptores, há ativação dos efetores de sinalização *downstream* (NF- κ B e IRF3 / 7). O NF- κ B, irá promover a transcrição de citocinas pró- inflamatórias (TNF, IL-1 β e IL-6), promovendo ainda respostas inflamatórias Th1 e Th17, com subsequente secreção de IFN- γ e IL-17 (JAMILLOUX et al., 2020).

Figura 6: Breve visão da resposta imunológica após a infecção pelo coronavírus.



Fonte: Adaptado Prompetchara (2020).

IRF3 / 7 (fator regulador do interferon 3/7) promove a produção de IFN tipo I, que por sua vez ativa a via JAK1 / TYK2-STAT1 / 2 (via de sinalização JAK-STAT). STAT1 e STAT2 formam um complexo com IRF9 que se transloca para o núcleo, onde inicia a transcrição de genes estimulados por IFN (ISGs). Uma resposta do IFN tipo I precoce e robusta é necessária como resposta inicial para suprimir a replicação e disseminação viral e também induz uma resposta imune adaptativa eficaz. As células dendríticas plasmocitoides são importantes células imunes circulantes, já que são responsáveis pela forte resposta mediada por IFN tipo I no local da infecção, para resolução da replicação viral. Porém, estudos relatam que outros coronavírus (SARS-CoV e o MERS), possuem mecanismos para interferir na resposta do IFN tipo I, e isso influencia diretamente na gravidade da doença, desencadeando uma hiperinflamação. Com isso, é possível que o SARS-CoV-2 utilize estratégias de bloqueio semelhantes (FELSENSTEIN et al., 2020; JAMILLOUX et al., 2020).

Portanto, principalmente nos casos graves, com a intensa supressão das respostas antivirais, acredita-se que monócitos/ macrófagos e neutrófilos recrutados para o local da infecção exibem respostas inflamatórias fortes e mal controladas (produção exacerbada de citocinas e quimiocinas), resultando em dano ao tecido e inflamação sistêmica, que contribuem para uma piora no quadro clínico, que pode levar a uma doença pulmonar grave e até uma condição sistêmica (FELSENSTEIN et al., 2020; TAY et al., 2020).

Essa resposta imune disfuncional/exacerbada na COVID-19 está diretamente relacionada com a “tempestade de citocinas”, evento este, que ocorre quando o sistema imunológico é superativado por infecção, fármaco e/ou algum outro estímulo, levando a altos níveis de citocinas, que são liberadas na circulação, ocasionando um amplo e prejudicial impacto em vários órgãos (TISONCIK et al., 2012). Na COVID-19, é mais comum a ocorrência da “tempestade de citocinas” em pacientes graves, onde se observa o aumento das seguintes citocinas, tanto do perfil Th1, Th2 e Th17 e quimiocinas, como: IL - 6, TNF, IL - 1 β , IL-10, IL - 2, IL-17, IFN - γ , GM-CSF, MCP - 1, IP - 10, MCP-3 e IL-1 (COPERCHINI et al., 2020; MEHTA et al., 2020; YE; WANG; MAO, 2020; KIM et al., 2021).

A “tempestade de citocinas” promove “ataque” do sistema imunológico ao corpo, que como consequência desta injúria, poderá provocar o quadro de SRAG e a falência de múltiplos órgãos, nos casos graves da COVID-19, que pode resultar em morte. Vale ressaltar que a SRAG pode levar diretamente a insuficiência respiratória, sendo responsável por 70% dos obitos da COVID-19 (ZHANG; HOLMES, 2020). Portanto, a busca de tratamento para inativar a “tempestade de citocina” pode ser uma importante alternativa terapêutica e vem sendo estudada em todo o mundo, visto que seu bloqueio iria influenciar positivamente o desfecho clínico do paciente.

As respostas das células T e B contra o SARS-CoV-2 são detectadas no sangue cerca de 1 semana após o início dos sintomas de COVID-19. As células T CD8⁺ são importantes, devido ao seu mecanismos de citotoxicidade e promove a morte da célula infectada, enquanto as células T CD4⁺ são cruciais para preparar as células TCD8⁺ e também são responsáveis pela produção de citocinas para conduzir o recrutamento de células imunes (TAY et al., 2020; THEVARAJAN et al., 2020).

Contudo, na maioria dos casos graves a infecção induz linfopenia que afeta principalmente o número de células T CD4⁺, T CD8⁺, NK e B, sendo a linfopenia considerada como possível marcador de mau prognóstico da doença (HUANG et al., 2020; WANG et al., 2020c). O estudo de TAN et al., (2020) especulou quatro mecanismos que podem levar a deficiência de linfócitos: (1) O vírus pode infectar diretamente os linfócitos, resultando em sua morte, visto que os linfócitos expressam o receptor alvo do SARS-CoV-2, o ACE2; (2) o vírus pode destruir os órgãos linfáticos, gerando uma disfunção na produção dos linfócitos; (3) citocinas

inflamatórias atuando desordenadamente, levando a apoptose dos linfócitos e por fim (4) inibição de linfócitos por moléculas metabólicas produzidas por distúrbios metabólicos, como a acidose láctica.

Com relação à cinética dos anticorpos, o SARS-CoV-2 provoca uma resposta vigorosa, há uma detecção rápida e quase universal de IgM, IgG e IgA específicas ao vírus e anticorpos IgG neutralizantes (nAbs) após a infecção (HUANG et al., 2020). A soroconversão ocorre na maioria dos pacientes COVID-19 entre 7 e 14 dias após o início dos sintomas, e os títulos persistem nas semanas após a eliminação do vírus (VABRET et al., 2020; ZHAO et al., 2020). Entretanto, alguns estudos indicam que alguns pacientes não desenvolvem anticorpos de longa duração (LONG et al., 2020; SEOW et al., 2020) e a reinfeção pelo SARS-CoV-2 já é uma realidade.

Até o momento não há evidências sólidas que estabeleçam os perfis imunológicos específicos da COVID-19, muitas lacunas ainda estão em aberto em relação à resposta imune hospedeiro-patógeno e após obter as respostas dessas lacunas a sociedade poderá estabelecer medidas de intervenções (vacina, fármacos e outros) eficazes contra o vírus.

3 FORMULAÇÃO DA QUESTÃO DA PESQUISA

Existe relação entre os níveis séricos dos receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) e as apresentações clínicas da COVID-19, dos pacientes internados no Hospital das Clínicas de Pernambuco?

4 JUSTIFICATIVA

Por ser uma doença de descoberta recente, os mecanismos imunológicos que envolvem a relação patógeno-hospedeiro da COVID-19 ainda não foram totalmente estabelecidos. Sabe-se que o TNF tem um papel essencial na resposta pró-inflamatória (induzindo a apoptose, diferenciação e crescimento celular). Contudo, é relatado que os receptores solúveis do TNF (sTNFR1/2), são potentes inibidores da ativação do TNF e consequentemente da resposta pró-inflamatória, sendo estes receptores encontrados muitas vezes elevados em diversas condições inflamatórias.

Estudos são controversos sobre os níveis séricos de sTNFR1 e sTNFR2 e seu papel na COVID-19. Há relatos que demonstram aumentos expressivos dos seus níveis nos pacientes infectados, que pode estar relacionado ao pior prognóstico da doença. Em contraponto, há estudos que não observaram diferença estatisticamente significativa nos níveis desses receptores entre indivíduos infectados com evolução leve e grave.

Portanto, buscar entender o papel dos receptores solúveis de TNF nos pacientes com COVID-19 é importante para o melhor entendimento da imunopatogênese desta doença, podendo até estes, serem possíveis biomarcadores imunológicos de severidade/agravamento da doença. Sendo assim, esperamos demonstrar a relação dos receptores solúveis de TNF nos portadores de COVID-19 em diferentes desfechos clínicos.

5 OJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Verificar os níveis séricos dos receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) dos pacientes com COVID-19.

5.2 Objetivos específicos

- Avaliar os níveis de sTNFR1 e sTNFR2 em amostras de soro dos pacientes nos diferentes estágios clínicos da COVID-19;
- Verificar os níveis séricos sTNFR1 e sTNFR2 ao percentual de extensão do comprometimento do parênquima pulmonar dos pacientes com COVID-19;
- Avaliar se há correlação dos níveis séricos sTNFR1 e sTNFR2 com os aspectos laboratoriais (contagem de linfócitos, leucócitos, DHL, D-dímero, PCR e outros) dos pacientes com COVID-19;
- Avaliar se há correlação dos níveis de sTNFR1 e sTNFR2 entre si e nos diferentes estágios clínicos da COVID-19.

