



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

JOÃO VICTOR DE SOUZA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO SÉRICA DO RECEPTOR SOLÚVEL sCD14 EM PACIENTES COM
COVID-19**

Recife
2024

JOÃO VICTOR DE SOUZA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO SÉRICA DO RECEPTOR SOLÚVEL sCD14 EM PACIENTES COM
COVID-19**

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

Orientador: Prof. Dr. Diego José Lira
Torres
Coorientadora: Dra. Leyllane Rafael
Moreira.

Recife
2024

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

RODRIGUES, João Victor de Souza.

AVALIAÇÃO SÉRICA DO RECEPTOR SOLÚVEL sCD14 EM PACIENTES
COM COVID-19 / João Victor de Souza RODRIGUES. - Recife, 2024.
83 p. : il., tab.

Orientador(a): Diego José Lira TORRES

Coorientador(a): Leyllane Rafael MOREIRA

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

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. SARS-CoV-2. . 2. sCD14.. 3. Correlação. . 4. Prognóstico.. 5. Biomarcador.
. I. TORRES, Diego José Lira . (Orientação). II. MOREIRA, Leyllane Rafael.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

JOÃO VICTOR DE SOUZA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO SÉRICA DO RECEPTOR SOLÚVEL sCD14 EM PACIENTES COM
COVID-19**

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: 22/03/2024

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Diego José Lira Torres
Universidade Federal de Pernambuco-Vitória de Santo Antão

Me. Simão Kalebe Silva de Paula
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Débora Elienai de Oliveira Miranda
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho ao meu Deus, aos meus pais, familiares, líderes eclesiásticos, professores, irmãos em Cristo e amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu Deus, pois se tenho vida, família, saúde, amigos e oportunidade de estudar, é pela sua infinita graça e misericórdia. Toda honra e glória sejam dadas a Ele, eternamente, amém.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Diego José Lira Torres por ter me orientado com amor, paciência, dedicação, humildade e muito conhecimento. Sou grato por acreditar em mim, sempre nos aconselhando e dando o direcionamento nessa trajetória. Serei eternamente grato.

Agradeço à minha co-orientadora, Dra. Leyllane Rafael Moreira pelos ensinamentos, paciência, carinho, humildade, amor e conhecimento que me ofertou desde o primeiro momento. Sem sombra de dúvidas, tornou-se um referencial para mim no âmbito acadêmico e profissional. Serei eternamente grato.

Agradeço à minha orientadora no projeto de iniciação científica e coordenadora no projeto de conclusão de curso, Dra. Virginia Maria Barros de Lorena, pela oportunidade, amor, paciência e dedicação que me foi facultado, desde o nosso primeiro contato até hoje. Sou grato por sempre ter acreditado em mim, me aconselhado, principalmente nos momentos mais difíceis, os quais pensei que não conseguiria vencer, mas pela misericórdia de Deus através da sua vida, conseguimos vencer para glória de Deus.

Agradeço a Ma. Melayne Rocha Aciole, por ser minha co-orientadora no projeto de iniciação científica, pela confiança, apoio, carinho, tranquilidade e auxílio no desenvolvimento dos experimentos e metodologias desenvolvidas, a quem sempre serei grato.

Agradeço ao Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz-Pernambuco) pelo fornecimento de toda estrutura física, tecnológica e humana para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro por meio da bolsa de iniciação científica.

Agradeço ao grupo de trabalho do Laboratório de Imunoparasitologia (LIMP) do departamento de imunologia pela receptividade e compartilhamento do conhecimento científico.

À minha mãe, Rosemeire pelo amor incondicional, por ser o meu exemplo de serva de Deus, mãe, amiga, acadêmica, de esforço e dedicação diários. Por sempre estar comigo nos momentos mais felizes e mais tristes. E quando eu pensava em parar, ela sempre conversava comigo e me fazia avançar e por isso não desisti. Lembro-me de antes de fazer qualquer prova, sempre pedia que orasse por mim e recordo-me de nas madrugadas ouvi-la clamando pela minha vida e pedindo a

Deus para que me guardasse e me livrasse de todo mal. Se fosse para contar tudo o que vivemos juntos, somente nesses últimos quatro anos, não saberia dizer quantas folhas seriam necessárias, mas o mais importante é que todos esses momentos estão armazenados em minha mente guardados no meu coração. Sem ela, eu não seria servo de Deus, filho, amigo, aluno e cidadão. Agradeço ao meu Pai, Luis Marcelo pelo amor e esforço que demonstrou para comigo e pelos seus ensinamentos.

Agradeço a todos os professores que tive ao longo da vida educacional, desde o primeiro, quando tinha três anos, até os dos dias atuais, pois, cada um contribuiu e contribui para a minha formação como ser humano, cidadão, aluno e profissional. Estendo minha gratidão aos profissionais dos serviços gerais, motoristas, e todos funcionários que de forma direta e indireta contribuíram para a realização desse sonho.

À minha princesa, Alice Mariana, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos, pelas orações, pelos aconselhamentos, pelas conversas e principalmente pelo seu amor para comigo.

Agradeço aos amigos que fiz na universidade, sem os quais eu não conseguiria ter chegado até aqui, a saber Maria Letícia, Letícia Vasconcelos, Gabriel Mattos, Rebhecca Lenina, Larissa Brito, Kamylle Cynnara, Juliana Renata, Maria Hyslane, José do Carmo, Brenda Amâncio, Camila Araújo, Suellen Casado, Byancca Torreão, entre outros.

Aos meus amigos desde a época do colégio, Adson, Anderson, Luanna, Luanny, Laiane, Vanessa, Edierick, Luiz, entre outros.

