



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

CAMILA DE PAULA DUARTE DOS SANTOS

**COVID LONGA E ESCLEROSE MÚLTIPLA:
INVESTIGAÇÃO *IN SILICO* DE GENES DA DEGENERAÇÃO
NEURONAL**

Recife
2022

CAMILA DE PAULA DUARTE DOS SANTOS

**COVID LONGA E ESCLEROSE MÚLTIPLA:
INVESTIGAÇÃO *IN SILICO* DE GENES DA DEGENERAÇÃO
NEURONAL**

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

Orientadora: Profa. Dra. Danyelly
Bruneska Gondim Martins

Coorientadora: Dra. Rayssa Leal Borges
de Medeiros

Recife
2022

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

Santos, Camila de Paula Duarte dos.

Covid longa e esclerose múltipla: investigação in silico de genes da
degeneração neuronal / Camila de Paula Duarte dos Santos. - Recife, 2022.
49 p. : il., tab.

Orientador(a): Danyelly Bruneska Gondim Martins

Cooorientador(a): Rayssa Leal Borges de Medeiros

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2022.

Inclui referências, apêndices.

1. Bioinformática. 2. Coronavírus. 3. Redes. 4. Neurodegeneração. 5.
Proteínas. I. Martins, Danyelly Bruneska Gondim. (Orientação). II. Medeiros,
Rayssa Leal Borges de. (Coorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

CAMILA DE PAULA DUARTE DOS SANTOS

COVID LONGA E ESCLEROSE MÚLTIPLA:
INVESTIGAÇÃO *IN SILICO* DE GENES DA DEGENERAÇÃO
NEURONAL

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

Aprovada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dra. Danyelly Bruneska Gondim Martins
Departamento de Bioquímica/ Centro de Biociências - UFPE
Laboratório de Prospecção Molecular e Bioinformática/ Instituto Keizo Asami - UFPE

Prof. Dr. Roberto Afonso da Silva
Laboratório de Biotecnologia/ Instituto Keizo Asami - UFPE

Dr. Kleiton de Barros Borges
Neurologia/ Hospital das Clínicas - UFPE
Neurologia e Liquorologia/ Instituto Real Neurologia - Real Hospital Português

Dedico este trabalho à minha avó Lígia
(*in memoriam*), que teria adorado ter
minha foto de beca na sala dela.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meus pais, que sempre fizeram de tudo para que eu tivesse acesso à boa educação e a boas oportunidades, me apoiando com paciência durante a jornada: essa conquista é de vocês também. Também à minha família imediata: avós, tios e irmão que me deram suporte e palavras de incentivo.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Danyelly Bruneska, que é de longe uma das professoras mais legais que tive ao longo da vida. É um privilégio ser sua aluna, obrigada por me instigar a pensar sempre!

Agradeço à minha coorientadora, Dra. Rayssa Medeiros, que foi crucial para que esse trabalho saísse.

Ao meu grupinho de estudos, trabalho, risadas e comida desde o primeiro mês na faculdade: passar pelos trancos e barrancos do curso teria sido infinitamente mais difícil sem vocês.

Ao meu namorado, que nunca me deixa duvidar que tudo dará certo.

A meus amigos, espalhados por todos os cantos: Recife, Olinda, Paulista, Fortaleza, São Paulo, Rio de Janeiro, Nantes: vocês não têm noção de como me fazem feliz, obrigada por todas as vezes que me ouviram reclamar e alegraram-se comigo.

Minhas queridas, grupo rodoviário, paçocas: sou imensamente grata por tê-las conhecido.

Aos meninos, que me deram conforto e alegria no período de isolamento e depois dele também.

À Berenice, por todos os *ronrons* e pãozinhos amassados enquanto eu estudava.

Gostaria de agradecer a todos os professores que enriqueceram minha experiência enquanto graduanda na UFPE. Fico feliz por ter a oportunidade de aprender com tanta gente competente.

Por fim agradeço a mim, que escolhi o curso certo e fui muito feliz ao longo do processo. O melhor momento ainda está por vir.

*“We cried a lot, we laughed a lot, but it was all
pretty beautiful”*

(Moving on, BTS)

SANTOS, Camila de Paula Duarte. **Covid longa e esclerose múltipla:** investigação *in silico* de genes da degeneração neuronal. 2022. 49. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) — Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

RESUMO

À medida que a pandemia de COVID-19 atenua-se e os casos diminuem na maior parte do mundo, a atenção começa a se voltar para as consequências de uma infecção viral extremamente transmissível e com grande poder inflamatório. A COVID longa, também chamada de síndrome pós-covid, têm chamado a atenção pelo potencial impacto em pacientes e, consequentemente, nos sistemas de saúde. Com sintomas variados, essa manifestação tardia da doença apresenta-se com mais frequência na forma de sintomas neurológicos e respiratórios. A tempestade de citocinas, característica da COVID-19, pode envolver mecanismos moleculares inflamatórios como os que são ativados na fisiopatologia da esclerose múltipla, uma doença inflamatória autoimune que causa surtos com sintomas neurológicos como distúrbios sensoriais e comprometimento motor do paciente, podendo evoluir para neurodegeneração e consequente piora das manifestações clínicas. Diante disso, este trabalho objetivou analisar esses mecanismos moleculares comuns a ambas as doenças, avaliando uma possível influência da infecção pelo SARS-CoV-2 no contexto etiológico da esclerose múltipla. Essa avaliação computacional foi feita a partir da seleção de genes-alvo através de uma revisão de literatura, utilizando descritores relacionados à COVID longa, esclerose múltipla e expressão gênica. Após essa etapa de seleção, foram identificadas as redes de interação e a ontologia gênica, utilizando o banco de dados STRING. A quantidade de vértices nos clusters foi o parâmetro para identificações das interações mais relevantes entre os genes, bem como suas vias metabólicas e proteínas associadas. Os resultados das redes de interação baseadas nos genes apontaram redes associadas a mecanismos pós-transcricionais como "splicing", em especial aqueles associados à metilação da arginina. O complexo WDR77-PRMT5, parte do metilossoma, chamou atenção como um possível foco de estudos experimentais futuros. Espera-se que o presente trabalho seja um "highlight" para um maior entendimento da interação entre vias envolvidas na fisiopatologia da esclerose múltipla e da COVID-19, abrindo novos focos para trabalhos futuros.

Palavras-chave: Bioinformática. Coronavírus. Redes. Neurodegeneração. Proteínas.

SANTOS, Camila de Paula Duarte dos. **Long COVID and multiple sclerosis: *in silico* investigation of neuronal degeneration genes.** 2022. 49 Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

ABSTRACT

As the COVID-19 pandemic attenuates and cases decline in most parts of the world, attention is beginning to turn to the consequences of an extremely transmissible viral infection with great inflammatory power. Long-term COVID, also called post-covid syndrome, has attracted attention due to its potential impact on patients and, consequently, on health systems. With varied symptoms, this late manifestation of the disease most often presents itself in the form of neurological and respiratory symptoms. The cytokine storm, characteristic of COVID-19, may involve inflammatory molecular disorders such as those activated by the pathophysiology of multiple sclerosis, an autoimmune inflammatory disease that causes relapses with neurological symptoms such as sensory disturbances and motor impairment, progressing to neurodegeneration and consequent worsening of clinical manifestations. Therefore, this study aimed to analyze these molecular mechanisms common to both diseases, evaluating a possible influence of SARS-CoV-2 infection in the etiological context of multiple sclerosis. This computational evaluation was made from the selection of target genes through a literature review, using descriptors related to long-term COVID, multiple sclerosis and gene expression. After this selection stage, interaction networks and the gene ontology were identified, using the STRING database. The number of vertices in the clusters was the parameter for identifying the most relevant among the genes, as well as their metabolic pathways and proteins. The results of the gene based interaction networks pointed to networks associated with post-transcriptional control such as "splicing", in particular those associated with arginine methylation. The WDR77-PRMT5 complex, part of the methylosome, drew attention as a possible focus of future studies. It is expected that the present work will be a highlight for a greater understanding of the interaction between pathways involved in the pathophysiology of magnetic sclerosis and COVID-19, opening new focuses for future works.

Key words: Bioinformatics. Novel Coronavirus. Networks. Neurodegeneration. Proteins

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2 e detalhamento do genoma	17
Figura 2 - Ciclo viral da infecção à exocitose	19
Figura 3 - Expressão do ACE2 no organismo e sintomas da COVID-19 associados	22
Figura 4 - Ressonância magnética nuclear evidenciando lesões periventriculares em paciente com esclerose múltipla	25
Figura 5 - Triagem de genes da EM	30
Figura 6 - Triagem dos genes da COVID longa	30
Figura 7 - Rede de interação proteína-proteína a partir de genes superexpressos na lesão ativa da EM	31
Figura 8 - Rede de interação proteína-proteína a partir de genes superexpressos na lesão ativa da esclerose múltipla, após enriquecimento	32
Figura 9 - Análise de ontologia da rede da EM	33
Figura 10 - Análise de vias metabólicas da rede da EM	34
Figura 11 - Rede de interação proteína-proteína da COVID longa	35
Figura 12 - Análise de ontologia da rede da COVID longa	36
Figura 13 - Análise de vias metabólicas da rede da COVID longa	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2
ACOX1	Acyl-CoA oxidase 1
ACSS1	Acyl-CoA Synthetase Short Chain Family Member 1
ALDH9A1	Aldehyde Dehydrogenase 9 Family Member A1
BHE	Barreira hematoencefálica
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLNS1A	Chloride nucleotide-sensitive channel 1A
COVID-19	Coronavirus disease 19
CRBN	Cereblon
DDB1	Damage specific DNA binding protein 1
DDB2	Damage specific DNA binding protein 2
DMT	Disease Modifying Therapy
DMV	Double membrane vesicle
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECA2	Enzima conversora da angiotensina II
EHHADH	Enoyl-CoA hydratase and 3-Hydroxyacyl CoA dehydrogenase
EM	Esclerose Múltipla
EMPP	Esclerose Múltipla Primária Progressiva
EMPR	Esclerose Múltipla Primária Recorrente
EMRR	Esclerose Múltipla Remitente-Recorrente
EMSP	Esclerose Múltipla Secundária Progressiva
EPHX2	Epoxide Hydrolase 2
ERH	Enhancer of rudimentary homolog
ESPII	Emergência de saúde pública internacional
GG-NER	Global-genome nucleotide excision repair
GWAS	Genome-wide association study
Kb	Kilobase
MASP-2	Mannose-binding lectin associated serine protease 2
MDA5	Melanoma differentiation-associated protein 5
MERS-CoV	Middle East respiratory syndrome coronavirus
NER	Nucleotide excision repair
Nsp9	Nonstructural protein 9

Nsp13	Nonstructural protein 13
OMS	Organização Mundial da Saúde
PASC	Post-acute sequelae of COVID-19
pDC	Plasmacytoid dendritic cell
PHF5A	PHD Finger Protein 5A
PRMT5	Protein Arginine Methyltransferase 5
RBD	Receptor Binding Domain
RBX1	Ring-Box 1
RIG-1	Retinoic acid-inducible gene I
RLR	RIG-I-like receptor
RNA	Ribonucleic acid
RTC	Replication-transcription complex
SARS-CoV	Severe acute respiratory syndrome coronavirus
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SMN	Survival of motor neurons
SNC	Sistema nervoso central
snRNP	small nuclear ribonucleoproteins
SNRPA	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A
SNRPB	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide B
SNRPE	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide E
SNRPD2	Small nuclear ribonucleoprotein D2 polypeptide
SNRPD3	Small nuclear ribonucleoprotein D3 polypeptide
TC-NER	Transcription-coupled nucleotide excision repair
TLR	Toll-like receptor
TLR 3	Toll-like receptor 3
TLR 7	Toll-like receptor 7
TLR 8	Toll-like receptor 8
TMPRSS2	Transmembrane serine protease 2
VP	Vesicle packet
VOC	Variant of concern
WDR77	WD Repeat Domain 77
WES	Whole exome sequencing

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	COVID-19 e o SARS-COV-2	16
2.1.1	Ciclo da Infecção	18
2.2	FISIOPATOLOGIA	20
2.3	COVID-19 LONGA	21
2.4	ASPECTOS IMUNOLÓGICOS	23
2.4.1	Imunidade Inata	23
2.4.2	Imunidade Adaptativa	24
2.5	ESCLEROSE MÚLTIPLA	24
2.5.1	Imunidade na Esclerose Múltipla	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVOS GERAIS	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4	METODOLOGIA	28
4.1	SELEÇÃO DOS GENES	28
4.1.1	MSAtlas	28
4.1.2	Busca Bibliográfica	28
4.2	FORMAÇÃO DAS REDES	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1	FORMAÇÃO DAS REDES DA ESCLEROSE MÚLTIPLA	31
5.1.2	Clusters e Suas Vias Associadas	33
5.2	FORMAÇÃO DAS REDES DA COVID-19	35
5.2.1	Clusters e Suas Vias Associadas	36
5.3	MODIFICAÇÕES PÓS-TRANSCRICIONAIS	38
5.3.1	Genes da COVID Longa	38
5.3.2	Genes da Esclerose Múltipla	39
5.4	GENES ALVO E NEURODEGENERAÇÃO	39