6 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA

6.1 Desenho e População do estudo

O estudo, do tipo comparação entre grupos, foi composto por 131 pacientes, onde o critério de inclusão foi paciente acima de 18 anos de idade, ter o diagnóstico positivo (por RT-PCR) para o SARS-CoV-2 e ter realizado a tomografia computadorizada do tórax. Os pacientes foram atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), situado em Recife-PE, internados no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) e na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), no período compulsório a partir de maio de 2020 até junho de 2021, e a amostra foi por conveniência. Onde os pacientes foram incluídos em três grupos:

- **Grupo A:** pacientes internados em enfermaria sem necessidade de suporte de O₂, (n=14);
- **Grupo B:** pacientes internados em enfermaria com necessidade de suporte de O₂, (n=85);
- **Grupo C:** pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI), (n=32).

Todos os pacientes incluídos no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e todas as informações acerca dos aspectos epidemiológicos (idade, gênero), clínicos (tempo de internamento, óbito) e laboratoriais (contagem de linfócitos, leucócitos, plaquetas, PCR, D-dímero, creatinina, DHL, ferretina e CPK) e de imagem (tomografia computadorizada do tórax) foram obtidos através do prontuário do paciente.

Para as análises utilizando a tomografia computadorizada do tórax, que afere o grau de acometimento pulmonar, foram divididos da seguinte forma:

- **Grupo 1:** pacientes leves, caracterizados com <25% de acometimento pulmonar;
- **Grupo 2:** pacientes moderados, caracterizados entre 25-50% de acometimento pulmonar;
- **Grupo 3:** pacientes graves, caracterizados com >50% de acometimento pulmonar;

A tabela 1 apresenta a caracterização dos aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e de imagem dos pacientes do estudo.

Tabela 1. Caracterização dos pacientes

	Total (n= 131)	Grupo A (n=14)	Grupo B (n= 85)	Grupo C (n=32)
Idade(anos)	52,3 (19-91)	54,8 (23-90)	53,7 (19-91)	53,4 (26-88)
Sexo				
Homens	69 (52,7%)	10 (71,4%)	38 (44,7%)	21 (65,6%)
Mulheres	62 (47,3%)	4 (28,6%)	47 (55,3%)	11 (34,4%)
Comorbidades				
Diabetes	32 (24,4%)	5 (35,7%)	19 (22,3%)	8 (25 %)
Hipertensão	67 (51,1%)	8 (57,1%)	43 (50,6%)	16 (50%)
Outras*	28 (21,3%)	4 (28,5%)	5 (5,8%)	21 (65,6%)
Óbitos	11 (8,4%)	0 (0,0%)	1 (1,1%)	10 (31,2%)
Sintomas				
Febre	76 (58,0%)	7 (50,0%)	55 (64,7%)	15 (46,8%)
Tosse	79 (60,3%)	6 (42,8%)	57 (67,0%)	16 (50,0%)
Dispneia/desconforto respiratório	88 (67,1%)	6 (42,8%)	65 (76,4%)	17 (53,1%)
Assintomáticos	3 (2,3%)	2 (14,2%)	0 (0,0%)	1 (3,1%)
Outros**	14 (10,6%)	1 (7,1%)	3 (3,5%)	10 (31,2%)
Acometimento pulmonar[#]				
<25%	28 (21,3%)	6 (42,8%)	16 (18,8%)	6 (18,7%)
25-50%	61 (46,5%)	4 (28,5%)	40 (47,0%)	17 (53,1%)
>50%	42 (32,0%)	4 (28,5%)	29 (35,3%)	9 (30,0%)

Fonte: A autora (2022) *neoplasia, obesidade, imunossuprimidos, doenças autoimune, doença crônicas; **dor de cabeça, astenia, distenia, mialgia, artralgia, anosmia, ageusia. [#]medido por tomografia computadorizada do tórax.

6.2 Confirmação da infecção por SARS-CoV-2

A confirmação da infecção foi realizada através do laudo emitido pelo Laboratório Central de Pernambuco (LACEN-PE) ou pelo Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (NUPIT-UFPE). Utilizando a técnica molecular, reação em cadeia da polimerase quantitativa, utilizando a transcriptase reversa, teste padrão ouro para detecção do SARS-CoV-2. Sendo o resultado positivo (detectável para coronavírus SARS-CoV-2) e negativo (não detectável para coronavírus SARS-CoV-2).

6.3 Coleta de Sangue

A coleta se procedeu da seguinte maneira, o sangue foi coletado por punção venosa em tubo seco de 4ml, após retração do coágulo, os tubos foram centrifugados a 900g por 10 minutos para obtenção do soro. As alíquotas de soro foram devidamente identificadas e encaminhadas para o Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto Aggeu Magalhães – IAM/Fiocruz-PE. Onde as amostras de soro foram armazenadas em microtubos de 2 mL a -20°C.

6.4 Quantificação de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) em soro

Os níveis de receptores sTNFR1 e sTNFR2 foram quantificados através do sistema *Cytometric Bead Array* (CBA) Flex, seguindo as instruções do fabricante (Beckton Dickson®, Nova Jersey, EUA), mas com adaptações. Primeiramente, 20 µL da mistura de *beads* de captura, marcadas com anticorpos monoclonais (anti-TNFR1, anti-TNFR2) foram transferidas para tubos de poliestireno (5mL) (BD Systems™) devidamente identificados. Em seguida, 20 µL das amostras (soro) foram adicionadas aos tubos e subsequentemente foram adicionados 20 µL do reagente de detecção contendo anticorpos anti-citocinas alvos conjugados à *Phycoerythrin* por 3h à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após a incubação, as *beads* foram lavadas e 150 µL de solução tampão foram adicionados para ressuspender às esferas. As *beads* foram adquiridas dentro de 24h utilizando o citômetro de fluxo FACScalibur (Beckton Dickson®, Nova Jersey, EUA) do Núcleo de Plataformas Tecnológicas do Instituto Aggeu Magalhães (CPqAM) / Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). As análises foram realizadas através do *Software* FCAP Array versão 3.01 (Beckton Dickson®, Nova Jersey, EUA).

6.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do software PRISM-GRAPHPAD 9.0 Windows® (E.U.A.). A apresentação das variáveis quantitativas foi realizada através de medidas de tendência central, como: média, mediana e desvio padrão. Inicialmente foi aplicado um teste de normalidade (D'Agostino-Pearson) onde foi verificado que os dados eram não paramétricos, posteriormente foi utilizado o Kruskal-Wallis para avaliar a associação entre os grupos. Verificada a associação, o teste Mann-Whitney foi utilizado para as comparações quantitativas dos receptores

entre os grupos. A avaliação das correlações foi realizada através do teste de correlação não-paramétrica de Spearman. As correlações são classificadas como fraca, quando r : 0,00 a 0,29; regular, quando r : 0,30 a 0,59; forte, quando r : 0,60 a 0,9 e muito forte quando r : 0,90 a 1,00 (JACQUES, 2003. p.90). Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5% e o intervalo de confiança de 95%.

7 RESULTADOS

7.1 ARTIGO – Níveis de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) aumentam de acordo com agravamento na COVID-19. O artigo será submetido para a revista *Immunobiology*.

Resumo

A grande produção de citocinas inflamatórias é um processo essencial na patogênese da COVID-19. O TNF é uma citocina pró inflamatória multifacetada, que possui receptores solúveis e membranares envolvidos na cascata imune em processos inflamatórios sistêmicos. Conhecer o papel desses receptores ajudará no melhor entendimento da imunopatogênese desta enfermidade. O objetivo do presente estudo foi verificar os níveis séricos dos receptores solúveis, sTNFR1 e sTNFR2, em pacientes com COVID-19. Foram incluídos 131 pacientes confirmados para o SARS-CoV-2, separados em três grupos: pacientes de enfermaria sem suporte de O₂, grupo A (14); pacientes de enfermaria com suporte de O₂, grupo B (85), e pacientes em unidade de terapia intensiva (UTI), grupo C (32), sendo os receptores dosados por CBA. Os resultados demonstraram que os sTNFR1 e sTNFR2, tem associação com gravidade da doença, encontrando-se em maiores valores nos pacientes com COVID-19 mais grave quando comparados com o estágio mais leve, podendo ser possíveis biomarcadores de progressão da doença. Quanto aos níveis dos receptores e sua relação com grau de acometimento pulmonar, encontramos maiores valores de sTNFR1 em pacientes com menor grau de acometimento, sugerindo que processos inflamatórios referentes ao TNF não estejam necessariamente associados ao local primário de infecção. Ao analisarmos o grupo de pacientes que foram a óbito em comparação com os recuperados, houve aumento significativo de ambos os receptores no grupo de óbitos. Esses achados sugerem uma importante influência dos receptores solúveis nos processos inflamatórios envolvidos na patogênese da COVID-19, portanto, sugerimos então a utilização desses receptores como biomarcadores de gravidade e mortalidade da doença.