"O próprio Senhor irá à sua frente e estará com você; ele nunca o deixará, nunca o abandonará. Não tenha medo! Não se desanime!" - Deuteronômio 31:8

RESUMO

O SARS-CoV-2 é o vírus RNA de fita simples e sentido positivo que utiliza a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor para o processo de infecção viral, estando presente nas células dos pulmões, rins e coração. É o agente etiológico da COVID-19, doença que trouxe impacto à saúde pública mundial, pela rápida transmissão, difícil controle e imunopatogênese complexa. Nessa perspectiva, o CD14 surge como potencial biomarcador de prognóstico da doença, pois é marcador de diferenciação mielóide. Possui a forma ancorada (mCD14), sendo ligada à membrana por uma cauda de glicosil fosfatidil inositol (GPI), sendo expresso em monócitos, macrófagos, células dendríticas e microglias. A forma ancorada pode passar pelo processo de clivagem da cauda GPI, resultando na sua forma solúvel (sCD14). Está presente no soro, líquido cefalorraquidiano (LCR), entre outros fluídos corporais, para conferir resposta imune via CD14 nesses locais, nos quais as células não expressam CD14. Nesse sentido, o nosso estudo consiste em avaliar os níveis séricos de sCD14 em pacientes com COVID-19 atendidos no Hospital das Clínicas-HC/UFPE. Os participantes foram pacientes com diagnóstico para o SARS-CoV-2 pela qRT-PCR. Sendo um total de 129 e classificados de acordo com o tipo de internação e suporte de oxigênio: Grupo A (n=14); grupo B (n=83) e grupo C (n=32). Somado a isso, na análise das tomografias computadorizadas de tórax, avaliou-se os níveis séricos de sCD14 com o comprometimento pulmonar dentro dos três grupos supracitados, além da população geral do estudo, sendo: <25 %, entre 25-50% e >50 %. O sCD14 foi quantificado através do ensaio imunoenzimático do tipo sanduíche através de uma curva-padrão. Avaliou-se os níveis séricos do sCD14 nas diferentes manifestações clínicas (leves, moderadas e graves), correlacionados com parâmetros inflamatórios laboratoriais, desfechos clínicos de cura e óbito. Não houve diferença estatística significativa entre os níveis séricos de sCD14 dos grupos leve, moderado e grave. Nem entre os parâmetros laboratoriais nos grupos leve, moderado e grave. Na avaliação dos níveis de sCD14 em relação ao grau de acometimento pulmonar (<25 %, entre 25-50% e >50 %) também não encontramos dados significativos. Houve diferença estatística nos parâmetros hematológicos da leucopenia, normal, leucocitose; linfopenia, normal, linfocitose e plaquetopenia, normal e plaquetose. Os resultados do nosso estudo possuem semelhanças e divergências quando comparados aos trabalhos descritos na literatura. No entanto, a ausência de um grupo de indivíduos não doentes e o critério de distribuição dos grupos limitou a comparabilidade dos achados com os demais estudos. Além disso, acreditamos que outras células da resposta imune, como células NK também exercem um papel importante nas defesas antivirais, que podem atuar de forma sinérgica com os monócitos e que poderiam ser avaliados. Diante disso, não podemos afirmar que o sCD14 é um possível biomarcador de prognóstico em pacientes com COVID-19. Entretanto, estudos que avaliem esta molécula em grupo de pacientes saudáveis ou em sinergismo com outras células imunes são encorajados.

Palavras-chave: SARS-CoV-2. sCD14. Correlação. Prognóstico. Biomarcador.

ABSTRACT

The SARS-CoV-2 virus is a single-stranded positive-sense RNA virus that utilizes the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a receptor for viral infection, being present in the cells of the lungs, kidneys, and heart. It is the etiological agent of COVID-19, a disease that has had a significant impact on global public health due to its rapid transmission, difficult control, and complex immunopathogenesis. In this perspective, CD14 emerges as a potential prognostic biomarker of the disease, being a marker of myeloid differentiation. It exists in an anchored form (mCD14), being membrane-bound by a glycosylphosphatidylinositol (GPI) tail, and expressed in monocytes, macrophages, dendritic cells, and microglia. The anchored form can undergo cleavage of the GPI tail, resulting in its soluble form (sCD14). It is present in serum, cerebrospinal fluid (CSF), among other bodily fluids, to confer immune response via CD14 in these locations where cells do not express CD14. In this regard, our study aims to evaluate serum levels of sCD14 in patients with COVID-19 treated at the Hospital das Clínicas-HC/UFPE. The participants were patients diagnosed with SARS-CoV-2 by qRT-PCR, totaling 129, classified according to the type of hospitalization and oxygen support: Group A (n=14); group B (n=83); and group C (n=32). Additionally, in the analysis of chest computed tomography scans, sCD14 levels were evaluated concerning pulmonary involvement within the three aforementioned groups, as well as the general study population, categorized as <25%, between 25-50%, and >50%. sCD14 was quantified through sandwich-type enzyme-linked immunosorbent assay using a standard curve. Serum levels of sCD14 were evaluated in different clinical manifestations (mild, moderate, and severe), correlated with inflammatory laboratory parameters, clinical outcomes of recovery, and death. There was no statistically significant difference in serum levels of sCD14 among the mild, moderate, and severe groups, nor among the laboratory parameters within these groups. Moreover, there was no statistically significant difference in sCD14 levels concerning the degree of pulmonary involvement (<25%, 25-50%, and >50%). However, there was a statistically significant difference in hematological parameters, including leukopenia, normal, leukocytosis; lymphopenia, normal, lymphocytosis; and thrombocytopenia, normal, and thrombocytosis. The results of our study exhibit both similarities and differences when compared to findings described in the literature. However, the absence of a group of non-diseased individuals and the criteria for group distribution limited the comparability of the findings with other studies. Furthermore, we believe that other immune cells, such as NK cells, also play an important role in antiviral defenses, which may act synergistically with monocytes and should be evaluated. Therefore, we cannot assert that sCD14 is a potential prognostic biomarker in patients with COVID-19. However, studies evaluating this molecule in groups of healthy patients or in synergy with other immune cells are encouraged.