6	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42
	APÊNDICES	
	APÊNDICE A - Lista final de genes da Esclerose Múltipla	49

1 INTRODUÇÃO

A pandemia de COVID-19, que até o presente momento já fez mais de 6,5 milhões de vítimas no mundo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2022), sendo mais de 685 mil destas apenas no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022), trouxe à boa parte dos infectados uma gama de sequelas pós-agudas, chamada de COVID longa, que não se limitam apenas àquelas relacionadas à capacidade respiratória. Diversos estudos vêm relatando pacientes com manifestações agudas e tardias da infecção envolvendo alterações neurológicas, como dores de cabeça (BOBKER e ROBBINS, 2021; PONCET-MEGEMONT et al., 2020); disfunções cognitivas (ALNEFEESI et al., 2020); ageusia e hipogeusia (GURROLA et al., 2021); encefalopatia (AL-RAMADAN et al., 2020; UGINET et al., 2021) e síndrome de Guillain-Barré (PALAIODIMOU et al., 2021; SEDAGHAT e KARIMI, 2020). Tais manifestações podem ocorrer devido a fatores como o elevado nível de citocinas circulantes pelo organismo, característica do quadro inflamatório provocado pela doença (NILE et al., 2020), até a um possível tropismo do SARS- CoV-2 pelo sistema nervoso central (SNC) (HUANG et al., 2020; CARDONA et al., 2020), envolvendo mecanismos que muitas vezes assemelham-se aos descritos em doenças neurodegenerativas (ELBINI DHOUIB, 2021).

A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória neurodegenerativa, onde há desregulação do sistema imune e falha dos mecanismos de reparo do SNC, caracterizada principalmente pela presença de placas de desmielinização na substância branca do cérebro (NOSEWORTHY et al., 2000), embora também ocorram danos na substância cinzenta (KLAVER et al., 2013). Os sintomas da EM variam desde distúrbios sensoriais, diplopia e neurite óptica unilateral na fase remitante-recorrente até mielopatia crônica progressiva, síndrome motora que afeta os membros inferiores, em tipos mais avançados da doença (NOSEWORTHY et al., 2000). O desenvolvimento da doença está associado à predisposição genética combinada a fatores ambientais diversos como estresse metabólico oxidativo e infecções virais

(NOSEWORTHY et al., 2000), ainda que a patogênese correspondente a todos esses aspectos não seja bem descrita.

Dessa forma, para melhor compreender a possível influência clínica da COVID longa na esclerose múltipla e também para identificar mecanismos similares entre as duas doenças, foi objetivado a identificação de genes superexpressos que possam atuar no dano neural contínuo das duas condições, levando aos sinais e sintomas neurológicos descritos na literatura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

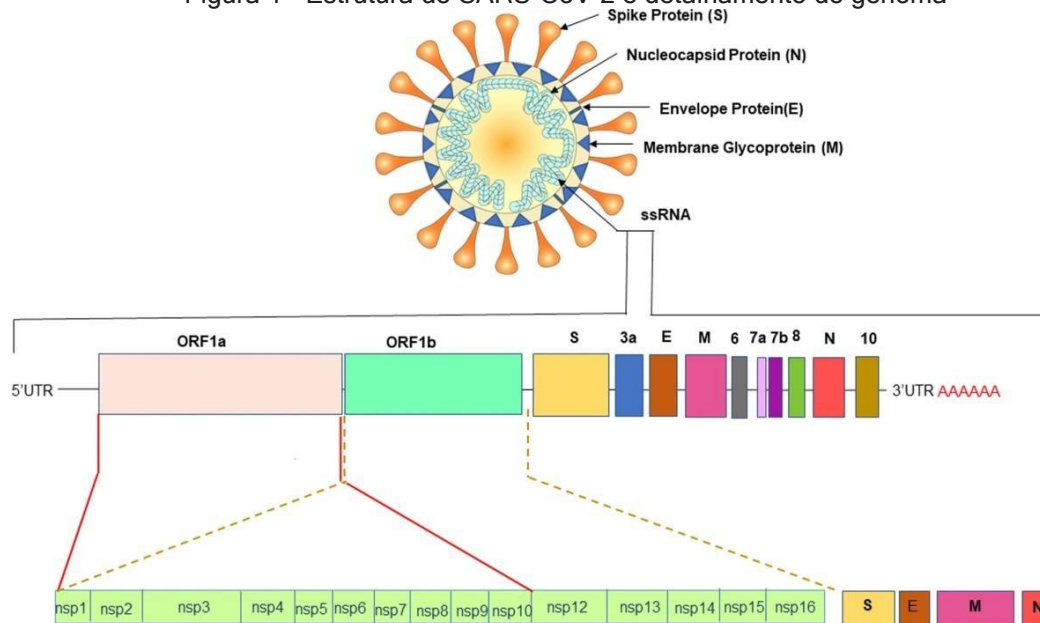
2.1 COVID-19 e o SARS-CoV-2

Em 7 de janeiro de 2020, após vários casos de pneumonia de causa desconhecida relatados em pacientes na cidade de Wuhan na China durante o mês de dezembro de 2019, autoridades chinesas confirmaram a identificação de um novo tipo de coronavírus, o SARS-CoV-2 (do inglês, *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) (ZHU et al., 2020). Três semanas depois, no dia 30 de janeiro de 2022, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou o surto como uma emergência de saúde pública internacional (ESPII) (OMS, 2020). Sendo o nível mais alto de alerta da OMS, a ESPII representa uma situação que pode constituir um risco para a saúde pública internacionalmente por conta de sua disseminação, podendo exigir uma resposta internacional coordenada. Tempos depois, em 11 de março do mesmo ano, a OMS caracterizou a COVID-19 (do inglês, *coronavirus disease 2019*) como uma pandemia (OPAS/OMS, 2022). Desde então, mais de 620 milhões de casos foram confirmados no mundo inteiro, com mais de 6,5 milhões de vítimas (OMS, 2022).

O SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, é parte da família *Coronaviridae*, que divide-se em duas subfamílias: *Coronavirinae* e *Torovirinae*, esta última raramente isolada em seres humanos. Os vírus dessa família são vírus de RNA de fita simples e positiva (+ssRNA), envelopados, com genomas que variam entre 25 e 32 quilobases (Kb) envoltos em nucleocapsídeo, e espículas proteicas proeminentes (Figura 1). (PAYNE, 2017).

Os coronavírus da sub-família *Coronavirinae* dividem-se em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus*. O SARS-CoV-2, o SARS-CoV e o MERS-CoV fazem parte do gênero betacoronavírus, cujo principal reservatório são os morcegos (PAYNE, 2017). Além disso, o SARS-CoV-2 está incluso no subgênero Sarbecovírus (HUO et al., 2021).

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2 e detalhamento do genoma



Fonte: Rastogi et al., 2020

A principal diferença entre o SARS-CoV-2 e outros sarbecovírus reside na glicoproteína S, que possui 1.273 aminoácidos e é diferente das proteínas S da maior parte dos sarbecovírus; especialmente no domínio de ligação ao receptor (RBD) e na junção das subunidades S1 e S2 da proteína, onde há inserção de quatro resíduos de aminoácidos (RRAR, subunidade rica em resíduos de arginina) que possibilitam a geração de um sítio de clivagem polibásica: o sítio de clivagem da furina (HUO et al., 2021). Tais diferenças podem ser a chave para os mecanismos virais que fazem do SARS-CoV-2 um vírus mais infectante que outros do gênero, especialmente o SARS-CoV (ALMEIDA et al., 2020).

O novo coronavírus possui genoma com cerca de 30 kilobases (kb) e codifica 29 proteínas que auxiliam na transcrição, replicação e empacotamento do vírus dentro das células infectadas (CAO et al., 2021). O genoma do SARS-CoV-2 é composto pelas estruturas cap na posição 5' e cauda poli-A na posição 3', genes que codificam proteínas não-estruturais (nsps) e dois genes de fase de leitura aberta (ORF) (do inglês, *Open Read Frame*) (Figura 1) (KIM et al., 2020). Além disso, possui genes que codificam as proteínas estruturais: S (codifica a proteína spike), E (codifica a proteína do envelope viral), M (codifica a proteína de membrana) e o N (codifica a

proteína do nucleocapsídeo), que irão favorecer a sua transmissão e infectividade (KIM et al., 2020).

Ao longo de toda a pandemia, o SARS-CoV-2 sofreu diversas mutações em seu genoma, e, felizmente, a maioria teve pouco impacto nas propriedades virais (OMS, 2022). No entanto, mutações específicas, principalmente localizadas no gene S, promovem maior impacto tanto no aumento da transmissibilidade e virulência quanto na redução da efetividade terapêutica. Dentre as variantes, as variantes de preocupação (VOC) (do inglês, *Variant of Concern*), definido pela OMS, são as da linhagens Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gama (P.1), Delta (B.1.617.2) e, atualmente, a Omicron (B.1.1.529), a qual possui as seguintes mutações monitoradas: +S:R346K, +S:L452X e +S:F486V.

Ademais, o Grupo de Advertências Técnicas em Evolução do Vírus SARS-CoV-2 da OMS reporta que as duas novas sublinhagens da Ômicron, BQ.1 e XBB, não são consideradas divergentes geneticamente de outras sublinhagens Ômicron, de modo que haja aumento do risco epidemiológico comparado às outras sublinhagens (OMS, 2022). No entanto, ainda é necessário o monitoramento e vigilância acerca do aumento da transmissão.

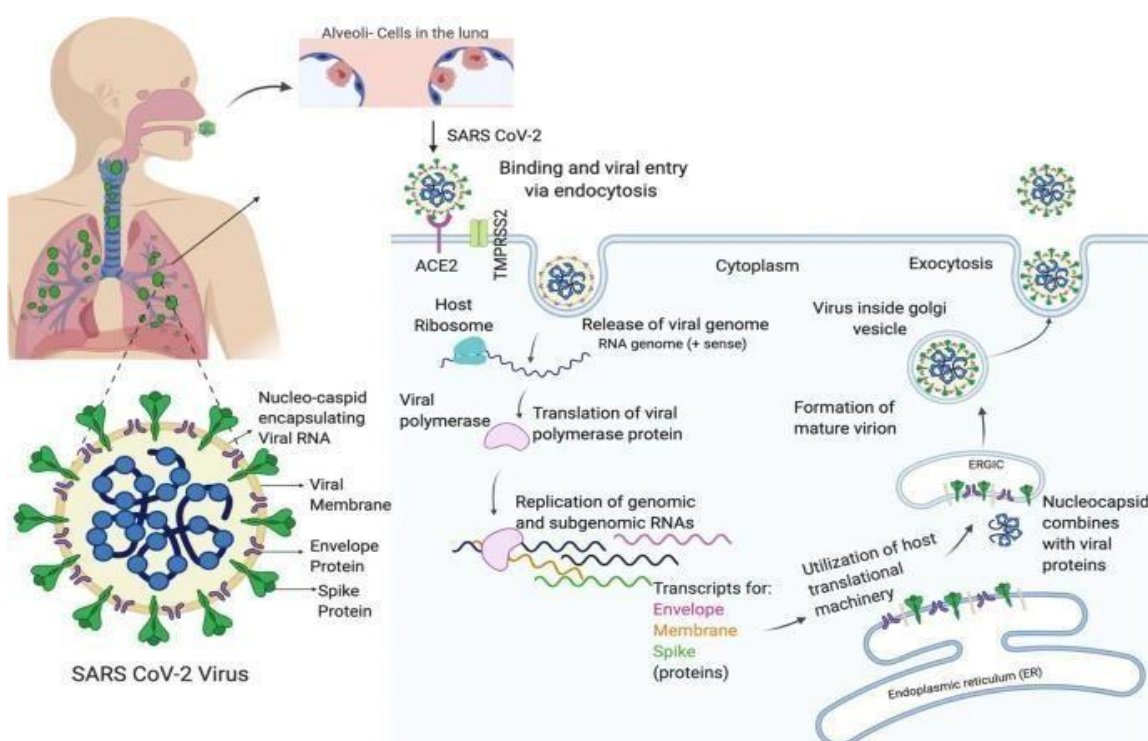
2.1.1 Ciclo da Infecção

A transmissão do vírus se dá principalmente pela exposição a fluidos respiratórios, através do ar, via inalação do vírus suspenso em aerossóis expelidos quando uma pessoa infectada expira, fala, tosse ou espirra (CDC, 2022). São relatadas também evidências de infecções via contato do vírus com as mucosas, inclusive oculares (QU et al., 2021). Uma vez no organismo, há ativação da rota endocítica por meio de proteases que clivam a proteína S do vírus, permitindo sua ligação ao receptor da enzima conversora da angiotensina 2 (ECA2, em inglês ACE2) da célula hospedeira. Uma dessas proteases é a TMPRSS2, que estudos já demonstraram ser altamente expressa junto com a ECA2 em células do trato respiratório: epitélio nasal, pulmonar e brônquico (HUO et al., 2021). Essa ligação, então, permite a entrada do vírus nas células e o estabelecimento da infecção após a liberação do RNA viral (Figura 2). A proteína S do SARS-CoV-2 possui mais

afinidade pela ECA2 humana se comparada à proteína S do primeiro SARS-CoV (KUBA et al., 2021).