Palavras-chave: COVID-19; Receptores; sTNFR1; sTNFR2; TNF; Biomarcador.

1 INTRODUÇÃO

A pandemia pelo vírus da síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2), que ocasiona a doença coronavírus 19 (COVID-19) segue sendo uma grande crise de saúde pública que vem se alastrando por todo o mundo desde seu início em 2019, na cidade de Whuan, na China. Até o momento, já afetou mais de 414 milhões de pessoas, acarretando uma mortalidade de mais de 5 milhões de pessoas ao redor do mundo (WHO, 2022).

Por ser uma doença altamente transmissível e danosa ao indivíduo, pesquisadores buscam entender os aspectos imunológicos da doença. Onde já há diversos estudos que associam a gravidade da doença a uma resposta descontrolada do sistema imune (LUCAS et al., 2020; MATHEW et al., 2020). A proliferação viral do SARS-CoV-2 no organismo, é responsável por uma elevação expressiva na produção de citocinas pró inflamatórias, evento conhecido como “tempestade de citocinas” (COPERCHINI et al., 2020; METHA et al., 2020; YE et al., 2020). Este evento, é uma resposta inflamatória não controlada e sistêmica, resultante produção e liberação em excesso de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, que iram colaborar para o agravamento do quadro clínico do indivíduo, podendo progredir para síndrome respiratória aguda grave (SRAG) e dano aos diversos tecidos. Vários são os estudos focados na busca de opções de tratamento e na identificação de possíveis biomarcadores (MALIK et al., 2021; PONTI et al., 2020; STASI et al., 2020).

O fator de necrose tumoral (TNF), é uma das citocinas pró-inflamatórias mais importantes para a defesa do hospedeiro e para a sobrevivência celular, atuando nos processos inflamatórios, lise tumoral, apoptose, imunomodulação e outros (CHU et al., 2013; CROFT et al., 2009; SEDGER et al., 2014). Sua ativação se dá através da ligação com dois receptores de superfície celular, o mTNFR1 e o mTNFR2. O TNFR1 é expresso na maioria dos tecidos e sua ação após ligação com TNF está relacionado à apoptose celular, e o TNFR2, tem expressão mais restrita às células imunes e sua sinalização é responsável pela sobrevivência celular (CHU et al., 2013; BREMER et al., 2013). Os receptores de superfície podem ser clivados originando os receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2), e são conhecidos como antagonistas naturais da ação do TNF, e consequentemente diminuem a resposta inflamatória induzida pelo TNF (VAN ZEE et al., 1992).

Conhecendo os eixos de sinalização TNF/TNFR1 e TNF/TNFR2 na COVID-19, torna-se possível montar estratégias farmacológicas para controlar a inflamação. Com relação aos receptores solúveis sTNFR1 e sTNFR2 e a COVID-19, os estudos são escassos e por vezes contraditórios. Algumas pesquisas relatam baixos níveis do receptor sTNFR1 em paciente com a COVID-19 (BRATRAJU et al., 2021; SINHA et al., 2020) e outros acreditam que há um aumento do sTNFR1 em pacientes com a COVID-19 (MCELVANEY et al., 2020; MORTAZ et al., 2021). E alguns poucos estudos relatam o papel dos dois receptores solúveis na COVID-19, afirmando que há aumento nos pacientes da doença e principalmente em seu estado mais grave (FERRANCHO et al., 2022; PALACIOS et al., 2021).

Contudo, avaliar os níveis dos receptores solúveis nos diferentes estágios clínicos da doença, além disso, nosso estudo é o primeiro que se propôs a avaliação dos níveis dos receptores solúveis com o grau de acometimento pulmonar dos pacientes. Tais resultados nos permitirão um melhor conhecimento da imunopatogenese da doença e serem estes possíveis biomarcadores de gravidade.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 População e local de estudo

Este estudo foi conduzido de acordo com as recomendações do comitê da ética do Hospital das Clínicas (UFPE) (CAAE: 30323620.1.3002.8807). Todos os sujeitos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de acordo com as diretrizes da Resolução CNS 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil. Foram selecionados 131 pacientes com diagnóstico positivo (por RT-PCR) com a COVID-19, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE). Após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foram coletados 4 mL de sangue, para obtenção do soro, identificadas e armazenadas a -20°C na soroteca do Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto Aggeu Magalhães – IAM/Fiocruz-PE. Os pacientes foram incluídos em três grupos: Grupo A: pacientes internados em enfermaria sem necessidade de suporte de O₂; Grupo B: pacientes internados em enfermaria com necessidade de suporte de O₂ e Grupo C: pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI).

Para as análises utilizando a tomografia computadorizada do tórax, que afere o grau de acometimento pulmonar, foram divididos da seguinte forma: Grupo 1: pacientes leves, caracterizados com < 25% de acometimento pulmonar; Grupo 2: pacientes moderados, caracterizados entre 25-50% de acometimento pulmonar; Grupo 3: pacientes graves, caracterizados com >50% de acometimento pulmonar. Dados demográficos, laboratoriais, de imagem, foram consultados através do prontuário do paciente (tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos pacientes

	Total (n= 131)	Grupo A (n=14)	Grupo B (n= 85)	Grupo C (n=32)
Idade(anos)	52,3 (19-91)	54,8 (23-90)	53,7 (19-91)	53,4 (26-88)
Sexo				
Homens	69 (52,7%)	10 (71,4%)	38 (44,7%)	21 (65,6%)
Mulheres	62 (47,3%)	4 (28,6%)	47 (55,3%)	11 (34,4%)
Comorbidades				
Diabetes	32 (24,4%)	5 (35,7%)	19 (22,3%)	8 (25 %)
Hipertensão	67 (51,1%)	8 (57,1%)	43 (50,6%)	16 (50%)
Outras*	28 (21,3%)	4 (28,5%)	5 (5,8%)	21 (65,6%)
Óbitos	11 (8,40%)	0 (0,0%)	1 (1,18%)	10 (31,2%)
Sintomas				
Febre	76 (58,0%)	7 (50,0%)	55 (64,7%)	15 (46,8%)
Tosse	79 (60,3%)	6 (42,8%)	57 (67,0%)	16 (50,0%)
Dispneia/desconforto respiratório	88 (67,1%)	6 (42,8%)	65 (76,4%)	17 (53,1%)
Assintomáticos	3 (2,3%)	2 (14,2%)	0 (0,0%)	1 (3,1%)
Outros**	14 (10,6%)	1 (7,1%)	3 (3,5%)	10 (31,2%)
Acometimento pulmonar[#]				
<25%	28 (21,3%)	6 (42,8%)	16 (18,8%)	6 (18,7%)
25-50%	61 (46,5%)	4 (28,5%)	40 (47,0%)	17 (53,1%)
>50%	42 (32,0%)	4 (28,5%)	29 (35,3%)	9 (30,0%)

*neoplasia, obesidade, imunossuprimidos, doenças autoimunes, doença crônicas; **dor de cabeça, astenia, distenia, mialgia, artralgia, anosmia, ageusia. [#]medido por tomografia computadorizada do tórax.

2.2 Quantificação de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) em soro por *Cytometric Bead Array* (CBA).

Os níveis de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) e TNF foram quantificados nas amostras de soro dos indivíduos através do sistema *Cytometric Bead Array* (CBA) *Human Flex*, seguindo as instruções do fabricante (Beckton

Dickson®, Nova Jersey, EUA). As *beads* foram adquiridas dentro de 24h utilizando o citômetro de fluxo FACScalibur (Beckton Dickson®, Nova Jersey, EUA) e analisadas através do *Software* FCAP Array versão 3.01 (Beckton Dickson®, Nova Jersey, EUA).