Key words: SARS-CoV-2. sCD14. Correlation. Prognosis. Biomarker.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação da partícula viral(A) e do genoma do beta-coronavírus(B).....	20
Figura 2- A proteína Spike liga-se ao receptor ACE2, que é ativado pela proteína TMPRSS2, presente nas células pulmonares, processo fundamental para a realização da fusão e infecção.....	22
Figura 3- Processos relativos à tradução, replicação, transcrição do genoma viral, montagem da cópia viral e posterior liberação na corrente sanguínea.....	23
Figura 4- Reconhecimento do SARS-COV-2 pelo TLR2 e TLR4 e suas vias de ativação intracelular.....	24
Figura 5- Mecanismos de evasão do sistema imunológico pelo SARS-CoV-2.....	26
Figura 6- Resposta pró-inflamatória via monócitos e macrófagos.....	27
Figura 7- A interação dos receptores do tipo Toll com os diferentes tipos de ligantes e suas respectivas respostas inflamatórias.....	29
Figura 8- Métodos de diagnóstico da COVID-19.....	32
Figura 9- Principais tecnologias vacinais empregadas na COVID-19.....	34
Figura 10- Estrutura cristalográfica do CD14.....	41
Figura 11- Esquema representativo da síntese do sCD14.....	43
Figura 12- Avaliação dos níveis séricos de sCD14 com o tipo de acometimento pulmonar.....	53
Figura 13- Avaliação das comorbidades e sintomas de acordo com os níveis de sCD14.....	54
Figura 14- Avaliação dos níveis de sCD14 dos pacientes do grupo leve correlacionado com os parâmetros laboratoriais.....	55
Figura 15- Avaliação dos níveis de sCD14 dos pacientes do grupo moderado correlacionado com os parâmetros laboratoriais.....	57
Figura 16- Avaliação dos níveis de sCD14 dos pacientes do grupo grave correlacionado com os parâmetros laboratoriais.....	58
Figura 17- Avaliação dos níveis de sCD14 no tipo de internação e no desfecho de alta hospitalar e óbito.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos pacientes do estudo.....	49
Tabela 2 – Classificação dos pacientes do estudo.....	51
Tabela 3 – Parâmetros hematológicos.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE-2	Enzima conversora da angiotensina 2
AP-1	Proteína ativadora 1
APCs	Células apresentadoras de antígeno
AT1	Células alveolares do tipo 1
AT2	Células alveolares do tipo 2
CD14	Cluster de diferenciação 14 (Do inglês <i>Cluster of differentiation 14</i>)
cDCs	Células dendríticas clássicas
COVID-19	Do inglês <i>Coronavirus disease 2019</i>
DAMPS	Padrões Moleculares Associados a Danos
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
dsRNA	Do inglês <i>Double-stranded DNA viruses</i>
G-CSF	Fator estimulador de colônias granulocíticas
GM- CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos
IFN - γ	Interferon gama
IFNAR1	Cadeia alfa do receptor de interferon alfa\beta
IFN-I	Interferon do tipo 1
Ig (FcR)	Receptores para IgG
IP-10	Proteína 10 induzida por interferon gama
IRF3	Fator regulador do interferon 3
ISGs	Gene estimulado por interferon
JAK	Janus Kinase
JAK/STAT	Janus Kinase\ Transdutor de sinal\ativador da transcrição
MCP-1	Proteína Quimioatraente de monócitos 1
MCP-3	Proteína Quimioatraente de monócitos 3
MDA5	Gene associado à diferenciação de melanoma 5
MHC-I	Complexo principal de histocompatibilidade de classe 1
MHC-II	Complexo principal de histocompatibilidade de classe 2
NAD	Dinucleotídeo de nicotinamida
ncMo	Monócitos não clássicos
NETs	Do inglês <i>neutrophil extracellular traps</i>
NF- κ B	Fator nuclear Kappa B

NOD	Domínio de ligação e oligomerização de nucleotídeos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMPS	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
pDCs	Células dendríticas plasmocitóides
PGE2	Prostaglandina E2
PRR's	Receptor de reconhecimento de padrões
RBD	Do inglês <i>receptor-binding domain</i>
RLRs	Do inglês <i>retinoic acid-inducible gene-1(RIG-)-like receptors</i>
rRT-PCR	Do inglês <i>Real-time reverse-transcriptase polymerase-chain-reaction</i>
RT-LAMP	Do inglês <i>Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification</i>
RT-PCR	Do inglês <i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>
SARS-CoV-2	Do inglês <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>
sCD14	Do inglês <i>Soluble Cluster of Differentiation 14</i>
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório agudo
SMF	Sistema Fagocitário Mononuclear
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
ssRNA	Do inglês <i>positive-sense single-stranded RNA viruses</i>
TiMas	Macrófagos tissulares
TMPRSS2	Do inglês <i>enzima protease serina transmembranar 2</i>
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TRAF3	Receptor de TNF associado ao fator 3
UTI	Unidade de terapia intensiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	COVID-19.....	17
2.2	Sars-Cov-2.....	19
2.2.1	Estrutura.....	19
2.2.2	Replicação viral.....	21
2.3.1	Resposta imune inata.....	23
2.3.2	Resposta imune adaptativa.....	29
2.4	Diagnóstico e Tratamento.....	31
2.5	Biomarcador.....	34
2.5.1	Biomarcadores da COVID-19.....	35
2.5.1.2	Procalcitonina (PCT).....	35
2.5.1.3	Dímero-D.....	36
2.5.1.4	Interleucina 6 (IL-6).....	36
2.5.1.5	Proteína C reativa.....	37
2.5.1.6	Lactato desidrogenase (LDH).....	37
2.5.1.7	Receptor solúvel do ativador do plasminogênio da uroquinase (SuPAR).....	38
2.5.1.8	Receptor para produtos finais de glicação avançada solúvel (sRAGE).....	38
2.5.1.9	Forma solúvel do receptor CD163 (sCD163).....	39
2.5.1.10	Prepsina (sCD14-ST).....	39
2.6	Antígeno de Diferenciação 14 (CD14).....	40
2.6.1	Antígeno de diferenciação 14 ligado a membrana (mCD14).....	42
2.6.2	Antígeno de diferenciação 14 solúvel (sCD14).....	42
2.6.3	COVID-19 e o CD14.....	44
3	OBJETIVOS.....	46
3.1	Objetivo Geral.....	46
3.2	Objetivos específicos.....	46
4	METODOLOGIA.....	47
4.1	População e Local de estudo.....	47
4.2	Critérios de inclusão e exclusão.....	47
4.3	Coleta de sangue.....	47
4.4	Quantificação do receptor solúvel CD14.....	48
4.5	Análise estatística.....	48
4.6	Comitê de ética.....	49
5	RESULTADOS.....	49
5.1	Descrição dos pacientes do estudo.....	49
5.2	Determinação do perfil clínico e laboratorial dos pacientes.....	50
5.3	Análise da correlação entre os níveis de sCD14 e os parâmetros laboratoriais.....	54
5.4	Análise dos níveis de sCD14 e os desfechos clínicas.....	59
6	DISCUSSÃO.....	60