Com a liberação do material genético do vírus no citoplasma da célula hospedeira e das proteases presentes no nucleocapsídeo, bem como das proteínas que participam do processo de replicação viral nsp12 (RNA polimerase), nsp13 (helicase) e nsp9 (RNA replicase); inicia-se a síntese de proteínas virais precursoras codificadas pelo genoma viral (ORF1a e ORF1ab), proteínas essas que, posteriormente, se tornarão as proteínas estruturais e não-estruturais necessárias para a replicação do genoma e formação de novos vírions. A organização do chamado complexo de replicação-transcrição (RTC) em vesículas de membrana dupla (DMVs) advindas da reorganização das membranas do retículo endoplasmático e o brotamento do nucleocapsídeo dentro do complexo de Golgi (Figura 2) fazem parte da fase final da formação dos vírions: DMVs fundem-se a vesículas (VPs - *vesicle packets*) e dessa fusão surgem as novas partículas virais (ALMEIDA et al., 2020). Essas novas partículas são liberadas no organismo via exocitose (Figura 2).

Figura 2: Ciclo viral da infecção à exocitose.



Fonte: Chakravarty et al., 2020.

2.2 FISIOPATOLOGIA DA COVID-19

Pode-se considerar a existência de quatro estágios na fisiopatologia da COVID-19: a) infecção e replicação viral, quadro geralmente assintomático; b) disseminação viral, quando os primeiros sintomas leves a moderados costumam aparecer; c) inflamação multissistêmica, caracterizada por uma apresentação mais agressiva dos sintomas; d) dano endotelial e trombose, estágio mais crítico, com alto índice de mortalidade. Os indivíduos que desenvolvem a forma leve da COVID-19 podem apresentar febre, tosse, dispneia, fadiga, dor no corpo e de cabeça, ageusia, anosmia, congestão nasal, coriza, náusea e vômitos, diarreia; e a infecção tende a se autolimitar (CORDON-CARDO et AL., 2020).

Caso haja evolução, chega-se no estágio da inflamação multissistêmica: sua característica mais marcante é a piora da dispneia e consequente hipóxia após uma ou duas semanas do início dos sintomas, mas quadros de desregulação na cascata de coagulação podem ocorrer, bem como elevação de marcadores subclínicos de dano aos órgãos; tudo isso associado a um estado hiperinflamatório causado por altos níveis circulantes de citocinas inflamatórias. No estágio crítico há lesão endotelial difusa e estados hiperinflamatório e hipercoagulatório severo, havendo chances de formação de trombos graças à disfunção microvascular sistêmica. Também são comuns as lesões renais e cardiovasculares, sintomas neurológicos e desequilíbrio metabólico. Pode ocorrer insuficiência respiratória e falência múltipla dos órgãos (CORDON-CARDO et AL., 2020).

No campo neurológico, os sintomas presentes na fase aguda podem estar relacionados à expressão da ACE2 em várias regiões do encéfalo, incluindo córtex motor, córtex cingulado posterior, substância negra, ventrículos, giro temporal médio, bulbo olfatório, nervo vago, núcleo do trato solitário e medula ventrolateral. Além disso, células do SNC tais quais neurônios, microglia, astrócitos e oligodendrócitos possuem expressão da ACE2, corroborando uma hipótese neuroinvasiva para a manifestação desses sintomas (GENEROSO et al., 2021). Na hipótese neuroinvasiva, são descritas várias rotas possíveis para que haja invasão viral, incluindo transferência transsináptica entre neurônios infectados, entrada pelo nervo

olfatório, infecção do endotélio vascular ou migração leucocitária através da barreira hematoencefálica (ZUBAIR et al., 2020). Acidentes vasculares cerebrais também têm sido descritos em pacientes infectados com a COVID-19, provavelmente fruto da seara multifatorial da resposta inflamatória gerada pela infecção mais os distúrbios coagulatórios resultantes dela (STEIN et al., 2021).

2.3 COVID-19 LONGA

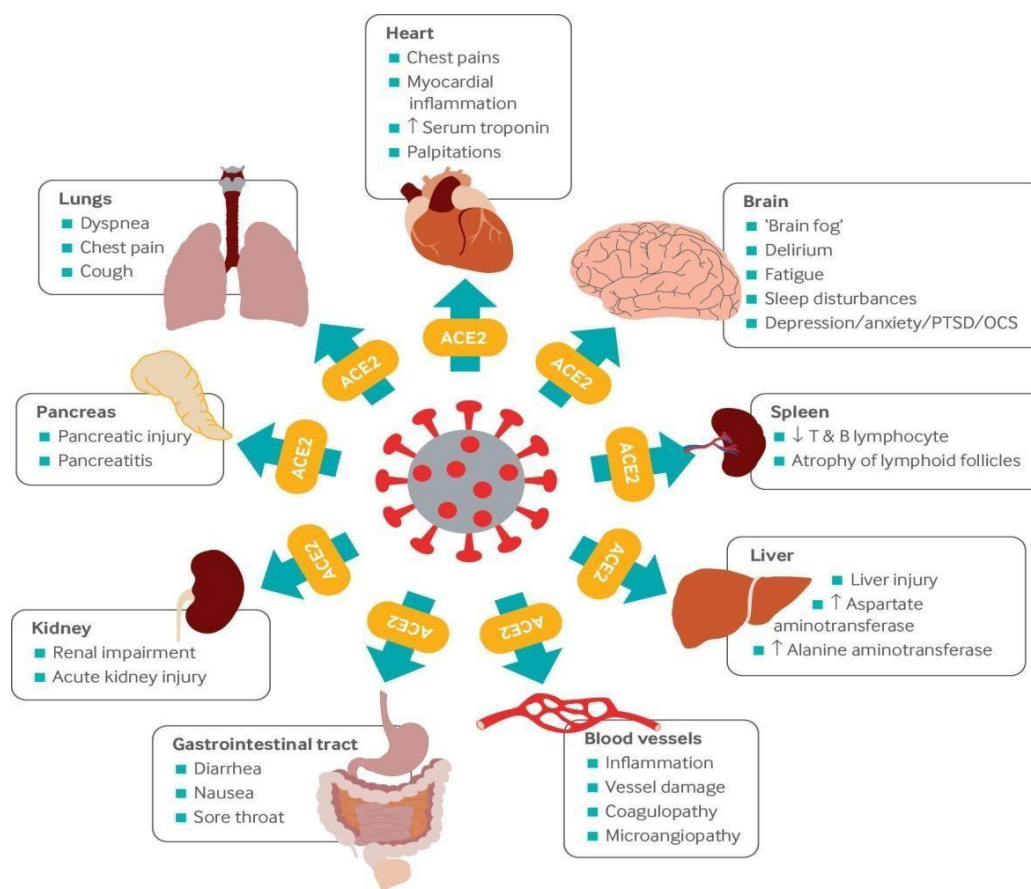
A COVID-19 longa (também chamada de síndrome pós-COVID, PASC — do inglês, *Post-acute sequelae of COVID-19* — ou condição pós-COVID-19), é a condição que ocorre em indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2, no qual possuem sintomas que duram pelo menos 2 meses e não pode ser explicado por diagnóstico alternativo (CDC, 2021; OMS, 2022). Os indivíduos com esse quadro podem apresentar disfunções funcionais e estruturais em vários órgãos (CROOK et al., 2021), muitos deles com expressão do ECA2 (Figura 3), sugerindo lesão tecidual direta como um dos mecanismos primários da infecção pelo SARS-CoV-2 (DESAI et al., 2022).

Vários sintomas foram reportados no quadro da COVID longa, podendo ser de ordem neuropsiquiátrica (dificuldades cognitivas, insônia, dores de cabeça, anosmia persistente, confusão mental e depressão); cardiorrespiratória (fadiga, tosse, dispneia, dor no peito); gastrointestinal (desconforto abdominal, diarreia, constipação, náusea e vômitos); musculoesquelética (mialgia, fraqueza, artralgia), dentre outros sintomas inespecíficos como *rash* cutâneo (Figura 3) (RAVEENDRAN et al., 2021). Um estudo aponta que a prevalência da PASC é estimada em 0,43 (95% CI: 0,39, 0,46) e que pode ser influenciada conforme o tempo desde a infecção, severidade da fase aguda, localização geográfica, assim como idade e sexo (LÓPEZ-LÉON et al., 2021).

Alguns fatores para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na COVID longa são a persistência viral sistêmica, dados os crescentes relatos acerca da presença do RNA viral em diferentes sítios do corpo humano a longo prazo; bem como a inflamação crônica relacionada a essa persistência e a associação desses pontos a fatores de risco como

distúrbios metabólicos como a Diabetes tipo II (SCHERER et al., 2022, SU et al., 2022). Também são levantadas as hipóteses da autoimunidade pós infecção viral (MASSEY et al., 2021) e da disbiose tanto do microbioma quanto do viroma (ZUO et al., 2021).

Figura 3: Expressão do ACE2 no organismo e sintomas da COVID-19 associados



Fonte: Crook et al., 2022

Necrópsias de pacientes vítimas da COVID-19 revelaram achados neurológicos que envolveram ativação imunológica no tronco encefálico, incluindo presença de astrócitos ativados, micróglia e infiltração de células T citotóxicas (SOLOMON, 2021). A desregulação imunológica causada pelo novo coronavírus pode vir a promover a ativação de patógenos neurotrópicos já adquiridos como os herpesvírus, de forma a promover sintomas persistentes. Além disso, inflamações que ativam a sinalização neuroimune do nervo vago podem ativar uma resposta espelho no tronco encefálico, com ativação glial e sintomas associados à essa resposta (PROAL e VANELZAKKER, 2021). Também é interessante salientar as consequências

neuroológicas advindas do dano causado à barreira hematoencefálica (BHE), considerando que a permeabilidade dela permite que células imunes periféricas e moléculas efetoras alcancem o SNC e, consequentemente, tenha um papel importante na patogênese de transtornos autoimunes neurológicos (GUSEV et al., 2022).

2.4 ASPECTOS IMUNOLÓGICOS

A patogênese da COVID-19 pode ser descrita por meio de três processos patológicos associados à inflamação: manifestações locais da inflamação, inflamação sistêmica aguda e inflamação sistêmica crônica de baixa intensidade. As estratégias patogênicas utilizadas pelo vírus podem ser divididas em três aspectos: reconhecimento dos receptores pelos vírus, supressão da resposta antiviral tanto das células alvo infectadas, quanto do sistema imune do hospedeiro e habilidade do vírus de desencadear um processo autoimune/autoinflamatório (GUSEV et al., 2022).

2.4.1 Imunidade Inata

Sendo o SARS-CoV-2 um vírus de RNA, há duas estratégias utilizadas para a sua detecção pela imunidade inata: via células imunes especializadas e via reconhecimento viral nas células infectadas. A primeira ocorre por meio da detecção do RNA viral nos endossomos através do Toll-like receptor 7 (TLR7) encontrado em pDCs (do inglês, *plasmacytoid dendritic cells*); Outros tipos celulares expressam TLR3 e TLR8 em seus endossomos que também são capazes de reconhecer RNAs de fita simples ou dupla. A segunda estratégia utiliza sensores citosólicos de RNAs tais quais RIG-I, MDA5 e RLRs para reconhecer RNAs de fita dupla intermediários durante o processo de replicação (MERAD et al., 2022). Ao desencadear a resposta imune após o reconhecimento da infecção, células da imunidade inatas tais como granulócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e NK são recrutadas; O sistema complemento também é ativado por meio da interação do nucleocapsídeo do SARS-CoV-2 com a MASP-2 (SHEN et al., 2022).