2.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do software PRISM-GRAPHPAD 9.0 Windows® (E.U.A.). A apresentação das variáveis mensuradas foi realizada através de medidas descritivas como: média, mediana e desvio padrão. Inicialmente foi aplicado um teste de normalidade (D'Agostino) onde foi verificado que os dados eram não paramétricos, posteriormente foi utilizado o Kruskal-Wallis para avaliar a associação entre os grupos. Verificada a associação, o teste Mann-Whitney foi utilizado para as comparações quantitativas dos receptores e citocina entre grupos. A avaliação das correlações entre foi realizada através do teste de correlação não-paramétrica de Spearman. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%.

3 RESULTADOS

3.1 Os receptores solúveis de TNF aumentam progressivamente com a gravidade da doença.

Ao observarmos os níveis dos receptores, verificamos que o sTNFR1 e sTNFR2 estão elevados nos grupos B e C quando comparados ao grupo A. No receptor sTNFR1 foi observado diferença estatística significativa entre os grupos A e C e entre os grupos B e C (figura 1A). E para o sTNFR2 foi observada o mesmo padrão, entre os grupos A e C e para os grupos B e C (Figura 1B). Aumentando assim de forma progressiva os receptores solúveis à medida que ocorre o agravamento da doença, para sTNFR1, as medianas em cada grupo foram, grupo A: 139; grupo B: 182 e grupo C: 397 e para o sTNFR2 foram, A: 3188; grupo B: 3601 e grupo C: 5058.

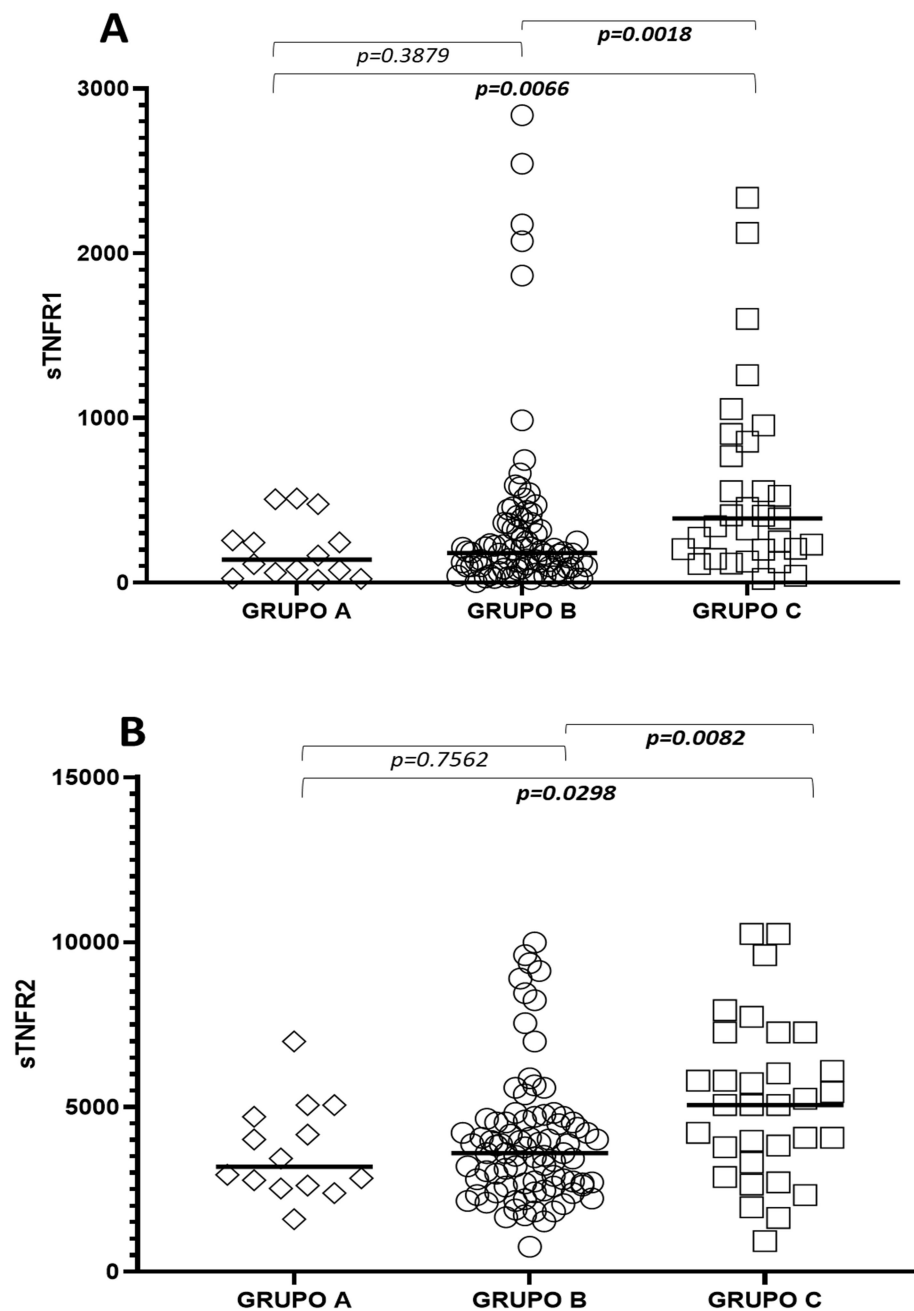


Figura 1. Concentração dos receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2) em soro de pacientes infectados por SARS-CoV-2. Legenda: Grupos A (n=14), B (n=85) e C (n=32). As linhas representam a mediana de cada grupo e as diferenças estatísticas são indicadas pelas barras sendo representadas valores de p , sendo significativo o $P < 0,05$.

3.2 Comportamento dos receptores solúveis nos diferentes níveis de acometimentos pulmonares.

Verificamos um aumento dos níveis séricos do receptor sTNFR1 no grupo 1, sendo observada a diferença estatística significativa entre os grupos 1 e 3 (figura 2).

Quando realizada as mesmas análises para o sTNFR2, não foi verificada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

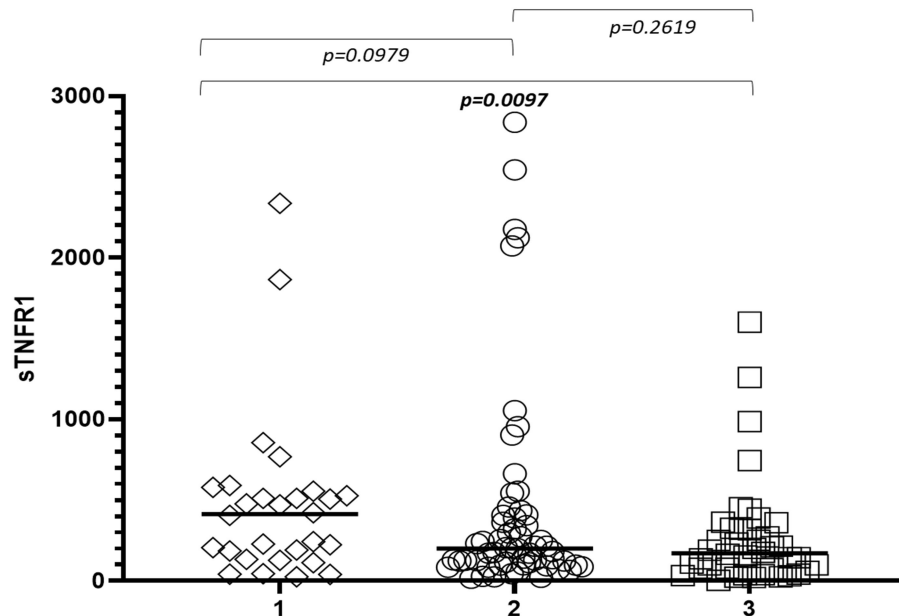


Figura 2. Concentração do receptor solúvel (sTNFR1) em soro de pacientes infectados por SARS-CoV-2 relacionado com o grau de acometimento pulmonar. Legenda: Grupos 1 (n=28), 2 (n=61) e 3 (n=42). As linhas representam a mediana de cada grupo e as diferenças estatísticas são indicadas pelas barras sendo representadas valores de p, sendo significativo o $P < 0,05$.

3.3 Relação entre os indivíduos que foram a óbito vs indivíduos recuperados da COVID-19 com os receptores solúveis.

Ao realizamos o teste para observar o comportamento dos receptores solúveis nos pacientes que se recuperaram e nos pacientes que foram a óbito pela COVID-19. Verificamos que houve aumento significativo de ambos os níveis dos receptores solúveis no grupo de pacientes que foram a óbito, quando comparados com os recuperados, observamos que para o sTNFR1 um $p = 0,0078$, onde a mediana do grupo recuperados é de 201,1 e do grupo óbitos é de 555,3 e para o sTNFR2, o $p = 0,0051$ onde a mediana do grupo recuperados é de 3801 e do grupo óbitos é de 5794.