7	CONCLUSÃO.....	64
----------	-----------------------	-----------

	REFERÊNCIAS.....	65
--	-------------------------	-----------

ANEXOS

	ANEXO A – Parecer da Comissão Nacional de ética em Pesquisa.....	83
--	---	-----------

1 INTRODUÇÃO

O SARS-CoV-2 é um vírus da família *Coronaviridae*, sendo o agente etiológico da COVID-19, doença com índice de mortalidade superior aos 6 milhões de pessoas no mundo e por volta de 700 mil indivíduos no Brasil (OMS, 2023; BRASIL. Ministério da Saúde, 2023). O mecanismo de transmissão ocorre de forma direta e indireta, por meio do contato com partículas aerossóis infectadas, após a infecção, os indivíduos são classificados em assintomáticos ou sintomáticos leves, moderados e graves, na qual a síndrome respiratória aguda grave (SRAG) é uma das principais causas de mortalidade a COVID-19 (Coperchini *et al.*, 2020; Schimke *et al.*, 2022).

Por ser uma doença de imunopatogênese complexa, o estabelecimento de perfis imunológicos dos pacientes é difícil, principalmente no que se refere à disponibilidade de biomarcadores de evolução clínica, objetivando compreender se o paciente assintomático ou com sintomas leves possa evoluir para a forma moderada e até grave (Wu *et al.*, 2020; Nadkarni *et al.*, 2020; Gómez-Rial *et al.*, 2020). Diante das informações supracitadas, faz-se necessário à pesquisa de potenciais biomarcadores para auxiliar no prognóstico dos pacientes com COVID-19. Nesse sentido, a avaliação da proteína sCD14 nos pacientes com COVID-19 é de suma importância, visto que demonstra a resposta imune de monócitos e macrófagos nesta doença (Zingaropoli *et al.*, 2021; Attia *et al.*, 2023). Os níveis sCD14 são considerados como indicador de ativação dos monócitos (Shive *et al.*, 2015). Os monócitos são componentes essenciais do sistema imune inato, sendo imprescindíveis no combate às infecções virais (Chao *et al.*, 2011; Rajamanickam *et al.*, 2021).

Os pacientes com COVID-19 que evoluíram a óbito apresentaram níveis mais elevados de sCD14 quando comparado com os pacientes que tiveram as manifestações leve, moderada e crítica da doença, mas que se recuperaram, visto que a ativação dos macrófagos e monócitos desencadeiam o aumento da cascata do fator de necrose tumoral (TNF), estando relacionado ao prognóstico desta doença (Bowman *et al.*, 2021; Pati *et al.*, 2021).

Desta maneira, o vigente estudo consiste em avaliar os níveis séricos do receptor solúvel sCD14 em pacientes com COVID-19 nas manifestações leves, moderadas e graves. Somado a isso, correlacionar os níveis séricos do sCD14 com parâmetros bioquímicos laboratoriais, hematológicos, tipo do acometimento pulmonar, desfechos de cura e óbito.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 COVID-19

A doença por coronavírus 2019 (COVID-19) é uma patologia de etiologia infecciosa causada pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), sendo documentada inicialmente em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan-China (OMS, 2020). Posteriormente, espalhou-se rapidamente pelo mundo, e no dia 18 de março de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) decretou a pandemia da COVID-19, após a confirmação de mais 179.111 casos e 7.426 mortes (Saghazadeh *et al.*, 2020; Ciotti *et al.*, 2020; Infantino *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020). Foi responsável pela morte de mais de 6 milhões de pessoas no mundo e por volta de 700 mil indivíduos no Brasil. O mecanismo de transmissão ocorre de forma direta e indireta, por meio do contato com partículas aerossóis infectadas. Após a infecção, os indivíduos são classificados em assintomáticos ou sintomáticos leves, moderados e graves, na qual a síndrome respiratória aguda grave (SRAG) é uma das principais causas de mortalidade por COVID-19 (Shimke *et al.*, 2022; Coperchini *et al.*, 2020; OMS, 2023; BRASIL. Ministério da Saúde, 2023).

As manifestações clínicas da COVID-19 são bastante heterogêneas a depender do comprometimento dos pacientes. A doença pode iniciar desde um resfriado até o desenvolvimento da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e da síndrome hiperinflamatória. Também denominada de “tempestade de citocinas”, nesta síndrome ocorre o aumento na produção de citocinas do perfil Th1, Th2 e Th17, sendo: IL-1, IL-2, IL-6, IL-1 β , IL-10, IL-17, TNF, IFN- γ , GM-CSF, IP-10 e das quimiocinas: MCP-1 e MCP-3 (Coperchini *et al.*, 2020; Mehta *et al.*, 2020; Shimke *et al.*, 2022). Os sintomas mais recorrentes da COVID-19 são: tosse seca, dispneia, cansaço, dor de cabeça, ageusia, anosmia e distúrbios gastrointestinais. Os pacientes que apresentam os sintomas supracitados, não precisam de hospitalização. No entanto, nos casos mais graves, os pacientes podem apresentar a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) cursando com pneumonia grave, sepse, falência múltipla de órgãos, os quais necessitam de internação na UTI, podendo chegar a óbito (Neerukonda e Katneni. 2020; Wang *et al.*, 2020).

Os pacientes incluídos no grupo leve, não necessitam de internação, porém é necessário que eles fiquem em isolamento por 10 dias, após o início dos sintomas, utilizem máscaras de proteção e realizarem a higienização das mãos. No âmbito dos moderados, os pacientes necessitam de acompanhamento médico, sendo necessário a internação. Porém, não possuem as complicações fisiológicas compatíveis com a necessidade de serem internados na UTI, a exemplo da ventilação mecânica. Posteriormente, após a estabilização do quadro clínico, o paciente recebe a alta médica, mas segue sendo acompanhado pelo serviço de monitoramento de caso. Nos casos dos pacientes graves, ou seja, aqueles que necessitam de internamento na UTI, pois apresentam dificuldade respiratória, hipoxemia, é necessário a realização de oxigenoterapia suplementar imediata, somado a administração de antibacterianos para a prevenção de pneumonia ou sepse bacterianas, sendo necessário o acompanhamento dos parâmetros laboratoriais (BRASIL. Ministério da Saúde, 2023).