2.4.2 Imunidade Adaptativa

Na resposta adaptativa, o controle da infecção é feito através das células TCD4+ e TCD8+, essas últimas responsáveis por eliminar células infectadas. Células TCD4+ diferenciam-se em auxiliares e efetoras em resposta ao vírus, recrutando células da imunidade inata para, em conjunto com células B e TCD8+, direcionar a resposta ao SARS-CoV-2 e facilitar o reparo tecidual. Anticorpos também atuam nessa resposta, visando principalmente a proteína S. (SHEN et al.,2022)

2.5 ESCLEROSE MÚLTIPLA

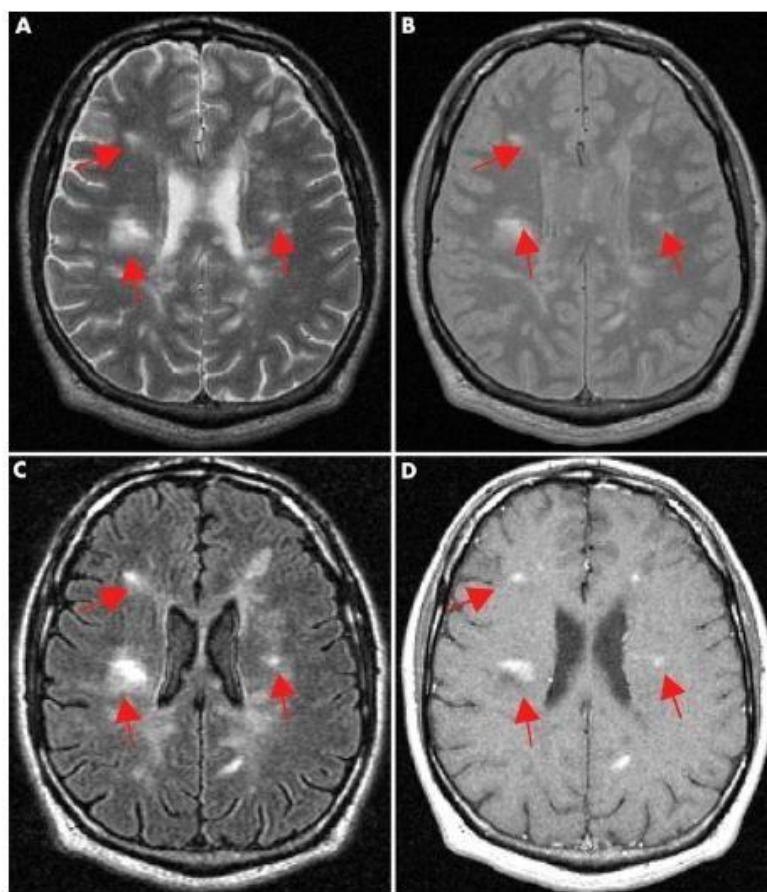
A esclerose múltipla (EM) (*Online Mendelian Inheritance in Man*, OMIM #126200) é uma doença autoimune crônica e neurodegenerativa caracterizada por vários níveis de danos à bainha de mielina, comprometendo o impulso nervoso no SNC (GOLDENBERG, 2012). De mecanismos etiológicos ainda não completamente esclarecidos, a doença usualmente se inicia entre 20 e 40 anos de idade, embora possa ser diagnosticada em qualquer momento da vida (NHS, 2022), é mais frequente em mulheres e reduz a expectativa de vida em cerca de 10-15 anos (BOMPRESZI et al., 2003). Os sinais e sintomas, altamente heterogêneos, envolvem manifestações como a fadiga, astenia, alterações visuais, baixa coordenação motora e dificuldades cognitivas (NHS, 2022). Estima-se que a incidência e prevalência da EM no Brasil seja de 8,69 novos casos a cada 100.000 habitantes (DA GAMA PEREIRA et al., 2015).

As placas de desmielinização caracterizam a doença, sendo mais comum sua ocorrência na substância branca do cérebro (Figura 4), embora possam haver lesões em outras áreas como córtex e núcleos da base, bem como danos mais difusos em substância branca aparentemente normal (LASSMAN et al., 2007).

A EM é subdividida em quatro tipos principais, conforme o desenvolvimentoda doença no organismo: a) Remitente-recorrente (EMRR), forma mais comum especialmente na fase inicial, há a ocorrência de fases de surtos onde os sintomas aparecem e de fases onde o indivíduo está clinicamente bem; b) Primáriaprogressiva (EMPP), tipo um pouco mais

raro, com piora gradual e lenta dos sintomas desde o início, sem surtos; c) Secundária progressiva (EMSP), normalmente ocorre como uma evolução do tipo remitente-recorrente ao longo do tempo, com piora constante nos sintomas e com possibilidade de surtos; d) Progressiva recorrente (EMPR), forma mais rara e com evolução rápida dos sintomas da doença desde o início, podendo haver surtos ou não (LOMA e HEYMAN, 2011). As lesões são descritas como placas de esclerose, e, quando ativas, aparecem na imagem de ressonância magnética nuclear como placas brancas que realçam o contraste (Figura 4) (TRIP e MILLER, 2005).

Figura 4: Ressonância magnética nuclear evidenciando lesões periventriculares em paciente com esclerose múltipla (setas vermelhas)



Fonte: Trip e Miller, 2005

2.5.1 Imunidade na Esclerose Múltipla

A resposta inflamatória é a principal causa do dano tecidual encontrado na EM, e a compartimentalização dessa resposta inflamatória pode ser a causa tanto da cronicidade quanto da característica progressiva da doença (LASSMAN et al., 2007). Dentre os mecanismos envolvidos na resposta

imune da EM, pode-se destacar o papel dúbio do fator nuclear kappa-beta possui que promove a inflamação por meio de sua ativação em células como astrócitos, microglia e macrófagos; e proteção no caso da ativação em oligodendrócitos e neurônios (YUE et al., 2018). Também destacam-se as linhas acerca do envolvimento das células B nesse processo, que além de infiltrarem-se nas meninges, contribuem com a quantidade elevada de citocinas e quimiocinas associadas à patogênese da EM no sangue periférico e no líquido de pacientes (CENCIONI et al., 2021).

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar, utilizando bancos de dados e ferramentas computacionais, as vias metabólicas e genes-alvo relacionados à Esclerose Múltipla que podem ser afetados no contexto da COVID-19 longa.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar genes diferencialmente expressos envolvidos nas fisiopatologiasda COVID longa;
- Selecionar genes diferencialmente expressos envolvidos nas fisiopatologiasda Esclerose múltipla;
- Analisar redes de interação de proteínas baseadas nos genes selecionados;
- Realizar análise funcional das redes de interação, relacionando ambas as fisiopatologias.

4 METODOLOGIA

4.1 SELEÇÃO DOS GENES

4.1.1 MSAtlas

Foram utilizados genes diferencialmente expressos obtidos por meio do banco de dados MSAtlas (<http://msatlas.compbio.sdu.dk/>), que compreende dados de expressão gênica obtidos a partir do sequenciamento de fragmentos *post-mortem* do cérebro de indivíduos com esclerose múltipla. Para obter os genes utilizados, foram escolhidos os parâmetros 'up' e 'active lesion'; 'down' e 'active lesion'. Após pesquisa de ontologia, foram filtrados genes não codificantes de proteínas seguida por busca de duplicatas visando eliminar genes diferencialmente expressos tanto para mais quanto para menos na mesma lesão ativa, sem resultados.

4.1.2 Busca Bibliográfica

Para selecionar os genes diferencialmente expressos da COVID-19 foi feita uma busca nos repositórios PubMed e Scielo, utilizando os descritores "GWAS and long covid"; "WES and long covid" e "transcriptome and long covid". Os critérios de inclusão foram: artigos com menos de 5 anos, metodologia experimental, estudos com amostras humanas. No Pubmed foram achados 5 artigos potencialmente úteis dentre 17 resultados e no Scielo nenhum. Foram excluídos artigos com conflito de interesse e metodologia não condizente com os critérios, restando apenas um artigo para estudo. Da triagem, obtivemos uma tabela com a expressão diferencial dos genes a partir de amostras de sangue colhidas em três períodos (*timepoints*) distintos da coorte acerca de COVID longa (12, 16 e 24 semanas após a infecção), totalizando 1980 genes (RYAN et al., 2022).

Após a filtragem inicial, realizada para manter apenas os genes codificantes de proteína, foram selecionados apenas genes presentes nos três períodos da coorte com o propósito de uniformizar genes que podem influenciar na COVID longa. Foram removidos ainda todos os genes codificantes de proteínas ribossomais, visto que a expressão desbalanceada

dessas proteínas pode ser resultado do aumentada expressão de proteínas que serão analisadas.

4.2 FORMAÇÃO DAS REDES

Para formar as redes de interação, foi utilizada a plataforma STRING (<https://string-db.org/>), que permite utilizar um input de genes ou proteínas para obter redes de interação funcional entre eles. A associação funcional ocorre quando duas proteínas contribuem para o mesmo processo celular, mesmo em casos de pares de proteínas antagonistas no mesmo processo, e é representada como arestas entre os vértices, que são as proteínas do input. O STRING utiliza um intervalo de valores entre zero e um como medida da significância da interação funcional entre duas proteínas em uma determinada via. Essa confiabilidade é baseada nas evidências de interação existentes computadas pela database por meio de métodos como associação com outras databases e mineração de texto (SZKLARCZYK et al., 2021).

Foram formadas redes de interação para os genes superexpressos de lesão ativa da EM e para os genes associados à COVID longa, separadamente. O score de confiança utilizado foi de 0.700 (alto) em todas as redes e o organismo especificado para *Homo sapiens*. A rede da EM foi enriquecida 3 vezes para ampliar as possibilidades de associação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na etapa de busca dos genes envolvidos na lesão ativa da Esclerose Múltipla a serem estudados, foi gerada uma tabela com 57 genes superexpressos e 56 genes subexpressos. Após pesquisa de ontologia, foram selecionados 40 genes superexpressos e 42 subexpressos (Figura 5; Anexo A).

Figura 5: Triagem de genes da Esclerose Múltipla, lesão ativa.



Fonte: a autora, 2022

Já para COVID-19, a filtragem inicial foi apresentada 1480 genes, mas após serem selecionados apenas genes presentes nos três períodos da coorte na COVID longa, restaram apenas 138 genes. A partir da remoção de genes codificantes de proteínas ribossomais, visto que a expressão desbalanceada dessas proteínas pode ser resultado do aumento da expressão de proteínas que serão analisadas, obteve-se 87 genes selecionados, sendo 84 superexpressos, enquanto apenas 3 foram subexpressos nos três *timepoints*. O baixo número de genes subexpressos identificados principalmente na COVID longa, comprometeria a análise, sendo assim optou-se por estudar apenas os genes superexpressos (Figura 6).

Figura 6: Triagem dos genes da COVID longa

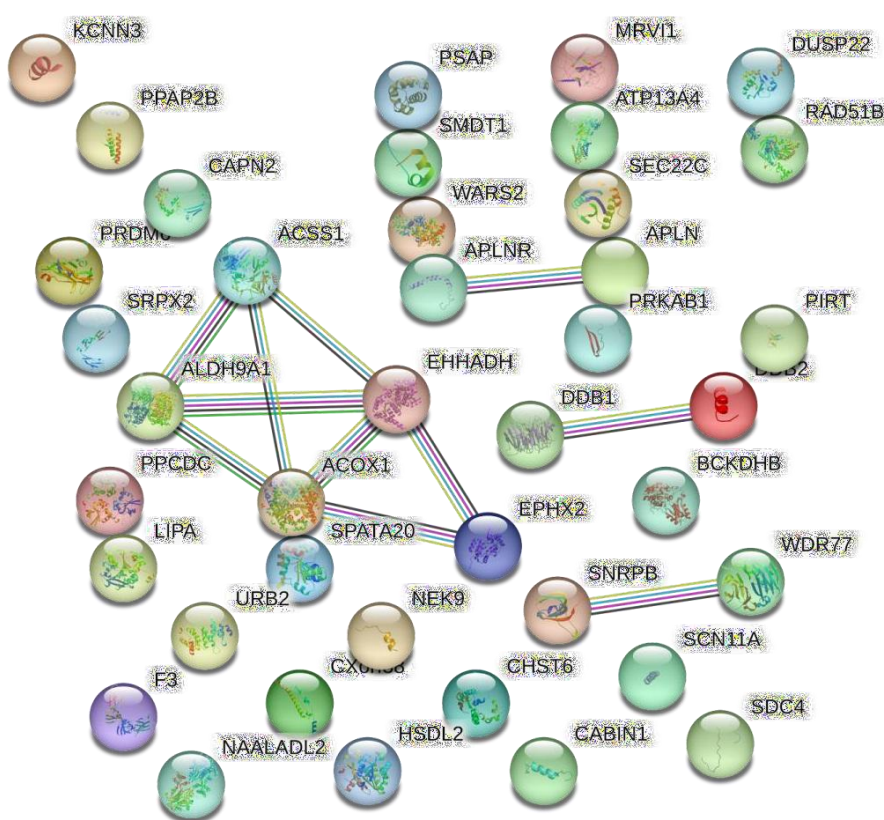


Fonte: a autora, 2022

5.1 FORMAÇÃO DAS REDES DA ESCLEROSE MÚLTIPLA

A partir dos genes da lesão ativa foram formadas quatro redes de proteínas a partir do input no STRING, sendo uma primária e uma enriquecida (Figuras 7 e 8). A rede primária, com 40 vértices, resultou em onze arestas de interação (Figura 7). Essas arestas relacionam-se especialmente ao metabolismo de lipídeos, como no cluster principal formado pelas proteínas ALDH9A1, EHHADH, ACOX1, ACSS1 e EPHX2. Nessa rede aparecem também duas interações: DDB1-DDB2 e SNRNPB-WDR77.