3.4 Correlação positiva dos receptores solúveis nos diferentes estágios clínicos da COVID-19.

Ao avaliar a relação dos receptores com os diferentes estágios clínicos da COVID-19, foi observado a correlação positiva, nos grupos B e C, indicando que

quando há o aumento de sTNFR1 também aumenta o sTNFR2. No grupo A, não foi verificada correlação com os receptores (tabela 2)

Tabela 2: Correlação entre a concentração séricas de sTNFR1/TNFR2 nos diferentes estágios clínicos COVID-19

	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	r^*	p^{**}	r	p	r	p
sTNFR1x sTNFR2	0,23	0,4	0,53	<0,0001	0,60	0,0027

r^* : rank de Spearman; p^{**} : p value

3.5 Correlação positiva dos receptores solúveis com o tempo de internamento dos pacientes com a COVID-19.

Ao avaliar a correlação do tempo de internamento dos pacientes com COVID-19 e os receptores solúveis, observamos uma correlação positiva, ou seja, quanto maior o tempo de internamento do paciente maior é o aumento dos níveis dos receptores solúveis.

Tabela 3: Correlação entre a concentração séricas de sTNFR1/2 com o tempo de internamento dos pacientes com COVID-19

	Pacientes com COVID-19	
	r^*	p^{**}
sTNFR1x TI[#]	0,2920	0,0008
sTNFR2x TI[#]	0,3895	<0,0001

r^* : rank de Spearman; p^{**} : p value; TI[#]: tempo de internação

3.6 Correlação positiva dos receptores solúveis com dados laboratoriais.

Diversos foram os parâmetros laboratoriais analisados, entre eles contagem de linfócitos, contagem de leucócitos totais, contagem de plaquetas, D-dímero, PCR, DHL, CPK, creatinina, ferritina. Entretanto, para o sTNFR1 foi observado apenas correlação positiva com os níveis de creatinina e leucócitos e, para o sTNFR2, uma correlação positiva com a creatinina e o DHL.

Tabela 4: Correlação entre a concentração sérica de sTNFR1/TNFR2 com parâmetros laboratoriais dos pacientes com a COVID-19

	Pacientes com COVID-19	
	r*	p*
sTNFR1 x leucócitos	0,4	<0,0001
sTNFR1 x creatinina	0,27	0,0020
sTNFR2 x leucócitos	0,52	<0,0001
sTNFR2 x DHL	0,41	0,0005

r*: rank de Spearman; p*: *p value*;

4 DISCUSSÃO

Alguns estudos relataram que na COVID-19 há um aumento expressivo dos níveis séricos de TNF e que sua atividade pró inflamatória é marcante nos diferentes níveis da doença (leve, moderada e grave), favorecendo o processo de progressão para forma grave da doença, a síndrome respiratória aguda grave (SRAG) (CHEN et al., 2020; HU et al., 2021; HUANG et al., 2020; QIN et al., 2020). Portanto as vias de sinalização TNF/TNFR1 e TNF/TNFR2, possuem importância na defesa do hospedeiro, no desencadear e controle da inflamação e progressão na COVID-19 (AHMAD et al., 2021; LI et al., 2020). Nosso trabalho, buscou avaliar os receptores solúveis de TNF, que são descritos como possíveis bloqueadores naturais da ação do TNF, a fim de avaliar suas funções atuantes no auxílio ou inibição na atividade do TNF e se são possíveis biomarcadores imunológicos de gravidade e/ou prognóstico.

Nossos resultados demonstraram que os receptores sTNFR1 e sTNFR2, estão em níveis aumentados no grupo de pacientes que estavam com grau mais avançado da doença (grupo C), que estão na UTI, quando comparados com os grupos de pacientes com o quadro leve e com o quadro moderado, sem necessidade de UTI (grupos A e B, respectivamente). Este resultado indica que o aumento progressivo de ambos os receptores está relacionado, de alguma forma, com o agravamento da doença. Este aumento pode estar associado a diversos mecanismos inflamatórios, como por exemplo, a “tempestade de citocinas” que eleva os níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias (MANGALMURTI et al., 2020;

PEDERSON et al., 2020), como por exemplo, o TNF, e consequentemente eleva a produção dos seus receptores.

Estes resultados supracitados corroboram com os achados de Palacios et al., (2021) e Ferrando et al., (2022), que encontraram níveis elevados de ambos os receptores, principalmente no grupo de pacientes admitidos em UTI. Podemos então considerar ambos os receptores como possíveis biomarcadores de gravidade da doença, visto que nos grupos mais graves, houve uma elevação expressiva e estatisticamente significativa entre o grupo A x grupo C e entre grupo B x grupo C.

Outro achado de nosso estudo, que não observamos na literatura, foi o resultado da análise dos níveis dos receptores solúveis em comparação com o grau de acometimento pulmonar dos pacientes com a COVID-19. Verificamos que há um aumento dos níveis séricos do receptor sTNFR1 no grupo 1. Esse resultado indica que o aumento dos níveis de sTNFR1 não estão associados a um maior grau de acometimento pulmonar, já que o grupo de menor acometimento é quem possui os altos níveis do sTNFR1; podendo ser indicativo que a citocina TNF não está necessariamente associada ao processo inflamatório direto no tecido pulmonar (local de infecção primária), sendo que as vias de sinalização dos sTNFR's pode estar relacionadas a uma inflamação sistêmica, mediando a falência de órgãos distantes, ao invés de ser no local primário da inflamação. Corroborando assim com achados de Ferrando et al., (2022), entretanto avaliaram a atividade pulmonar através da insuficiência respiratória em termos de relação PaO₂ /FiO₂.

Ao analisarmos os desfechos clínicos de recuperados e óbitos da COVID-19 em relação aos níveis dos receptores solúveis, foi observado um aumento estatisticamente significativamente de ambos os níveis dos receptores solúveis, no grupo de pacientes que foram a óbitos, quando comparados com os pacientes recuperados. Sendo assim podemos indicar a utilização desses receptores que além de biomarcadores de gravidade, podem servir como biomarcadores de mortalidade. Nossos resultados estão de acordo com os estudos de Mortaz et al., 2021, que afirma que o aumento do sTNFR1 é um biomarcador para mortalidade e o estudo de Ferrando et al., 2022, que conclui que o marcador sTNFR1 e sTNFR2 foram preditores independentes de morte quando ajustados para idade e insuficiência respiratória.

Identificamos também uma correlação positiva na avaliação dos receptores com os diferentes estágios clínicos da COVID-19, nos grupos moderado e grave,

apresentou um aumento concomitante de ambos os receptores. Mas, quando visto para o grupo leve, não houve correlação entre os receptores. Fundamentando ainda mais nossa teoria da utilização dos receptores como biomarcadores de gravidade da doença.

Quanto ao tempo de internamento dos pacientes com COVID-19 e os receptores solúveis, foi observado que quanto maior o tempo de internação do paciente há um aumento dos níveis dos receptores solúveis, apresentando correlações positivas. Reforçando a hipótese de que pacientes que apresentam um quadro mais avançado da doença e consequentemente de inflamação, necessita de suporte hospitalar, já que há o aumento dos receptores/marcadores, permanecendo assim, mais tempo internado. Entretanto, este tempo de internação é necessário para que o paciente controle os processos de resposta inflamatória e se recupere da doença. O paciente que veio a óbito apresentou um aumento de ambos os marcadores.

Não observamos correlações com os marcadores laboratoriais PCR e D-dímero, corroborando nossos resultados com o estudo de Ferrando et al., 2022, além disso outro fator importante é a utilização de corticosteroides e anticoagulantes pelos pacientes, que podem ter influenciado as concentrações dos marcadores PCR e D-dímero, respectivamente (CUI et al., 2021; HAYIROĞLU et al., 2020) . Em relação à creatinina, marcador de atividade renal, identificamos uma correlação positiva com o sTNFR1, podendo este aumento ter relação com a insuficiência renal que alguns dos pacientes apresentam, entretanto não foi um parâmetro diretamente avaliado no nosso estudo. Mas, em estudo de Ferrando et al., 2022, o aumento dos receptores solúveis de TNF foi associado com uma progressão e desenvolvimento da insuficiência renal aguda, os autores sugerem novos estudos, para considerar esses receptores como possíveis alvos de tratamento.