A mortalidade é maior em pessoas com idade superior a 65 anos e em indivíduos com comorbidades, a exemplo de diabetes, obesidade, hipertensão, doenças cardíacas graves e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (Richardson *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020). Por ser uma doença de imunopatogênese complexa, o estabelecimento de perfis imunológicos dos pacientes é difícil, principalmente com relação à disponibilidade de biomarcadores de evolução clínica, para que se possa compreender se o paciente é assintomático ou com sintomas leves, ou ainda que possa evoluir para a forma moderada e até grave (Wu *et al.*, 2020; Nadkarni *et al.*, 2020; Gómez-Rial *et al.*, 2020).

No âmbito laboratorial, os pacientes com COVID-19 apresentam elevação dos marcadores inflamatórios, a exemplo da proteína C reativa (PCR) e da lactato desidrogenase (LDH), e também nos marcadores de coagulação, a exemplo do d-dímero. Somado a isso, os parâmetros hematológicos, a contagem global dos leucócitos pode apresentar valores normais ou leucopenia. Além disso, quadros de linfopenia foram correlacionados a pacientes com a manifestação grave da doença. Em relação às plaquetas podem apresentar valores normais ou plaquetopenia leve, na maioria dos casos (Paranjpe *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2020).

2.2 SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um *betacoronavirus*, contendo o ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, sentido positivo e tamanho que varia de 26 a 32 quilobases (kb), constituindo-se como maior genoma viral composto por RNA, pertencendo à família *coronaviridae* e a ordem *Nidovirales* (Schoeman; Gordon e Fielding, 2022). A família *coronaviridae* possui quatro subfamílias, sendo: alfa, beta, gama e delta. Destes, os pertencentes a alfa e a beta são originárias da subclasse dos mamíferos, por outro lado, as subfamílias gama e delta foram identificadas nas aves e suínos (Walker *et al.*, 2019; Velavan e Meyer, 2020). Tais subfamílias, possuem a capacidade de desenvolver mutações genéticas, pois dispõem menor capacidade de corrigir erros de transcrição (Gorbalenya *et al.*, 2020; Vieira *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020). A pandemia da COVID-19 não foi o primeiro surto causado pelos coronavírus, pois anteriormente aconteceu o surto de SARS no período de 2003 a 2004 na China, e a da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2012, na Arábia Saudita (Hu *et al.*, 2021).

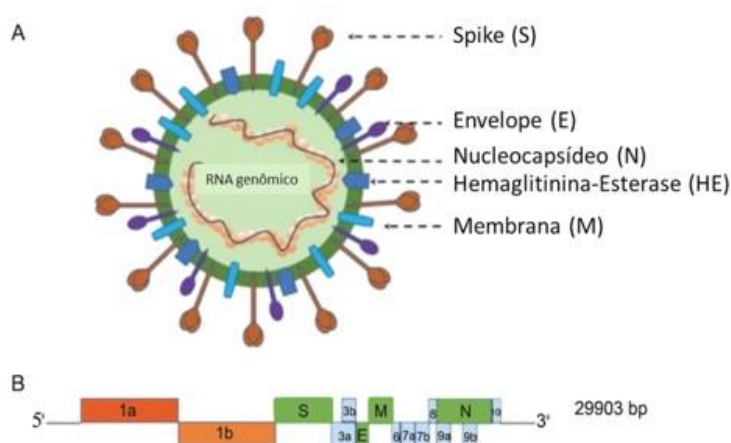
2.2.1 Estrutura

A estrutura morfológica viral é composta internamente por material genético do tipo RNA e pela proteína fosforilada do nucleocapsídeo (N). No nucleocapsídeo há a presença de duas proteínas superficiais, sendo a hemaglutinina-esterase (HE) e a proteína spike (S). O SARS-CoV-2 possui diâmetro variando entre 60 a 100 nm e apresenta formato esférico (Schoeman; Gordon e Fielding, 2022). Entre as proteínas S localizam-se a proteína do envelope (E) e a proteína de membrana (M) (Schoeman; Gordon e Fielding, 2022). O envelope da bicamada lipídica viral é composto por variadas proteínas, dentre elas destaca-se a glicoproteína S, responsável pelos processos de invasão, fixação e entrada nas células humanas. Essa glicoproteína possui o domínio de ligação ao receptor (RBD) em S1, o qual interage com a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE-2), presente nas células do hospedeiro, e o domínio S2 que atua na fusão da membrana celular viral e aumento da afinidade nesse processo (Yazdanpanah *et al.*, 2020; Infantino *et al.*, 2020).

O genoma é organizado de acordo com a ordem: 5'-replicase (1a\1b), espícula, envelope, nucleocapsídeo-3', possuindo limite 5' e poliadenilado em 3'. A

região da extremidade 5' possui um quadro de leitura aberto (orf) 1 a1b que constitui cerca de dois terços do genoma. Essa região é responsável pela codificação de proteínas não estruturais (nsp) que são fundamentais para o processo de replicação viral. Além disso, ocorre a codificação das proteínas estruturais, sendo a spike, membrana envelope, nucleocapsídeo e a região 3' não traduzida (3'-UTR) (Pyrce, Berkhout e Van Der Hoek. 2007; Neerukonda e Katneni. 2020; Schoeman; Gordon e Fielding. 2022). O SARS-CoV-2 demonstrou elevada homologia na sequência de nucleotídeos com o coronavírus de morcego semelhante à síndrome respiratória aguda grave (SARS), bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21. Foi observada 88% de homologia e 79,5% com o SARS-CoV, mas com 50% de homologia com o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (Lu *et al.*, 2020; Koyama *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020). O SARS-CoV-2 pertence à linhagem *betacoronavírus* 2B que infecta humanos (Lai *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020). Além disso, demonstrando a origem zoonótica do vírus, estudos genéticos demonstraram que o SARS-CoV-2 possui aproximadamente 96% de semelhança com o genoma do coronavírus de morcego (RaTG13), atribuído à morcegos da espécie *Rhinolophus affinis*, oriundo da extensão da Índia a China (Zhou *et al.*, 2020).