Figura 7: Rede de interação proteína-proteína a partir de genes superexpressos na lesão ativa da EM

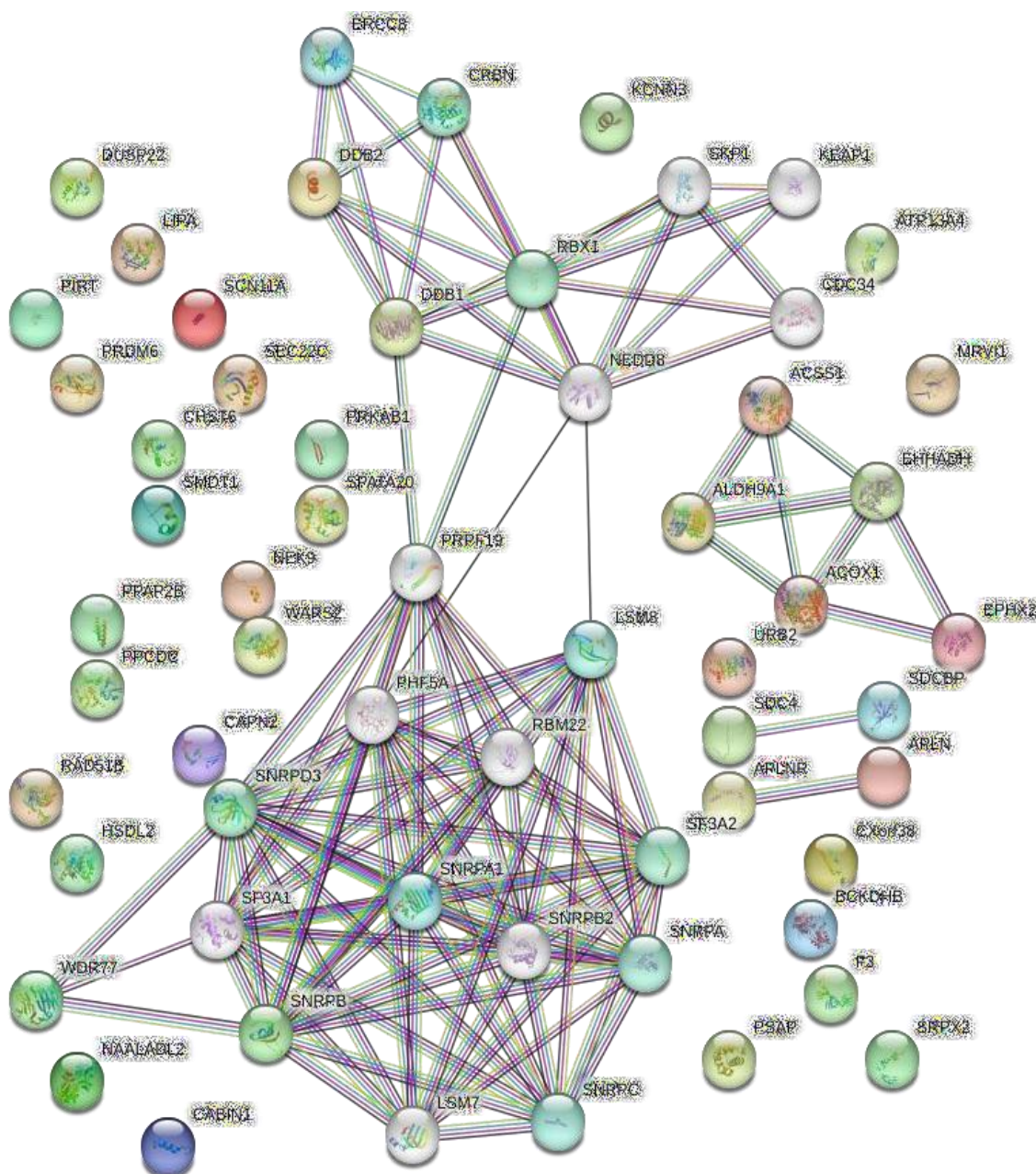


Fonte: a autora, 2022

Após o enriquecimento, totalizam-se 60 vértices e 111 arestas (Figura 8), ampliando os clusters formados a partir da interação entre DDB1 e DDB2 com CRBN e RBX1 e a partir da interação WDR77-SNRNPB com SNRPD3, SNRPA e SF3A2, clusters relacionados ao mecanismo de reparo por

excisão de nucleotídeos e ao metilossoma, respectivamente. O enriquecimento mostra ainda interação entre os clusters relacionados ao metilossoma e ao mecanismo de reparo, por meio da associação entre o PRPF19 com a RBX1 e a DDB1. Há ainda a presença de uma relação de coexpressão entre a NEDD8 (parte do cluster de reparo) com PHF5A e LSM8 (parte do cluster do metilossoma).

Figura 8: Rede de interação proteína-proteína a partir de genes superexpressos na lesão ativa da EM, após enriquecimento.



Fonte: a autora, 2022

5.1.2 Clusters e Suas Vias Associadas

A análise de ontologia gênica das redes de proteínas teve como principais processos biológicos aquelas relacionadas à processamento de RNA mensageiro (Figura 9). Destacando o spliceossomo, composto de cinco ribonucleoproteínas que junta éxons para formar o mRNA funcional (MATERA e WANG, 2014).

Figura 9: Análise de ontologia da rede da esclerose múltipla

Biological Process (Gene Ontology)				
GO-term	description	count in network	strength	false discovery rate
GO:1903241	U2-type prespliceosome assembly	2 of 3	2.34	0.0255
GO:0060183	Apelin receptor signaling pathway	2 of 3	2.34	0.0255
GO:1903553	Positive regulation of extracellular exosome assembly	2 of 4	2.21	0.0325
GO:0035518	Histone h2a monoubiquitination	3 of 18	1.74	0.0131
GO:0006293	Nucleotide-excision repair, preincision complex stabilization	3 of 21	1.67	0.0178
GO:0006295	Nucleotide-excision repair, dna incision, 3-to lesion	3 of 22	1.65	0.0194
GO:0000717	Nucleotide-excision repair, dna duplex unwinding	3 of 22	1.65	0.0194
GO:0000715	Nucleotide-excision repair, dna damage recognition	3 of 23	1.63	0.0206
GO:0000387	Spliceosomal snmp assembly	5 of 39	1.62	0.00041
GO:0070911	Global genome nucleotide-excision repair	3 of 26	1.58	0.0255
GO:0006294	Nucleotide-excision repair, preincision complex assembly	3 of 29	1.53	0.0313
GO:0006376	mRNA splice site selection	3 of 34	1.46	0.0434
GO:0000245	Spliceosomal complex assembly	4 of 60	1.34	0.0156
GO:0006513	Protein monoubiquitination	4 of 65	1.3	0.0194
GO:0006283	Transcription-coupled nucleotide-excision repair	4 of 75	1.24	0.0257
GO:0000398	mRNA splicing, via spliceosome	14 of 294	1.19	4.77e-09
GO:0006289	Nucleotide-excision repair	5 of 111	1.17	0.0112
GO:0022618	Ribonucleoprotein complex assembly	7 of 186	1.09	0.0016
GO:0010498	Proteasomal protein catabolic process	7 of 345	0.82	0.0255
GO:0043687	Post-translational protein modification	7 of 360	0.8	0.0313
GO:0022613	Ribonucleoprotein complex biogenesis	8 of 423	0.79	0.0166
GO:0044257	Cellular protein catabolic process	11 of 633	0.75	0.0020
GO:0051603	Proteolysis involved in cellular protein catabolic process	10 of 600	0.74	0.0072
GO:0016567	Protein ubiquitination	10 of 729	0.65	0.0211
GO:0034622	Cellular protein-containing complex assembly	11 of 816	0.64	0.0132
GO:0044265	Cellular macromolecule catabolic process	12 of 917	0.63	0.0084
GO:0009057	Macromolecule catabolic process	13 of 1058	0.6	0.0074
GO:1901565	Organonitrogen compound catabolic process	13 of 1070	0.6	0.0080
GO:1901575	Organic substance catabolic process	18 of 1750	0.53	0.0020
GO:0065003	Protein-containing complex assembly	13 of 1293	0.52	0.0313
GO:0090304	Nucleic acid metabolic process	21 of 2178	0.5	0.0015
GO:0044248	Cellular catabolic process	17 of 1758	0.5	0.0072
GO:0016070	RNA metabolic process	15 of 1584	0.49	0.0206
GO:0009056	Catabolic process	19 of 2042	0.48	0.0038
GO:0010467	Gene expression	18 of 2056	0.46	0.0116
GO:0006139	Nucleobase-containing compound metabolic process	23 of 2659	0.45	0.0016
GO:0046483	Heterocycle metabolic process	24 of 2840	0.44	0.0016
GO:0006725	Cellular aromatic compound metabolic process	24 of 2882	0.43	0.0016
GO:1901360	Organic cyclic compound metabolic process	25 of 3118	0.42	0.0016
GO:0034641	Cellular nitrogen compound metabolic process	26 of 3282	0.41	0.0016
GO:0006807	Nitrogen compound metabolic process	39 of 6852	0.27	0.0016
GO:0043170	Macromolecule metabolic process	35 of 6137	0.27	0.0072
GO:0044238	Primary metabolic process	41 of 7332	0.26	0.0016
GO:0071704	Organic substance metabolic process	42 of 7755	0.25	0.0016
GO:0008152	Metabolic process	44 of 8298	0.24	0.0016
GO:0044237	Cellular metabolic process	40 of 7513	0.24	0.0046
GO:0009987	Cellular process	57 of 15024	0.09	0.0344

Fonte: a autora, 2022

A análise de vias metabólicas, por sua vez, apontou o spliceossomo e mecanismos de regulação pós-transcricional relacionados, como o NER (Figura 10).

Figura 10: Análise de vias metabólicas da rede da EM

KEGG Pathways				
pathway	description	count in network	strength	false discovery rate
hsa00640	Propanoate metabolism	4 of 34	1.58	0.00060
hsa00410	beta-Alanine metabolism	3 of 29	1.53	0.0085
hsa03040	Spliceosome	13 of 132	1.51	1.46e-13
hsa04710	Circadian rhythm	3 of 30	1.51	0.0085
hsa03420	Nucleotide excision repair	4 of 46	1.45	0.0014
hsa00071	Fatty acid degradation	3 of 42	1.37	0.0169
hsa00280	Valine, leucine and isoleucine degradation	3 of 46	1.33	0.0190
hsa04120	Ubiquitin mediated proteolysis	8 of 135	1.29	2.04e-06
hsa00310	Lysine degradation	3 of 60	1.21	0.0353
(less ...)				
Reactome Pathways				
pathway	description	count in network	strength	false discovery rate
HSA-2644607	Loss of Function of FBXW7 in Cancer and NOTCH1 Signaling	2 of 5	2.12	0.0377
HSA-5696394	DNA Damage Recognition in GG-NER	3 of 38	1.41	0.0445
HSA-6781823	Formation of TC-NER Pre-Incision Complex	4 of 53	1.39	0.0093
HSA-72163	mRNA Splicing - Major Pathway	13 of 178	1.38	3.50e-11
HSA-6782210	Gap-filling DNA repair synthesis and ligation in TC-NER	4 of 64	1.31	0.0151
HSA-6782135	Dual incision in TC-NER	4 of 65	1.3	0.0151
HSA-5696398	Nucleotide Excision Repair	5 of 109	1.17	0.0093
HSA-8951664	Neddylation	7 of 229	1.0	0.0032
HSA-8953854	Metabolism of RNA	14 of 659	0.84	5.95e-06
(less ...)				