Com relação a contagem de leucócitos, houve correlação positiva com ambos os receptores solúveis, entretanto não encontramos na literatura relação entre a contagem de leucócitos e os receptores solúveis de TNF. Ainda há contradições na literatura se na infecção pelo SARS-CoV-2, resulta em leucocitose (HENRY et al., 2020) ou leucopenia (HUANG et al., 2020).

E por fim, com relação ao DHL, foi observada uma correlação positiva com o sTNFR2. Diversos estudos relatam um aumento nos níveis de DHL em pacientes com COVID-19 (CHEN et al., 2020; LIU et al., 2020; WANG et al., 2020; ZHOU et al.,

2020) e outros estudos associaram esta variável a um maior risco de gravidade da doença e possível biomarcador de prognóstico para o desenvolvimento da síndrome respiratória aguda grave (SRAG) (HAN et al., 2020; LI et al., 2020). Entretanto nenhum estudo correlacionou o sTNFR2 com DHL, mas acreditamos que devido ao ambiente altamente inflamatório conduzido pela infecção do SARS-CoV-2, a infecção esteja influenciando os altos valores de ambos os marcadores. Visto que o DHL é importante no metabolismo da glicose que está presente em todos os tecidos e catalisa a conversão de lactato, que é liberado das células após dano de sua membrana citoplasmática. De fato, estudos relatam a importância do DHL como indicador de doenças pulmonares (CALDERÓN et al., 2010; LEE et al., 2012; MO et al., 2018).

Muitos estudos indicam o papel dos receptores de TNF como possíveis bloqueadores da ação da citocina TNF. Entretanto, observamos que ambos os receptores encontram-se elevados nos casos mais graves da doença, este dado sugere duas hipóteses que poderão ser avaliadas futuramente: a primeira, é que como já se é relatado altos níveis de TNF durante a infecção por coronavírus, pode estar havendo uma produção em massa e diretamente proporcional desses receptores solúveis, no objetivo de se ligar ao TNF e bloqueá-lo, ou, a segunda hipótese é que esses receptores solúveis estejam ativando alguns mecanismos inflamatórios não clássicos, que vai contribuir para a tempestade de citocinas e acarretará uma progressão negativa da doença.

Portanto, nossos dados indicaram que sTNFR1 e o sTNFR2 estão aumentados na condição clínica mais grave de COVID-19, sugerindo que ambos os receptores são possíveis biomarcadores de gravidade e mortalidade da infecção por SARS-CoV-2. Entretanto, estudos que busquem avaliar a presença dos receptores de superfície nas células são necessários para a comprovação de uma das nossas hipóteses levantadas e com isso, contribuir para um melhor entendimento da imunopatogênese da COVID-19.

Contribuições dos autores

Todos os autores contribuíram diretamente para o trabalho.

Agradecimentos

Os autores são agradecidos a todos os pacientes que se voluntariaram no estudo e Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Ao Instituto Aggeu Magalhães por todo suporte técnico-científico, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

Declaração de conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

Referências

- AHMAD, Suhana et al. The role of TNFR2+ Tregs in COVID-19: An overview and a potential therapeutic strategy. *Life Sciences*, v. 286, p. 120063, 2021.
- BHATRAJU, Pavan K. et al. Comparison of host endothelial, epithelial and inflammatory response in ICU patients with and without COVID-19: a prospective observational cohort study. *Critical Care*, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2021.
- BREMER, E. Targeting of the Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily for Cancer Immunotherapy. *ISRN Oncology*, v. 2013, p. 1–25, 2013.
- CALDERÓN, Enrique J. et al. Pneumocystis infection in humans: diagnosis and treatment. *Expert review of anti-infective therapy*, v. 8, n. 6, p. 683-701, 2010.
- CHEN, G. et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *Journal of Clinical Investigation*, v. 130, n. 5, p. 2620–2629, 2020.
- CHU, W. Tumor necrosis factors. *Cancer letters*, v. 328, p. 222–225, 2013.
- COPERCHINI, F. et al. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, v. 53, p. 25–32, 2020.
- CROFT, Michael. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nature Reviews Immunology*, v. 9, n. 4, p. 271-285, 2009.
- CUI, Zhu et al. Early and Significant Reduction in C-Reactive Protein Levels After Corticosteroid Therapy Is Associated With Reduced Mortality in Patients With COVID-19. *Journal of hospital medicine*, v. 16, n. 3, p. 142-148, 2021.
- FERRANDO, Elena Sancho et al. Soluble TNF receptors predict acute kidney injury and mortality in critically ill COVID-19 patients: A prospective observational

study. *Cytokine*, v. 149, p. 155727, 2022.

HAN, Yi et al. Lactate dehydrogenase, an independent risk factor of severe COVID-19 patients: a retrospective and observational study. *Aging (Albany NY)*, v. 12, n. 12, p. 11245, 2020.

HAYIROĞLU, Mert İlker; ÇINAR, Tufan; TEKKEŞİN, Ahmet İlker. Fibrinogen and D-dimer variances and anticoagulation recommendations in Covid-19: current literature review. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 66, p. 842-848, 2020.

HU, Biying; HUANG, Shaoying; YIN, Lianghong. The cytokine storm and COVID-19. *Journal of medical virology*, v. 93, n. 1, p. 250-256, 2021.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020.

HENRY, Brandon Michael et al. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, v. 58, n. 7, p. 1021-1028, 2020.

LEE, Ing-Kit et al. 2009 pandemic influenza A (H1N1): clinical and laboratory characteristics in pediatric and adult patients and in patients with pulmonary involvement. *Influenza and other respiratory viruses*, v. 6, n. 6, p. e152-e161, 2012.

LI, Xiaochen et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 146, n. 1, p. 110-118, 2020.

LIU, Jing et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*, v. 55, p. 102763, 2020.

LUCAS, C. et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*, v. 584, n. June, 2020.

MALIK, Preeti et al. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. *BMJ evidence-based medicine*, v. 26, n. 3, p. 107-108, 2021.

MANGALMURTI, N.; HUNTER, C. A. Cytokine Storms: Understanding COVID-19. *Immunity*, v. 53, n. 1, p. 19–25, 2020.

MATHEW, D. et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*, v. 369, n. 6508, 2020.

MCELVANEY, Oliver J. et al. Characterization of the inflammatory response to severe COVID-19 illness. *American journal of respiratory and critical care medicine*, v. 202, n. 6, p. 812-821, 2020.

MEHTA, P. et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, v. 395, n. 10229, p. 1033–1034, 2020.

MO, Xiaohui et al. Lactic acid downregulates viral microRNA to promote Epstein-Barr Virus-immortalized B lymphoblastic cell adhesion and growth. *Journal of Virology*, v. 92, n. 9, p. e00033-18, 2018.

MORTAZ, Esmaeil et al. Increased serum levels of soluble TNF- α receptor is associated with ICU mortality in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, v. 12, 2021.

PALACIOS, Yadira et al. Severe COVID-19 patients show an increase in soluble TNFR1 and ADAM17, with a relationship to mortality. *International journal of molecular sciences*, v. 22, n. 16, p. 8423, 2021.

PEDERSEN, S. F.; HO, Y. C. SARS-CoV-2: A storm is raging. *Journal of Clinical Investigation*, v. 130, n. 5, p. 2202–2205, 2020.

PONTI, Giovanni et al. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, v. 57, n. 6, p. 389-399, 2020.

QIN, C. et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 71, n. 15, p. 762–768, 2020.

SEDDER, L. M.; MCDERMOTT, M. F. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, v. 25, n. 4, p. 453–472, 2014.

SINHA, Pratik et al. Prevalence of phenotypes of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with COVID-19: a prospective observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*, v. 8, n. 12, p. 1209-1218, 2020.

STASI, Cristina et al. Treatment for COVID-19: An overview. *European journal of pharmacology*, v. 889, p. 173644, 2020.

QIN, C. et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 71, n. 15, p. 762–768, 2020.

VAN ZEE, K. J. et al. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor α in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 89, n. 11, p. 4845–4849, 1992.

WANG, Y. et al. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019

novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *Journal of Medical Virology*, v. 92, n. 6, p. 568–576, 2020.

WHO. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>>. Acesso em: 21 fev. 2022

YE, Q.; WANG, B.; MAO, J. The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19’. *Journal of Infection*, v. 80, n. 6, p. 607–613, 2020.

ZHOU, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 2020.