Figura 1- Representação da partícula viral (A) e do genoma do beta-coronavírus(B).



Fonte: Adaptado de Jin (2020).

2.2.2 Replicação viral

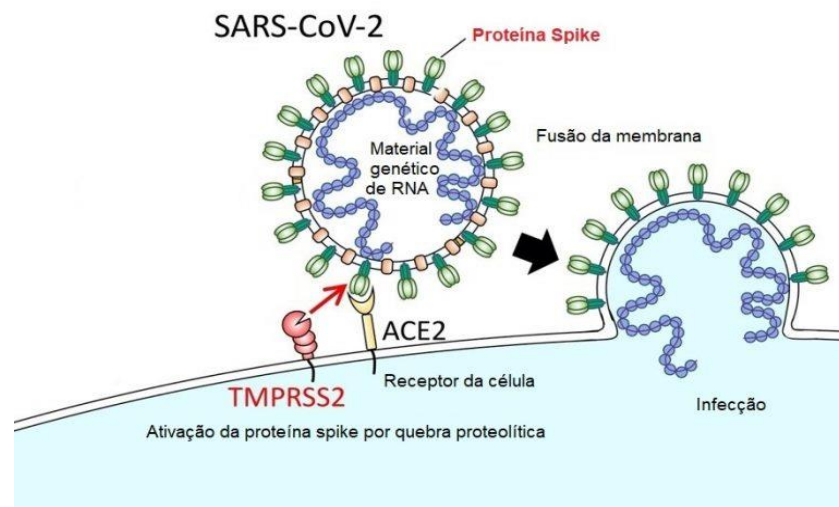
O Sars-Cov-2 utiliza a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE-2), receptor celular, na principal via de infecção viral, presente no coração, rins, vasos sanguíneos e principalmente nas células epiteliais dos alvéolos pulmonares (Yesudhas *et al.*, 2021; Angelopoulou *et al.*, 2020). Já na célula do hospedeiro, o fator essencial para desencadear o processo de infecção é ação da protease transmembrana serina 2 (TMPRSS2), haja vista que ela realiza a proteólise da proteína S do Sars-Cov-2 (Figura 2), permitindo a conexão entre o vírus e o hospedeiro e a infecção das vias aéreas (Fraser *et al.*, 2022).

Durante a infecção, as primeiras células a serem infectadas são as células multi-ciliadas da nasofaringe ou da traqueia e as sustentaculares da mucosa olfatória nasal (Ahn *et al.*, 2021; Hou *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2021). Após a entrada, ocorre a produção de proteínas virais, destacando-se as proteínas do tipo replicase que são essenciais para a formação das fábricas replicativas, por meio das membranas do retículo endoplasmático (Figura 3) (Knoops *et al.*, 2008; Ogando *et al.*, 2020). Essas regiões de replicação possuem vesículas de membrana dupla que protegem os intermediários de transcrição de RNA de fita dupla (dsRNA). A proteína associada à diferenciação do melanoma 5 (MDA5) é o principal receptor de Reconhecimento de Padrões (PRR) citoplasmático capaz de detectar o SARS-CoV-2, haja vista que dsRNA longos estimulam a síntese de interferons do tipo I e III. Os interferons realizam a sinalização de forma parácrina e autócrina para produzir genes com funções antivirais pela atração de células do sistema imunológico (Yin *et al.*, 2021; Sampaio *et al.*, 2021).

Simultaneamente, a produção das citocinas estimula o desenvolvimento da resposta adaptativa, via células B e T ativadas para eliminação do vírus. Porém, quando não ocorre a eliminação, as partículas virais se disseminam pelo trato respiratório superior e inferior (Hou *et al.*, 2020; Katsura *et al.*, 2020). Nos alvéolos, o SARS-CoV-2 realiza a infecção das células alveolares do tipo 2 (AT2) principalmente, mas também infecta as células alveolares do tipo 1 (AT1). Nesse sentido, as células AT2 secretam surfactantes pulmonares que atuam na lubrificação do tecido pulmonar, reduzindo a tensão superficial alveolar no momento da respiração. Enquanto as células AT1 são oriundas das células AT2, e revestem a maior parte da superfície alveolar, atuando na hematose. Devido a importância dessas

células no processo respiratório, quando infectadas, resultam no colapso alveolar, formação de edema pulmonar, lesão e em casos mais extremos, a SDRA (Salahudeen *et al.*, 2020; Lamers *et al.*, 2021; Lamers *et al.*, 2022).

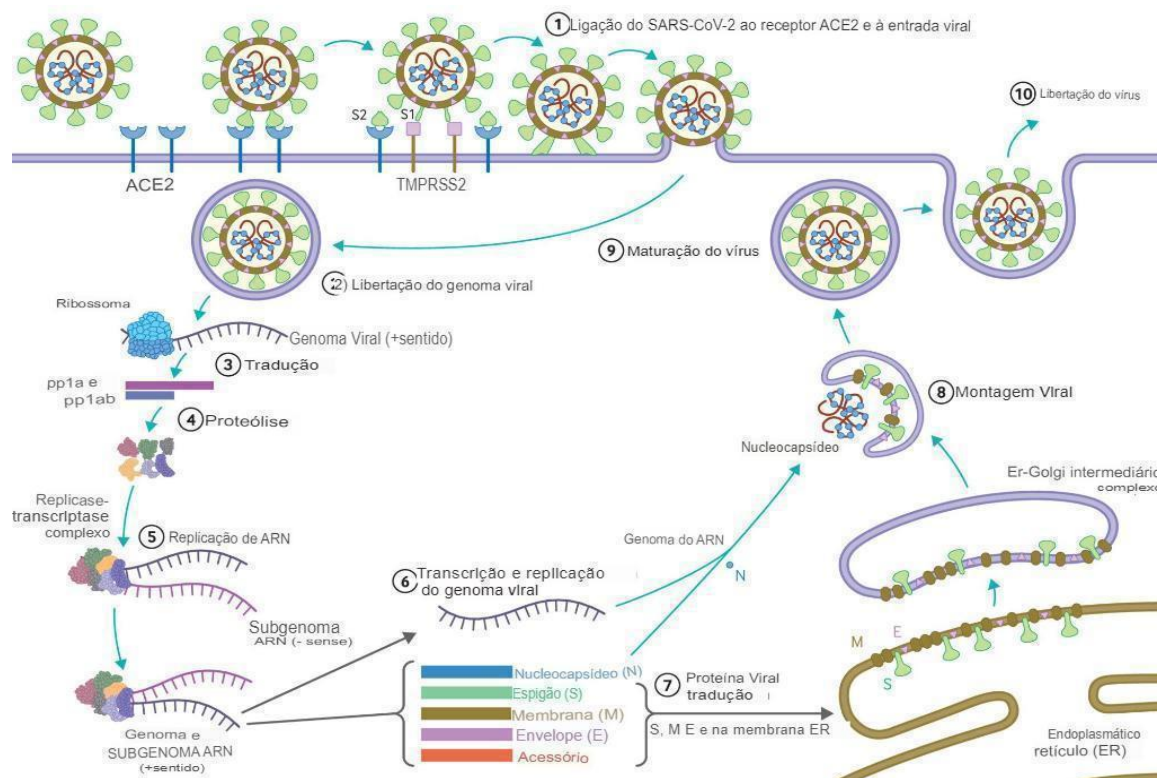
Figura 2- A proteína Spike liga-se ao receptor ACE2, que é ativado pela proteína TMPRSS2, presente nas células pulmonares, processo fundamental para a realização da fusão e infecção.