Fonte: a autora, 2022

O cluster do reparo por excisão de nucleotídeos (NER, do inglês *nucleotide excision repair*) possui 9 vértices e é associado ao mecanismo que reconhece e remove uma gama abrangente de lesões no DNA que afetam a hélice, como por exemplo lesões associadas à radiação UV, ligações cruzadas intrafita, dentre outras. Esse mecanismo possui dois meios de reconhecer as lesões: GG-NER (*global genome nucleotide excision repair*) é mais abrangente, procurando por lesões em qualquer parte do genoma por todo o ciclo celular e TC-NER (*transcription-coupled nucleotide excision repair*) o reparo é feito apenas na fita molde do DNA (KRASIKOVA et al., 2021). Do ponto de vista neurológico, a falha na função da NER e consequente dano ao DNA causam bloqueio transcricional, fenótipo comumente associado à neurodegeneração (KAJITANI et al., 2021).

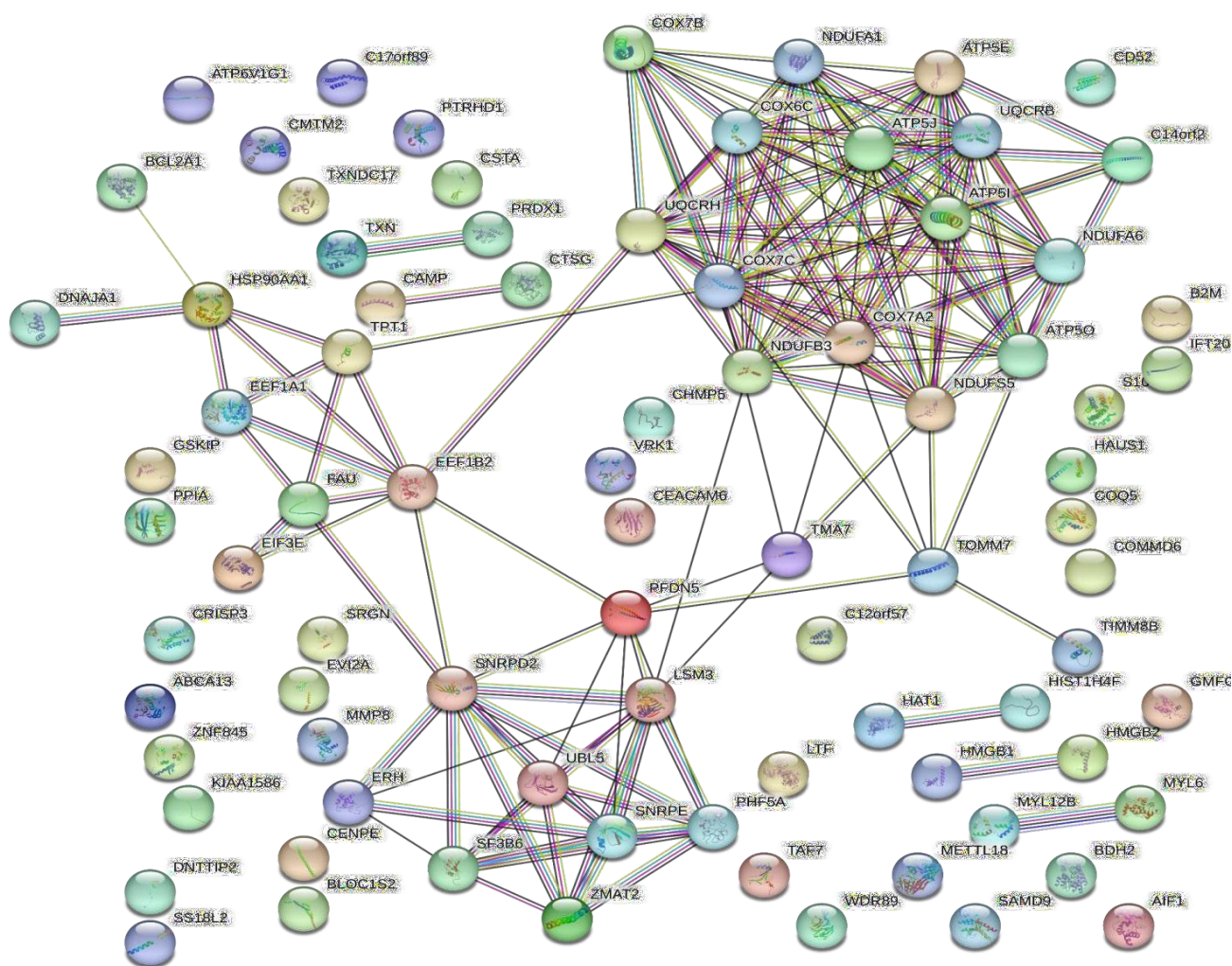
O maior cluster da rede, o do metilossoma, possui 14 vértices envolvidos. O metilossoma é definido como um complexo de proteínas grande (20S) com função de arginina metiltransferase, modificação pós-transcricional que age adicionando grupos metil às argininas

(dimetilargininas) nos domínios ricos em glicina de proteínas spliceossomais. Essas proteínas spliceossomais são direcionadas para o complexo SMN (do inglês, *survival of motor neurons*) de modo a participarem da composição das partículas da ribonucleoproteína nuclear pequena (snRNP, do inglês *small nuclear ribonucleoprotein*) (QuickGO, 2022). Algumas proteínas que integram o metilossoma são a JBP1 ou PRMT5, CLNS1A e WDR77 (QuickGO, 2022 e FRIESEN et al., 2001).

5.2 FORMAÇÃO DA REDE DA COVID LONGA

A rede da COVID longa resultou em 157 vértices partindo de 83 nodos (Figura 11) e não foi enriquecida pois o input de genes original já permitiu uma clusterização adequada para análise.

Figura 11: Rede de interação proteína-proteína da COVID longa



Fonte: a autora, 2022

Embora integrados, é possível identificar três clusters principais na rede: um partindoda interação EEF1A1-EEF1A2, mais à esquerda; um na parte inferior, partindo da interação SNRPD2-SBRPE-ERH e o último (e maior) no canto direito superior, partindo da associação ATP5E-ATP5J-ATP51. Todos eles apresentam associações entre si por meio de 3 genes ou mais.

5.2.1 Clusters e Suas Vias Associadas

A análise de ontologia gênica da rede da COVID (Figura 12) destacaprocessos mitocondriais, mecanismos pós-transcricionais e respostas imunológicas.

Figura 12: Análise de ontologia da rede da covid longa

Biological Process (Gene Ontology)				
GO-term	description	count in network	strength	false discovery rate
GO:0042776	Mitochondrial atp synthesis coupled proton transport	4 of 21	1.65	0.0015
GO:0006123	Mitochondrial electron transport, cytochrome c to oxygen	3 of 20	1.55	0.0216
GO:0042407	Cristae formation	4 of 31	1.48	0.0042
GO:0006119	Oxidative phosphorylation	14 of 118	1.45	4.32e-12
GO:0002227	Innate immune response in mucosa	3 of 26	1.43	0.0389
GO:0042775	Mitochondrial atp synthesis coupled electron transport	9 of 87	1.39	9.59e-07
GO:0019731	Antibacterial humoral response	5 of 59	1.3	0.0025
GO:0050832	Defense response to fungus	4 of 48	1.29	0.0147
GO:0006120	Mitochondrial electron transport, nadh to ubiquinone	4 of 49	1.28	0.0149
GO:0032981	Mitochondrial respiratory chain complex i assembly	5 of 66	1.25	0.0039
GO:0043388	Positive regulation of dna binding	4 of 59	1.2	0.0253
GO:0009060	Aerobic respiration	5 of 79	1.17	0.0073
GO:0033108	Mitochondrial respiratory chain complex assembly	6 of 102	1.14	0.0024
GO:0022900	Electron transport chain	10 of 174	1.13	8.78e-06
GO:1990542	Mitochondrial transmembrane transport	5 of 95	1.09	0.0143
GO:0050830	Defense response to gram-positive bacterium	6 of 119	1.08	0.0042
GO:0050829	Defense response to gram-negative bacterium	5 of 98	1.08	0.0149
GO:0007006	Mitochondrial membrane organization	6 of 137	1.01	0.0080
GO:0019730	Antimicrobial humoral response	6 of 160	0.95	0.0149
GO:0055076	Transition metal ion homeostasis	5 of 131	0.95	0.0430
GO:0006091	Generation of precursor metabolites and energy	15 of 405	0.94	9.59e-07
GO:0006839	Mitochondrial transport	8 of 225	0.92	0.0024
GO:0051099	Positive regulation of binding	6 of 175	0.91	0.0216
GO:0007005	Mitochondrion organization	15 of 452	0.89	2.07e-06
GO:0043312	Neutrophil degranulation	14 of 484	0.83	2.58e-05
GO:0002274	Myeloid leukocyte activation	15 of 585	0.78	2.61e-05
GO:0042742	Defense response to bacterium	7 of 277	0.78	0.0324
GO:0000398	mRNA splicing, via spliceosome	7 of 294	0.75	0.0434
GO:0002443	Leukocyte mediated immunity	15 of 641	0.74	5.52e-05
GO:0034622	Cellular protein-containing complex assembly	18 of 816	0.72	1.32e-05
GO:0045055	Regulated exocytosis	15 of 697	0.71	0.00015
GO:0045321	Leukocyte activation	16 of 929	0.61	0.00077
GO:0055114	Oxidation-reduction process	14 of 939	0.55	0.0104
GO:0065003	Protein-containing complex assembly	19 of 1293	0.54	0.00076
GO:0006812	Cation transport	13 of 881	0.54	0.0176
GO:0016310	Phosphorylation	17 of 1275	0.5	0.0062
GO:0043933	Protein-containing complex subunit organization	20 of 1539	0.49	0.0022
GO:0051649	Establishment of localization in cell	28 of 2375	0.44	0.00015
GO:0006955	Immune response	18 of 1588	0.43	0.0197
GO:0016192	Vesicle-mediated transport	20 of 1805	0.42	0.0128
GO:0051641	Cellular localization	31 of 2967	0.39	0.00033
GO:0022607	Cellular component assembly	23 of 2359	0.36	0.0180
GO:0006996	Organelle organization	30 of 3450	0.31	0.0115
GO:0006810	Transport	37 of 4353	0.3	0.0022
GO:0051179	Localization	41 of 5591	0.24	0.0123
GO:0016043	Cellular component organization	39 of 5447	0.23	0.0281
GO:0008152	Metabolic process	53 of 8298	0.18	0.0147

Fonte: a autora, 2022

Já na análise de vias metabólicas (Figura 13), também pode-se observar mecanismos de regulação da transcrição e, assim como na rede da EM, o spliceossomo aparece como um dos mecanismos associados.

Figura 13: Análise de vias metabólicas da rede da COVID longa

KEGG Pathways				
pathway	description	count in network	strength	false discovery rate
hsa00190	Oxidative phosphorylation	15 of 130	1.43	1.33e-14
hsa04260	Cardiac muscle contraction	6 of 87	1.21	0.00010
hsa04932	Non-alcoholic fatty liver disease	10 of 148	1.2	6.99e-08
hsa04714	Thermogenesis	14 of 229	1.16	2.80e-10
hsa05012	Parkinson disease	14 of 240	1.14	3.41e-10
hsa05020	Prion disease	13 of 265	1.06	1.26e-08
hsa03040	Spliceosome	6 of 132	1.03	0.00088
hsa05016	Huntington disease	13 of 298	1.01	4.01e-08
hsa05014	Amyotrophic lateral sclerosis	13 of 352	0.94	1.99e-07
hsa05010	Alzheimer disease	13 of 355	0.94	1.99e-07
hsa01100	Metabolic pathways	17 of 1447	0.44	0.0034
(less ...)				
Reactome Pathways				
pathway	description	count in network	strength	false discovery rate
HSA-163210	Formation of ATP by chemiosmotic coupling	4 of 18	1.72	0.00089
HSA-8949613	Cristae formation	4 of 31	1.48	0.0044
HSA-163200	Respiratory electron transport, ATP synthesis by chemiosm...	13 of 125	1.39	4.30e-11
HSA-611105	Respiratory electron transport	9 of 101	1.32	6.53e-07
HSA-6799198	Complex I biogenesis	4 of 55	1.23	0.0272
HSA-5628897	TP53 Regulates Metabolic Genes	5 of 87	1.13	0.0119
HSA-6798695	Neutrophil degranulation	14 of 473	0.84	8.24e-06
HSA-168249	Innate Immune System	16 of 1025	0.57	0.0022
(less ...)				

Fonte: a autora, 2022

O menor cluster, que parte da associação EEF1A1-EEF1B2, é associado principalmente ao *eukaryotic translation elongation factor 1* (eEF1) complex, proteína celular abundante que age no transporte de aa-tRNAs para o sítio A ribossomal. O eEF1 também participa da propagação viral graças à interação com vírus RNAsense por meio da associação à região terminal 3' C do RNA viral (SASIKUMAR, et al., 2012). O maior cluster é associado ao *mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex*, componente celular encontrado na membrana mitocondrial (QuickGO, 2022).