8 CONCLUSÕES

Nossa investigação sugere que os receptores solúveis estão envolvidos nos processos inflamatórios que compõe a imunopatogênese da COVID-19. Ambos os receptores (sTNFR1 e sTNFR2) elevam-se progressivamente ao decorrer de cada nível de gravidade da doença. E nos pacientes que foram a óbito, ambos receptores estão elevados tornando, assim, biomarcadores de gravidade e mortalidade. Há necessidade de maiores estudos sobre os receptores de TNF, principalmente os de membrana, para um melhor entendimento da atividade da citocina na infecção pelo SARS-CoV-2.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, Sasmita Poudel et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. **Infectious diseases of poverty**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2020.
- ALEXANDER, J. J. et al. TNF is a key mediator of septic encephalopathy acting through its receptor, TNF receptor-1. **Neurochemistry International**, v. 52, n. 3, p. 447–456, 2008.
- ADERKA, Dan et al. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. **The Journal of experimental medicine**, v. 175, n. 2, p. 323-329, 1992.
- AHMAD, Suhana et al. The role of TNFR2+ Tregs in COVID-19: An overview and a potential therapeutic strategy. **Life Sciences**, v. 286, p. 120063, 2021.
- ARSHAD, S. et al. Treatment with hydroxychloroquine, azithromycin, and combination in patients hospitalized with COVID-19. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 97, n. June 2020, p. 396–403, 2020.
- AXFORS, Cathrine et al. Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2021.
- BAI, H. X. et al. Performance of Radiologists in Differentiating COVID-19 from Non-COVID-19 Viral Pneumonia at Chest CT. **Radiology**, v. 296, n. 2, p. E46–E54, 2020.
- BOULWARE, D. R. et al. A Randomized Trial of Hydroxychloroquine as Postexposure Prophylaxis for Covid-19. **The New England journal of medicine**, v. 383, n. 6, p. 517–525, 2020.
- BRADLEY, J. TNF-mediated inflammatory disease. **Journal of Pathology**, v. 214, p.
- BHARDWAJ, Asha et al. COVID-19: immunology, immunopathogenesis and potential therapies. **International reviews of immunology**, p. 1-36, 2021.
- BHATRAJU, Pavan K. et al. Comparison of host endothelial, epithelial and

inflammatory response in ICU patients with and without COVID-19: a prospective observational cohort study. **Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2021.

BREMER, E. Targeting of the Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily for Cancer Immunotherapy. **ISRN Oncology**, v. 2013, p. 1–25, 2013.

CALDERÓN, Enrique J. et al. Pneumocystis infection in humans: diagnosis and treatment. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 8, n. 6, p. 683-701, 2010.

CARSWELL, E. A. et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, n. 9, p. 3666–3670, 1975.

CDC. **Coronavirus (COVID-19)**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/index.html>>. Acesso em: 25 set. 2020.

CHEN, G. et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 5, p. 2620–2629, 2020.

CHU, W. Tumor necrosis factors. **Cancer letters**, v. 328, p. 222–225, 2013.

COPERCHINI, F. et al. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 53, p. 25–32, 2020.

DAI, H. et al. Production of soluble tumor necrosis factor receptors and tumor necrosis factor- α by alveolar macrophages in sarcoidosis and extrinsic allergic alveolitis. **Chest**, v. 127, n. 1, p. 251–256, 2005.

DONOGHUE, M. et al. UltraRapid Communication A Novel Angiotensin-Converting Enzyme – Related to Angiotensin 1-9. **Circ Res**, v. 87, p. e1–e9, 2000.

DRI, P. et al. Role of the 75-kDa TNF receptor in TNF-induced activation of neutrophil respiratory burst. **Journal of Immunology**, v. 162, n. 1, p. 460–466, 1999.

FAUSTMAN, D. L.; DAVIS, M. TNF receptor 2 and disease: Autoimmunity and regenerative medicine. **Frontiers in Immunology**, v. 4, n. DEC, p. 1–8, 2013.

FELSENSTEIN, S. et al. COVID-19: Immunology and treatment options. **Clinical**

Immunology, v. 215, n. April, p. 108448, 2020.

FERRANDO, Elena Sancho et al. Soluble TNF receptors predict acute kidney injury and mortality in critically ill COVID-19 patients: A prospective observational study. **Cytokine**, v. 149, p. 155727, 2022.

GAO, Y. et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 7, p. 791–796, 2020.

GAUTRET, P. et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 56, n. 1, p. 105949, 2020.

GUPTA, S. A Decision between Life and Death during TNF - α -Induced Signaling. **Journal of Clinical Immunology**, v. 22, n. 4, 2002.

HABIBZADEH, P.; STONEMAN, E. K. The novel coronavirus: A bird's eye view. **International Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 11, n. 2, p. 65–71, 2020.

HAN, Yi et al. Lactate dehydrogenase, an independent risk factor of severe COVID-19 patients: a retrospective and observational study. **Aging (Albany NY)**, v. 12, n. 12, p. 11245, 2020.

HARAPAN, H. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 5, p. 667–673, 2020.

HENRY, Brandon Michael et al. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 58, n. 7, p. 1021-1028, 2020.

HOFFMANN, M. et al. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. 2020.

HU, Biying; HUANG, Shaoying; YIN, Lianghong. The cytokine storm and COVID-19. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 1, p. 250-256, 2021.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020.

ICTV. **Virus taxonomy: 2020 Release**. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>>. Acesso em: 20 set. 2020.

JÄÄSKELÄINEN, A. J. et al. Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISAs using coronavirus disease (COVID-19) patient samples. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 18, p. 1–8, 2020.

JACQUES, Callegari; SIDIA, M. Bioestatística: princípios e aplicações. In: **Bioestatística: princípios e aplicações**. 2003. p. 90.

JAMILLOUX, Yvan et al. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. **Autoimmunity Reviews**, p. 102567, 2020.

JIN, Y. et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. **Viruses**, v. 12, n. 4, p. 1–17, 2020.

KANBERG, N. et al. Neurochemical evidence of astrocytic and neuronal injury commonly found in COVID-19. **Neurology**, v. 95, n. 12, p. e1754–e1759, 2020.

KIM, Jae Seok et al. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. **Theranostics**, v. 11, n. 1, p. 316, 2021.

KIM, H.L. et al. Soluble Tumor Necrosis Factor Receptors and Arterial Stiffness in Patients with Coronary Atherosclerosis. **American Journal of Hypertension**, Nova Iorque, v. 30, n. 3, p.313-318, 2016.

KOTLYAR, Alexander M. et al. Transmissão vertical da doença por coronavírus 2019: uma revisão sistemática e meta-análise. **Revista americana de obstetrícia e ginecologia** , v. 224, n. 1, pág. 35-53. e3, 2021.

LEE, Ing-Kit et al. 2009 pandemic influenza A (H1N1): clinical and laboratory characteristics in pediatric and adult patients and in patients with pulmonary involvement. **Influenza and other respiratory viruses**, v. 6, n. 6, p. e152-e161, 2012.

LI, F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. **Annual Review of Virology**, v. 3, p. 237–261, 2016.

LI, Xiaochen et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 146, n. 1, p. 110-118, 2020.

LIU, Jing et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. **EBioMedicine**, v. 55, p. 102763, 2020.

LONG, Q. X. et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. **Nature Medicine**, v. 26, n. 8, p. 1200–1204, 2020.

LUCAS, C. et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. **Nature**, v. 584, n. June, 2020.

LUCAS, R. et al. Crucial role of tumor necrosis factor (TNF) receptor 2 and membrane-bound TNF in experimental cerebral malaria. **European journal of immunology**, v. 27, n. 7, p. 1719-1725, 1997.

LUNDBLAD, L. K. A. et al. Tumor necrosis factor- α overexpression in lung disease: A single cause behind a complex phenotype. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 171, n. 12, p. 1363–1370, 2005.

MACEWAN, D.J. TNF receptor subtype signalling: Differences and cellular consequences. **Cellular Signalling**, Oxford, v. 14, n. 6, p. 477-492, 2002.

MANGALMURTI, N.; HUNTER, C. A. Cytokine Storms: Understanding COVID-19. **Immunity**, v. 53, n. 1, p. 19–25, 2020.

MATHEW, D. et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. **Science**, v. 369, n. 6508, 2020.

MCELVANEY, Oliver J. et al. Characterization of the inflammatory response to severe COVID-19 illness. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 202, n. 6, p. 812-821, 2020.

MEHRA, M. R. et al. RETRACTED:Hydroxychloroquine or chloroquine with or without

a macrolide for treatment of COVID-19: a multinational registry analysis. **The Lancet**, v. 6736, n. 20, p. 1–10, 2020.