Legenda: ACE2: Enzima conversora da angiotensina 2 ; TMPRSS2: Protease transmembrana serina 2.

Fonte: Adaptado de Hoffmann (2020).

Figura 3- Processos relativos à tradução, replicação, transcrição do genoma viral, montagem da cópia viral e posterior liberação na corrente sanguínea.

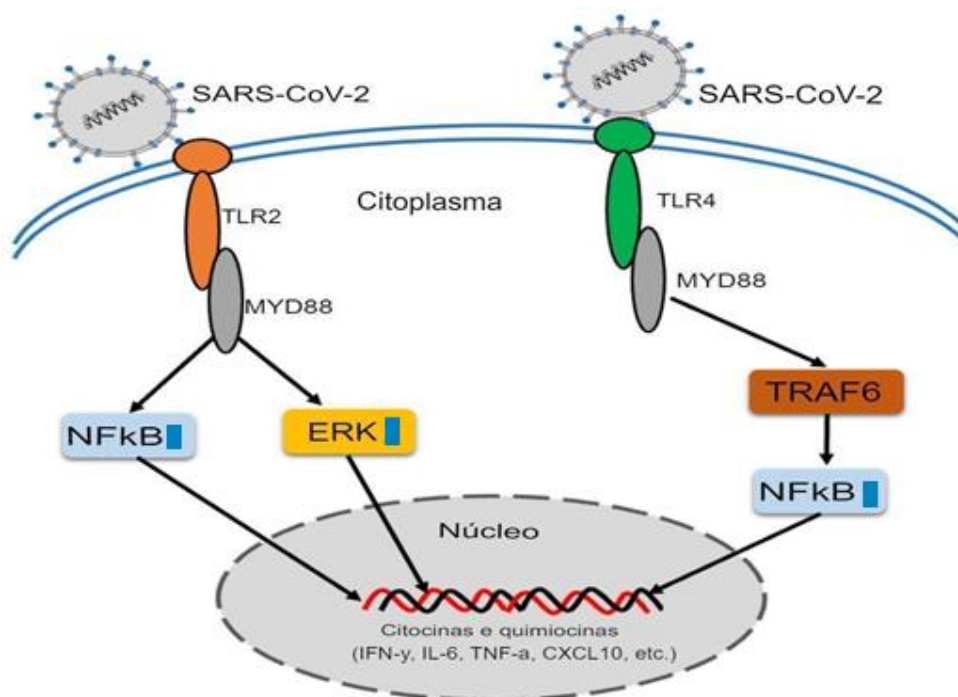


Fonte: Adaptado de Cevik (2020).

2.3.1 Resposta Imune inata

A resposta imune inata é estimulada após o contato do SARS-CoV-2 com as células do epitélio respiratório e com as células que compõem a resposta inata, a exemplo dos macrófagos alveolares e dos neutrófilos que geram o reconhecimento da proteína E viral pelo TLR2. Posteriormente ocorre a endocitose através das células epiteliais, das partículas virais via endossoma, no qual estão presentes o TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, responsáveis por reconhecer o ssRNA e a proteína S (Figura 4). Nesse sentido, os Padrões Moleculares Associados aos Patógenos (PAMPS) como as fitas de RNA fita simples são reconhecidas pelo receptor do tipo Toll-like 7 (TLR7) que é expresso nas células dendríticas (DC), monócitos e macrófago (Rokni *et al.*, 2020; Yazdanpanah *et al.*, 2020). O RNA viral é reconhecido por três PRRs, sendo os receptores do tipo Toll (TRL), os receptores semelhantes a RIG (RLRs) e os receptores semelhantes a NOD (NLRs), que são componentes do sistema imune inato.

Figura 4- Reconhecimento do Sars-Cov-2 pelo TLR2 e TLR4 e suas vias de ativação intracelular.



Legenda: CXCL10: Ligante 10 de quimiocina com motivo 10; ERK: Quinase regulada por sinal extracelular; NFκB: Fator nuclear Kappa B; MYD88: Fator de diferenciação mielóide 88; TRAF6: Fator associado ao receptor de TNF 6; IFN-γ: Interferon gama; IL-6: Interleucina 6; TLR2: Receptor do tipo toll 2; TLR4: Receptor do tipo toll 4; TNF-α: Fator de necrose tumoral alfa.