Já o cluster que inclui as proteínas SNRPDE-ERH-SNRPE é associado ao metilossoma, complexo que apareceu associado também à rede da EM. No contexto da COVID, o metilossoma aparece em estudos que associam essa molécula ao ciclo infeccioso principalmente com as PRMTs (*protein arginine methyltransferase*), que catalisam a formação de três tipos de

compostos de metilarginina: ADMA, SDMA e MMA; como ocorre nos estudos feitos por Li, Cai e colaboradores (LI et al., 2022;CAI et al., 2021).

5.3 MODIFICAÇÕES PÓS-TRANSCRICIONAIS

Os snRNPs, parte do processo de splicing do pré mRNA, são compostos por sete proteínas Sm que unem-se no citoplasma em uma estrutura de anel nos pequenos RNAs nucleares (snRNAs) (FRIESEN et al., 2001). Esses snRNAs e todo o complexo molecular envolvendo-os são responsáveis pelas alterações pós- transcricionais envolvendo precursores do mRNA: íntrons são removidos deles e éxons são unificados para que as versões funcionalmente maduras do mRNA possam dar curso ao processo de codificação de proteínas (MORAIS et al., 2021), como estabelecido no dogma central da biologia molecular. É durante essa regulação pós-transcricional que pode ocorrer através de mecanismos como splicing, Cap 5' e adição da cauda poli-A (ref), envolvendo moléculas como RBPs (*RNA binding proteins*), proteínas ribossomais (RPs), micro-RNAs (miRNAs) e *long non-coding RNAs* (lncRNAs) (Popovitchenko e RASIN, 2017); que o metilossoma aparece. Embora ainda pouco descrito, já se sabe através de estudos que o metilossoma aparece em vários mecanismos fisiopatológicos, como é o caso da atrofia muscular espinhal (FRIESEN et al., 2001), doença de Huntington (BASAVARAJAPPA e SUBBANNA, 2021) e câncer (WEI et al., 2014).

No presente estudo, as redes de interação formadas para ambas as doenças apresentaram clusters de genes associados ao metilossoma e a modificações pós transcricionais e epigenéticas, sendo os principais genes SNRPD2, SNRPE, ERH (no caso da COVID longa) e SNRPB, SNRPD3 e WDR77 (no caso da EM).

5.3.1 Genes da COVID Longa

Apesar da associação experimental no estudo de expressão diferencial na COVID longa, SNRPD2 (*small nuclear ribonucleoprotein D2 polypeptide*), SNRPE (*small nuclear ribonucleoprotein polypeptide E*) e ERH (*enhancer of rudimentary homolog*) ainda não estão descritos experimentalmente enquanto elementos da fisiopatologia dela, sendo necessários mais estudos de

caracterização epigenética dos efeitos da COVID longa a nível molecular. Notavelmente, porém, há outros estudos com associações do SNRPE com possíveis alvos terapêuticos para a COVID-19 (HASANKHANI et al., 2021) e com associações com estudos de expressão gênica diferencial na esclerose múltipla (RIVEROS et al., 2010 e GHORBANI et al., 2020). É interessante salientar também que o ERH aparece associado à EM no GeneCards (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ERH>).

5.3.2 Genes da Esclerose Múltipla

Na EM, embora exista na literatura validação experimental para a associação com os genes discutidos nesse trabalho, ainda são necessários estudos que melhor caracterizem as vias em que eles estão envolvidos para uma associação mais adequada com a etiologia da doença e seus sintomas. O gene SNRPB (*small nuclear ribonucleoprotein polypeptidase B*) é subexpresso em células do sangue periférico de pacientes com EMRR (ZHELEZNYAKOVA et al., 2021); SNRPD3 (*small nuclear ribonucleoprotein D3 polypeptidase*) e WDR77 (*WD repeat domain 77*), também conhecido como MET50 (*Methylosome protein 50*) não aparecem diretamente associados à fisiopatologia da EM em nenhum estudo, contudo, WDR77 chama a atenção por estar associado ao gene PRMT5. Defeitos no complexo WDR77-PRMT5 são associados a distúrbios neurodegenerativos (ZHAO et al., 2016).

5.4 GENES ALVO E NEURODEGENERAÇÃO

O WDR77, especialmente quando se leva em consideração o complexo formado com a PRMT5, é frequentemente associado a mecanismos neurodegenerativos. As PRMTs, proteína arginina metiltransferases, são uma família de enzimas que catalisam a transferência de um grupo metil para uma variedade de substratos como histonas e fatores de transcrição (RENGASAMY et al., 2017). A PRMT5, além de ser altamente expressa no cérebro humano e associada à neurodegeneração (MOTOLANI et al., 2021), é também associada à inflamação, agindo como reguladora na

via do fator nuclear kappa-beta (NF- κ B) (SROUR, 2022), sendo a ativação dessa via inflamatória parte consolidada da patogênese da EM (YUE et al., 2018). Ao mesmo tempo, a PRMT5 também tem aparecido em estudos relacionados a possíveis alvos terapêuticos para a COVID-19, visto que possui tanto função de metilação da arginina em resíduos da ECA2 quanto promove a ligação entre o RBD do SARS-CoV-2 e a ECA2 (LI et al., 2022).

Pode-se destacar ainda os estudos que afirmam que a SIRT7, proteína que age desacetilando histonas e que é parte de uma família de proteínas expressas no SNC e no sistema nervoso entérico (CHANDRAMOWLISHWARAN, 2020), regulando suas atividades; interage com a WDR77 (QI, 2018). São necessários, porém, mais estudos envolvendo o complexo WDR77-PRMT5 como um fator regulador no papel do metilossoma. Por enquanto, SNRPD2 e SNRPD3 possuem associação neurodegenerativa descrita apenas no contexto do Alzheimer (GUO et al., 2021; DU et al., 2021 e HSIEH et al., 2019); e não há dados relevantes na literatura descrevendo mecanismos da neurodegeneração associados aos genes ERH, SNRPB e SNRPE.

Dessa forma, esse trabalho demonstra que é possível que haja influência da infecção viral pelo SARS-CoV-2 num quadro de EM, tanto como fator etiológico quanto na progressão da doença, embora esclarecimentos sejam necessários acerca da função de certas proteínas no processo, bem como dos mecanismos de regulação pós transcricional envolvidos nessas funções.

6 CONCLUSÃO

Utilizando a análise de redes de interação proteína-proteína para avaliar genes experimentalmente validados como superexpressos em ambas as fisiopatologias, foi possível observar a possível interação das vias envolvidas em duas doenças de caráter inflamatório: COVID longa e esclerose múltipla. No contexto das redes, destacaram-se o papel de proteínas como o complexo WDR77- PRMT5 e as pequenas proteínas ribonucleares, envolvidas em papéis regulatórios do período pós transcricional, especificamente no processo de splicing. Destaca-se também o papel da metilação da arginina e seu envolvimento tanto na regulação pós-transcricional quanto seu possível papel no mecanismo de invasão celular utilizado pelo SARS-CoV-2 mediante atuação das metiltransferases na ligação entre o RBD viral e a ECA2.

Estudos experimentais para caracterizar o papel destas proteínas em pacientes com EM, agrupados de acordo com o histórico de COVID-19, podem confirmar se há concomitância das vias, que poderia significar a consolidação da COVID longa como um fator de risco futuro para o desenvolvimento do quadro de surto inflamatório característico de fases iniciais da EM.

REFERÊNCIAS

ALNEFEESI, Yazen; SIEGEL, Ashley; LUI, Leanna M. W.; et al. **Impact of SARS- CoV-2 Infection on Cognitive Function: A Systematic Review.** *Frontiers in Psychiatry*, v. 11, p. 621773, 2020.

AL-RAMADAN, Ali; RABAB'H, Omar; SHAH, Jawad; et al. **Acute and Post-Acute Neurological Complications of COVID-19.** *Neurology International*, v. 13, n. 1, p.102-119, 2021.

ALMEIDA, Juliana O. de; et al. **COVID-19: Fisiopatologia e Alvos para Intervenção Terapêutica,** *Revista Virtual de Química*, v. 12, n. 6, 2020.

BASAVARAJAPPA, Balapal S.; SUBBANNA, Shivakumar, **Histone Methylation Regulation in Neurodegenerative Disorders,** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 9, p. 4654, 2021.

BOBKER, Sarah M.; ROBBINS, Matthew S. **Virtual Issue: COVID 19 and headache.** *Headache*, v. 61, n. 3, p. 412-413, 2021.

BOMPRESZI, Roberto; et al. **Gene expression profile in multiple sclerosis patients and healthy controls: identifying pathways relevant to disease,** *Human Molecular Genetics*, v. 12, n. 17, p. 2191-2199, 2003.

CAI, Ting; et al. **Arginine Methylation Regulates SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein Function and Viral Replication,** 2021. Disponível em: <<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.24.436822v1>>. Acesso em: 18 nov. 2022.

CAO, Changchang; et al. **The architecture of the SARS-CoV-2 RNA genome inside virion,** *Nature Communications*, v. 12, n. 1, p. 3917, 2021.

CARDONA, Giancarlos Conde; PÁJARO, Loraine D. Quintana; MARZOLA, Iván D. Quintero; et CONDE CARDONA, Giancarlos; QUINTANA PÁJARO, Loraine D.;QUINTERO MARZOLA, Iván D.; et al. **Neurotropism of SARS-CoV 2: Mechanisms and manifestations.** *Journal of the Neurological Sciences*, v. 412, p. 116824, 2020.

CDC, Post-COVID Conditions, Centers for Disease Control and Prevention, disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/long-term-effects/index.html>>. acesso em: 27 set. 2022.

CENCIONI, Maria T.; MATTOSIO, Miriam; MAGLIOZZI, Roberta; et al. **B cells in multiple sclerosis — from targeted depletion to immune reconstitution therapies.** *Nature Reviews Neurology*, v. 17, n. 7, p. 399-414, 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41582-021-00498-5>>. Acesso em: 21 nov. 2022

CHAKRAVARTY, Dimple; et al. **Sex differences in SARS-CoV-2 infection rates and the potential link to prostate cancer,** *Communications Biology*, v.

3, n. 1, p. 1- 12, 2020.

CHANDRAMOWLISHWARAN, Pavithra; et al. **Role of Sirtuins in Modulating Neurodegeneration of the Enteric Nervous System and Central Nervous System**, *Frontiers in Neuroscience*, v. 14, p. 614331, 2020.

CORDON-CARDO, Carlos; et al. **COVID-19: Staging of a New Disease**, *CancerCell*, v. 38, n. 5, p. 594-597, 2020.

CORONAVIRUS Brasil, disponível em: <<https://covid.saude.gov.br/>>. acesso em: 27set. 2022.

CROOK, Harry; RAZA, Sanara; NOWELL, Joseph; et al. **Long covid-mechanisms, risk factors, and management**. *BMJ (Clinical research ed.)*, v. 374, p. n1648, 2021.

DESAI, Amar D.; et al. **Long-term complications of COVID-19**, *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, v. 322, n. 1, p. C1-C11, 2022.

DU, Bingying; et al. **N6-methyladenosine (m6A) modification and its clinical relevance in cognitive dysfunctions**, *Aging*, v. 13, n. 16, p. 20716-20737, 2021.

ELBINI DHOUIB, Ines. **Does coronaviruses induce neurodegenerative diseases? A systematic review on the neurotropism and neuroinvasion of SARS-CoV-2**, *Drug Discoveries & Therapeutics*, v. 14, n. 6, p. 262-272, 2021.

FRIESEN, W. J.; et al. **The methylosome, a 20S complex containing JBP1 and pICln, produces dimethylarginine-modified Sm proteins**, *Molecular and Cellular Biology*, v. 21, n. 24, p. 8289-8300, 2001.

GENEROSO, Jaqueline S.; et al. **Neurobiology of COVID-19: how can the virus affect the brain?**, *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 43, p. 650-664, 2021.

GHORBANI, Fatemeh; et al. **Weighted Correlation Network Analysis of Multiple Sclerosis: Identifying Key Genes Involved in Disease Progress**, *Journal of Computational Chemistry & Molecular Modeling*, v. 4, n. 3, 2020.

GOLDENBERG, Marvin M., **Multiple sclerosis review**, *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, v. 37, n. 3, p. 175-184, 2012.

GUO, Qi; et al. **Targeted Quantification of Detergent-Insoluble RNA-Binding Proteins in Human Brain Reveals Stage and Disease Specific Co-aggregation in Alzheimer's Disease**, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 14, p. 623659, 2021.

GURROLA, José G.; CHANG, Jolie L.; ROLAND, Lauren T.; et al. **Short-term chemosensory distortions and phantoms in COVID-19**. *Laryngoscope*

Investigative Otolaryngology, 2021.

GUSEV, Evgenii; et al. **SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19**, International Journal of Molecular Sciences, v. 23, n. 3, p. 1716, 2022.