MEHTA, P. et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. **The Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1033–1034, 2020.

MIAO, Congliang et al. Early chest computed tomography to diagnose COVID-19 from suspected patients: A multicenter retrospective study. **The American Journal of Emergency Medicine**, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **CORONAVIRUS BRASIL**. Disponível em: <<https://covid.saude.gov.br/>>. Acesso em: 17 fev. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR); **SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E INSUMOS ESTRATÉGICOS EM SAÚDE**. Acurácia dos testes diagnósticos registrados para a COVID-19: versão 1. 2020.

MO, Xiaohui et al. Lactic acid downregulates viral microRNA to promote Epstein-Barr Virus-immortalized B lymphoblastic cell adhesion and growth. **Journal of Virology**, v. 92, n. 9, p. e00033-18, 2018.

MORTAZ, Esmail et al. Increased serum levels of soluble TNF- α receptor is associated with ICU mortality in COVID-19 patients. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021.

NEERUKONDA, S. N.; KATNENI, U. A review on sars-cov-2 virology, pathophysiology, animal models, and anti-viral interventions. **Pathogens**, v. 9, n. 6, 2020.

PALACIOS, Yadira et al. Severe COVID-19 patients show an increase in soluble TNFR1 and ADAM17, with a relationship to mortality. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 16, p. 8423, 2021.

PEDERSEN, S. F.; HO, Y. C. SARS-CoV-2: A storm is raging. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 5, p. 2202–2205, 2020.

PROMPETCHARA, Eakachai; KETLOY, Chutitorn; PALAGA, Tanapat. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. **Asian Pacific journal of allergy and immunology**, v. 38, n. 1, p.

1-9, 2020.

QIN, C. et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 71, n. 15, p. 762–768, 2020.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J. et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 34, n. February, 2020.

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

SALES-PERES, S. et al. Coronavirus (SARS-CoV-2) and the risk of obesity for critically illness and ICU admitted: Meta-analysis of the epidemiological evidence. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 14, n. January, p. 389–397, 2020.

SANTAYANA, George. **The life of reason: Introduction and reason in common sense**. mit Press, 2011.

SEDDER, L. M.; MCDERMOTT, M. F. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 25, n. 4, p. 453–472, 2014.

SEOW, J. et al. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. **MedRxiv**, p. 1–13, 2020.

SHENG, Y.; LI, F.; QIN, Z. TNF receptor 2 makes tumor necrosis factor a friend of tumors. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1–9, 2018.

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

SIEGMUND, D. et al. Activation of TNFR2 sensitizes macrophages for TNFR1-mediated necroptosis. **Cell Death and Disease**, v. 7, n. 9, p. 1–10, 2016.

SINHA, Pratik et al. Prevalence of phenotypes of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with COVID-19: a prospective observational study. **The Lancet**

Respiratory Medicine, v. 8, n. 12, p. 1209-1218, 2020.

SINGH, Awadhesh Kumar et al. Role of corticosteroid in the management of COVID-19: A systemic review and a Clinician's perspective. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 5, p. 971-978, 2020.

STEFANELLI, Paola et al. Whole genome and phylogenetic analysis of two SARS-CoV-2 strains isolated in Italy in January and February 2020: additional clues on multiple introductions and further circulation in Europe. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 13, p. 2000305, 2020.

SUN, J. et al. COVID-19: Epidemiology, Evolution, and Cross-Disciplinary Perspectives. **Trends in Molecular Medicine**, v. 26, n. 5, p. 483–495, 2020.

TAN, Li et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 5, n. 1, p. 1-3, 2020.

TANG, Y. et al. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 6, p. 1–9, 2020.

TAO, Kaiming et al. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. **Nature Reviews Genetics**, v. 22, n. 12, p. 757-773, 2021.

TAY, M. Z. et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 6, p. 363–374, 2020.

THEVARAJAN, I. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. **Nature Medicine**, v. 26, n. 4, p. 450–452, 2020.

TIAN, Y. et al. Review article: gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 51, n. 9, p. 843–851, 2020.

TISONCIK, J. R. et al. Into the Eye of the Cytokine Storm. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, n. 1, p. 16–32, 2012.

TU, H. et al. Current epidemiological and clinical features of COVID-19; a global perspective from China. **Journal of Infection**, v. 81, n. 1, p. 1–9, 2020.

VABRET, N. et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science.

Immunity, v. 52, n. 6, p. 910–941, 2020.

VAN DOREMALEN, N. et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. **The New England Journal of Medicine**, p. 0–3, 2020.

VAN ELSLANDE, Jan et al. Symptomatic severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) reinfection by a phylogenetically distinct strain. **Clinical Infectious Diseases**, v. 73, n. 2, p. 354-356, 2021.

VAN PAASSEN, Judith et al. Corticosteroid use in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis on clinical outcomes. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 1-22, 2020.

VAN ZEE, K. J. et al. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor α in vitro and in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 11, p. 4845–4849, 1992.

VASHIST, S. K. In vitro diagnostic assays for COVID-19: Recent advances and emerging trends. **Diagnostics**, v. 10, n. 4, 2020.

WANG, D. et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 11, p. 1061–1069, 2020a.

WANG, H. et al. The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 39, n. 9, p. 1629–1635, 2020b.

WANG, Y. et al. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 6, p. 568–576, 2020c.

WANG, Xiangdong; POWELL, Charles A. How to translate the knowledge of COVID-19 into prevention of Omicron variants. **Clinical and Translational Discovery**, v. 1, n. 1, p. e22, 2021.

WHO. **Coronavirus disease (COVID-19) pandemic**. Disponível em:

<<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>>. Acesso em: 17 fev. 2022.

WRAPP, D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. **Science**, v. 367, n. 6483, p. 1260–1263, 2020.

XANTHOULEA, S. et al. Tumor necrosis factor (TNF) receptor shedding controls thresholds of innate immune activation that balance opposing TNF functions in infectious and inflammatory diseases. **Journal of Experimental Medicine**, v. 200, n. 3, p. 367–376, 2004.

XIAO, K. et al. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. **Nature**, v. 583, n. 7815, p. 286–289, 2020.

YAN, Renhong et al. Base estrutural para o reconhecimento de SARS-CoV-2 por ACE2 humano de comprimento completo. **Science**, v. 367, n. 6485, pág. 1444-1448, 2020.

YANG, J. et al. Prevalence of comorbidities and its effects in coronavirus disease 2019 patients: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 94, p. 91–95, 2020.

YANG, Sujuan et al. Role of TNF–TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 784, 2018.

YE, Q.; WANG, B.; MAO, J. The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19’. **Journal of Infection**, v. 80, n. 6, p. 607–613, 2020.

ZHAI, P. et al. The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 5, 2020.

ZHANG, H. et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCov infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. 2020.

ZHANG, T.; WU, Q.; ZHANG, Z. Pangolin homology associated with 2019-nCoV. 2020.

ZHANG, Y. Z.; HOLMES, E. C. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 223–227, 2020.

ZHAO, J. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. **Clinical infectious diseases**, 2020.

ZHOU, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 2020.

ANEXO A- PARECER DE APROVAÇÃO NO CEP

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Prospecção de biomarcadores de evolução clínica do COVID-19

Pesquisador: Virginia Maria Barros de Lorena

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30323620.1.3002.8807

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.031.889

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto e emenda 1 analisados e aprovados pela CONEP. É um estudo prospectivo a ser realizado em 50 pacientes que apresentarem a COVID-19 com manifestações de leve a moderadas, caracterizados como Síndrome Gripal; 50 pacientes que apresentarem a COVID-19 com manifestações respiratórias graves, caracterizados como SRAG; 50 pacientes que vivem com o HIV e que apresentarem a COVID-19 com manifestações de leve a moderadas, caracterizados como Síndrome Gripal e 50 pacientes que vivem com o HIV e que apresentarem a COVID-19 com manifestações respiratórias graves, caracterizados como SRAG, internados e atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE.

Serão submetidos a coleta de 20ml de sangue para avaliação de linfócitos CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD24, CD25, CD27, CD38; concentração das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- e TNF e concentração das quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10.

Os resultados serão confrontados com avaliações clínicas de desfecho a serem obtidos dos prontuários:

- Dias de hospitalização;
- Admissão em unidade de terapia intensiva;
- Necessidade de suporte ventilatório;
- Achados radiológicos de radiografia de tórax;

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: cepchufpe@gmail.com