HISTÓRICO da pandemia de COVID-19 - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde, disponível em: <<https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>>. acesso em: 6 nov. 2022.

HSIEH, Yi-Chen; et al. **Tau-Mediated Disruption of the Spliceosome Triggers Cryptic RNA Splicing and Neurodegeneration in Alzheimer's Disease**, Cell Reports, v. 29, n. 2, p. 301-316.e10, 2019.

HUANG, Jianhan; ZHENG, Meijun; TANG, Xin; et al. **Potential of SARS-CoV-2 to Cause CNS Infection: Biologic Fundamental and Clinical Experience**. Frontiers in Neurology, v. 11 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7314941/>>. Acesso em: 11 maio 2021.

HUO, Ben; et al. **Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19**, Nature Reviews Microbiology, v. 19, n. 3, p. 141-154, 2021.

KAJITANI, Gustavo Satoru; et al. **Transcription blockage by DNA damage in nucleotide excision repair-related neurological dysfunctions**, Seminars in Cell & Developmental Biology, v. 114, p. 20-35, 2021.

KIM, Dongwan et al, **The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome**, Cell, v. 181,n. 4, p. 914-921.e10, 2020.

KLAVER, Roel; DE VRIES, Helga E.; SCHENK, Geert J.; et al. **Grey matter damage in multiple sclerosis**. Prion, v. 7, n. 1, p. 66-75, 2013.

KRASIKOVA, Yuliya; RECHKUNOVA, Nadejda; LAVRIK, Olga, **Nucleotide Excision Repair: From Molecular Defects to Neurological Abnormalities**, International Journal of Molecular Sciences, v. 22, n. 12, p. 6220, 2021.

KUBA, Keiji; YAMAGUCHI, Tomokazu; PENNINGER, Josef M., **Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) in the Pathogenesis of ARDS in COVID-19**, Frontiers in Immunology, v. 12, 2021.

LASSMANN, Hans; BRÜCK, Wolfgang; LUCCHINETTI, Claudia F., **The Immunopathology of Multiple Sclerosis: An Overview**, Brain Pathology, v. 17, n. 2, p. 210-218, 2007.

LI, Zhongwei; et al. **GSK3326595 is a promising drug to prevent SARS-CoV-2 Omicron and other variants infection by inhibiting ACE2-R671 dimethylation**, Journal of Medical Virology, 2022.

LOMA, Ingrid; HEYMAN, Rock. Multiple Sclerosis: **Pathogenesis and Treatment**. Current Neuropharmacology, v. 9, n. 3, p. 409-416, 2011.

LÓPEZ-LÉON, Sandra; et al. **More than 50 Long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis**, medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences, p. 2021.01.27.21250617, 2021.

MASSEY, Daisy; et al. **Change in Symptoms and Immune Response in People with Post-Acute Sequelae of SARS-Cov-2 Infection (PASC) After SARS-Cov-2 Vaccination, 2021**. Disponível em: <<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.07.21.21260391v2>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

MATERA, A. Gregory; WANG, Zefeng. **A day in the life of the spliceosome**. NatureReviews Molecular Cell Biology, v. 15, n. 2, p. 108-121, 2014. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrm3742>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

MERAD, Miriam; et al. **The immunology and immunopathology of COVID-19**, Science (New York, N.Y.), v. 375, n. 6585, p. 1122-1127, 2022.

MORAIS, Pedro; ADACHI, Hironori; YU, Yi-Tao, **Spliceosomal snRNA Epitranscriptomics**, Frontiers in Genetics, v. 12, 2021.

MOTOLANI, Aishat; et al. **The Structure and Functions of PRMT5 in Human Diseases**, Life (Basel, Switzerland), v. 11, n. 10, p. 1074, 2021.

MULTIPLE sclerosis, nhs.uk, disponível em: <<https://www.nhs.uk/conditions/multiple-sclerosis/>>. acesso em: 19 nov. 2022.

NILE, Shivraj Hariram; NILE, Arti; QIU, Jiayin; et al. **COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons**. Cytokine & Growth Factor Reviews, v. 53, p. 66-70, 2020.

NOSEWORTHY, J. H.; LUCCHINETTI, C.; RODRIGUEZ, M.; et al. **Multiple sclerosis**. The New England Journal of Medicine, v. 343, n. 13, p. 938-952, 2000.

OMS Coronavirus (COVID-19) Dashboard, disponível em: <<https://covid19.who.int>>. acesso em: 27 set. 2022.

PALAIODIMOU, Lina; STEFANO, Maria-Ioanna; KATSANOS, Aristidis H.; et al. **Prevalence, clinical characteristics and outcomes of Guillain-Barré syndrome spectrum associated with COVID-19: a systematic review and meta-analysis**. European Journal of Neurology, 2021.

PAYNE, Susan, **Family Coronaviridae**, Viruses, p. 149-158, 2017.

PEREIRA, Ana Beatriz Calmon Nogueira da Gama; et al. **Prevalence of multiple sclerosis in Brazil: A systematic review**, Multiple Sclerosis and Related Disorders, v. 4, n. 6, p. 572-579, 2015.

PONCET- MEGEMONT, Louis; PARIS, Pauline; TRONCHERE, Amélie; et al. **High Prevalence of Headaches During Covid-19 Infection: A Retrospective Cohort Study**. Headache: The Journal of Head and Face Pain, v. 60, n. 10, p. 2578-2582, 2020.

POPOVITCHENKO, Tatiana; RASIN, Mladen-Roko, **Transcriptional and Post- Transcriptional Mechanisms of the Development of Neocortical Lamination**, Frontiers in Neuroanatomy, v. 11, 2017.

POST COVID-19 condition (Long COVID), disponível em: <<https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/post-covid-19-condition>>. acesso em: 15 nov. 2022.

PROAL, Amy D.; VANELZAKKER, Michael B., **Long COVID or Post-acute Sequelae of COVID-19 (PASC): An Overview of Biological Factors That May Contribute to Persistent Symptoms**, Frontiers in Microbiology, v. 12, 2021.

QU, Jing-Yu; XIE, Hua-Tao; ZHANG, Ming-Chang, **Evidence of SARS-CoV-2 Transmission Through the Ocular Route**, Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.), v. 15, p. 687-696, 2021.

RASTOGI, Meghana; et al. **SARS coronavirus 2: from genome to infectome**, Respiratory Research, v. 21, n. 1, p. 318, 2020.

RAVEENDRAN, A. V.; JAYADEVAN, Rajeev; SASHIDHARAN, S., **Long COVID: An overview, Diabetes & Metabolic Syndrome**, v. 15, n. 3, p. 869-875, 2021

RENGASAMY, Madhumitha; et al. **The PRMT5/WDR77 complex regulates alternative splicing through ZNF326 in breast cancer**, Nucleic Acids Research, v. 45, n. 19, p. 11106-11120, 2017.

RIVEROS, Carlos; et al. **A Transcription Factor Map as Revealed by a Genome- Wide Gene Expression Analysis of Whole-Blood mRNA Transcriptome in Multiple Sclerosis**, PLoS ONE, v. 5, n. 12, p. e14176, 2010.

RYAN, Feargal J.; et al. **Long-term perturbation of the peripheral immune system months after SARS-CoV-2 infection**, BMC medicine, v. 20, n. 1, p. 26, 2022.

SASIKUMAR, Arjun N.; PEREZ, Winder B.; KINZY, Terri Goss, **The Many Roles of the Eukaryotic Elongation Factor 1 Complex**, Wiley Interdisciplinary Reviews.RNA, v. 3, n. 4, p. 543-555, 2012.

SCHERER, Philipp E.; KIRWAN, John P.; ROSEN, Clifford J., **Post-acute sequelae of COVID-19: A metabolic perspective**, eLife, v. 11, p. e78200, 2022.

SEDAGHAT, Zahra; KARIMI, Narges. **Guillain Barre syndrome associated**

with COVID-19 infection: A case report. Journal of Clinical Neuroscience, v. 76, p. 233- 235, 2020.

SHEN, Qi; et al. **COVID-19: systemic pathology and its implications for therapy**, International Journal of Biological Sciences, v. 18, n. 1, p. 386-408, 2022.

SOLOMON, Tom. **Neurological infection with SARS-CoV-2 — the story so far**, Nature Reviews Neurology, v. 17, n. 2, p. 65-66, 2021

SROUR, Nivine; KHAN, Sarah; RICHARD, Stephane. **The Influence of Arginine Methylation in Immunity and Inflammation**, Journal of Inflammation Research, v. 15, p. 2939-2958, 2022.

STATEMENT on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019- nCoV), disponível em: <[https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))>. acesso em: 18 nov. 2022.

STEIN, Laura K.; et al. **The emerging association between COVID-19 and acute stroke**, Trends in Neurosciences, v. 44, n. 7, p. 527-537, 2021.

SU, Yapeng; et al. **Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae**, Cell, v. 185, n. 5, p. 881-895.e20, 2022.

SZKLARCZYK, Damian. et al; **The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets**, Nucleic Acids Research, v. 49, n. D1, p. D605-D612, 2021.

TRIP, S. A.; MILLER, D. H., **Imaging in multiple sclerosis**, Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, v. 76, n. suppl 3, p. iii11-iii18, 2005.

UGINET, Marjolaine; BREVILLE, Gautier; ASSAL, Frédéric; et al. **COVID-19 encephalopathy: clinical and neurobiological features**. Journal of Medical Virology, 2021.

QI, Hao; et al. **Sirtuin 7–mediated deacetylation of WD repeat domain 77 (WDR77) suppresses cancer cell growth by reducing WDR77/PRMT5 transmethylese complex activity**, The Journal of Biological Chemistry, v. 293, n.46, p. 17769-17779, 2018.

QuickGO, disponível em: <<https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/term/GO:0034709>>. acesso em: 17 nov. 2022.

QuickGO, disponível em: <<https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/term/GO:0005753>>. acesso em: 18 nov.

2022.

WEEKLY epidemiological update on COVID-19 - 26 October 2022, disponível em:

<<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19-26-october-2022>>. acesso em: 17 nov. 2022.

WEI, Tong-You Wade; et al. **Methylosome protein 50 promotes androgen- and estrogen-independent tumorigenesis**, Cellular Signalling, v. 26, n. 12, p. 2940- 2950, 2014.

WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, disponível em:

<<https://covid19.who.int>>. acesso em: 18 nov. 2022.

YANLING ZHAO, Dorothy; et al. **SMN and symmetric arginine dimethylation of RNA polymerase II C-terminal domain control termination**, Nature, v. 529, n. 7584, p. 48-53, 2016.

YUE, Yuan; STONE, Sarrabeth; LIN, Wensheng. **Role of nuclear factor κ B in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis**, Neural Regeneration Research, v. 13, n. 9, p. 1507-1515, 2018.

ZHELEZNYAKOVA, Galina Yurevna; et al. **Small noncoding RNA profiling across cellular and biofluid compartments and their implications for multiple sclerosisimmunopathology**, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 118, n. 17, p. e2011574118, 2021.

ZHU, Na; et al. **A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019**, The New England Journal of Medicine, v. 382, n. 8, p. 727-733, 2020.

ZUBAIR, Adeel S.; et al. **Neuropathogenesis and Neurologic Manifestations of the Coronaviruses in the Age of Coronavirus Disease 2019: A Review**, JAMA Neurology, v. 77, n. 8, p. 1018-1027, 2020.

ZUO, Tao; et al. **Gut Microbiome Alterations in COVID-19, Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 19, n. 5, p. 679-688, 2021.

APÊNDICE A

Lista final de genes da Esclerose Múltipla

superexpressão	subexpressão
ACOX1	MARK1
ACSS1	FBXO16
ALDH9A1	SYT4
APLN	ANKMY2
APLNR	KCNH1
ATP13A4	FAM153B
BCKDHB	NEUROD6
CAPN2	RAPGEF4
CHST6	POU6F2
CXorf38	DBF4
DDB1	POLN
DDB2	FGF9
DUSP22	PRMT8
EHHADH	UBE2QL1
EPHX2	PTPRR
F3	CACNA1A
HSDL2	GABRG3
KCNN3	ELMOD1
LIPA	KCNH7
MRV11	CACNG2
NAALADL2	C2orf80
NEK9	RIMBP2
PIRT	UTP4
PLPP3	KIF15
PPCDC	GRIP1
PRDM6	KCNV1
PRKAB1	CACNA2D2
PSAP	SYT5
RAD51B	RPH3A
SCN11A	ABHD12B
SDC4	MPP7
SEC22C	ATP2B2
SMDT1	CUX2
SNRPB	ELAVL4
SPATA20	ZFPM2
SRPX2	PID1
URB2	OR2L13
WARS2	CACNG8
WDR77	PDZRN4
	DOK6
	GAP43
	VWA5B2