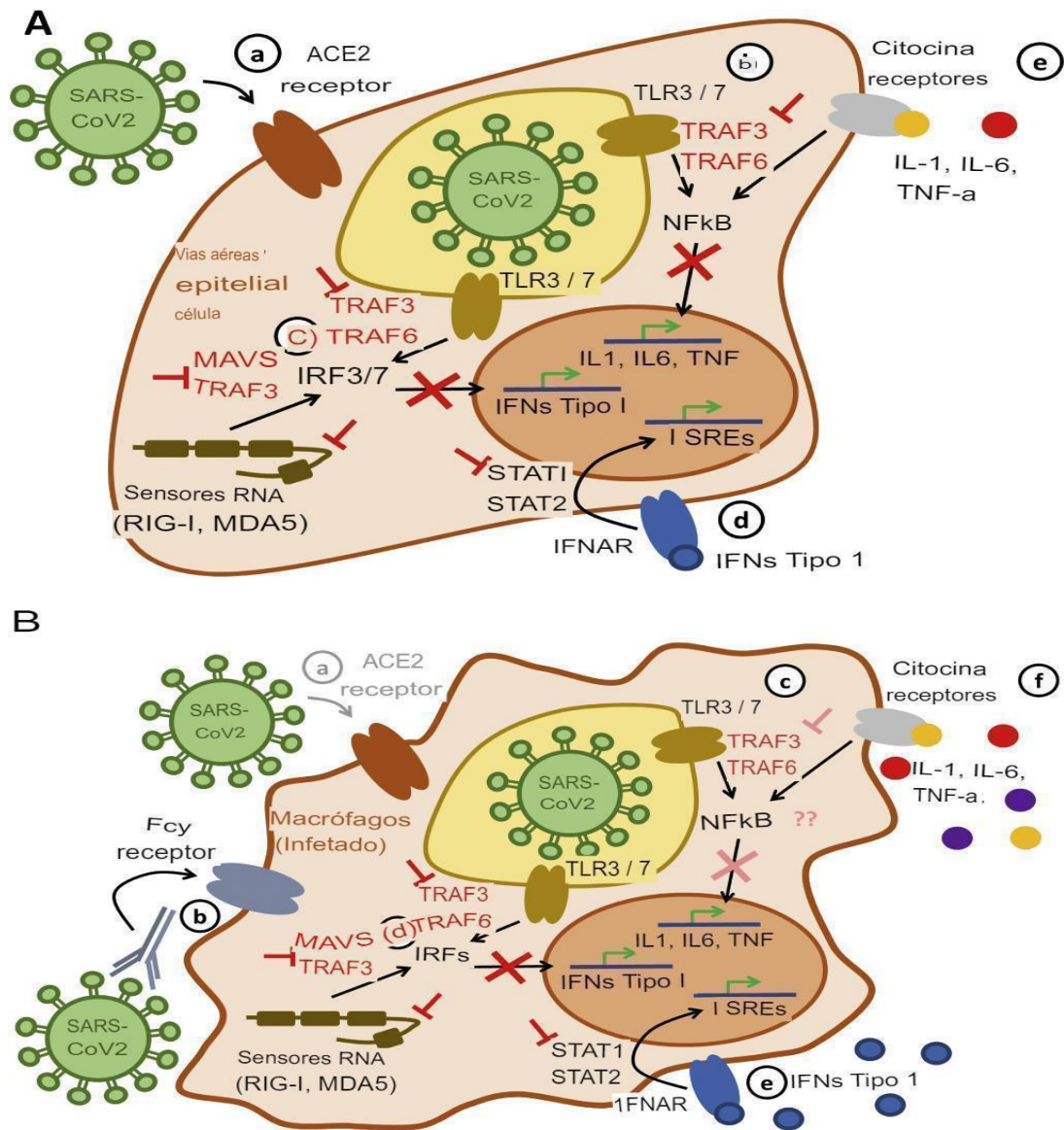
Fonte: Modificado de Kayesh; Kohara e Tsukiyama-Kohara (2021).

No citoplasma, o material genético viral é identificado pelo gene I induzível por ácido retinóico (RIG-1) e MDA5 (Shirato e Kizaki, 2021; Mdkana *et al.*, 2021). Após o reconhecimento via receptores, ocorre a ativação dos efetores da sinalização para o fator nuclear κB (NF-κB) (Jamilloux *et al.*, 2020; Yin *et al.*, 2021). O TLR7 desencadeia a ativação da via dos transdutores Janus quinase (JAK/STAT), do NF-κB, do fator de resposta ao interferon 3 (IRF3) e da proteína ativadora 1 (AP-1). Após a ativação, ocorre o aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, a exemplo da IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF), interferon I (IFN-I) e da proteína-1 quimioatraente de monócitos (MCP-1) (Yazdanpanah *et al.*, 2020; Prompetchara *et al.*, 2020). Somado a isso, os neutrófilos são recrutados para as zonas de infecção, nas quais eliminam as cópias virais por meio da secreção de armadilhas extracelulares dos neutrófilos (NETs) e de defensinas (Barnes *et al.*, 2020; Yazdanpanah *et al.*, 2020).

Os monócitos clássicos (cMo; CD14⁺ CD16⁻) são recrutados para o local da infecção, atuando contra os invasores por meio da elevada capacidade de adesão, migração e reconhecimento de padrões. Nesse sentido, existem também os macrófagos tissulares (TiMas) que são representados pelos monócitos intermediários (iMo; CD14⁺ CD16⁺) e monócitos não clássicos (ncMo; CD14^{dim} CD16⁺). Os iMo e os ncMo são originados a partir dos cMo, inicialmente do clássico para o intermediário e posteriormente para o não clássico. Estes, possuem maior quantidade de moléculas MHC-II, permitindo que atuem especificamente na apresentação de antígenos. Somado a isso, atuam na regulação da apoptose e na produção de citocinas pró-inflamatórias: IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-12 e anti-inflamatória: IL-10 (Belge, Kai-Uwe *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2017; Kapellos *et al.*, 2019). Os não clássicos realizam a fagocitose mediada pela liberação dos fatores do sistema complemento e dos receptores para imunoglobulinas Ig (FcR), nas respostas virais, atuam no reparo do endotélio vascular na manutenção da homeostase e na remoção dos restos celulares (Schmidl, Christian *et al.*, 2014; Kapellos *et al.*, 2019).

O SARS-CoV-2 dispõe de mecanismos de evasão do sistema imunológico que afetam a resposta antiviral efetiva através do bloqueio da produção do IFN e do reconhecimento dos PAMP's pelos PRR's. Tais acontecimentos são visualizados nos pacientes que possuem manifestações mais graves, haja vista que ocorre a soma do atraso da resposta imune e adaptativa, contribuindo para o maior tempo com a carga viral elevada (Taefehshokr *et al.*, 2020; Christie *et al.*, 2021; Oh e Shin, 2021). O IRF 3/7 (fator regulador do interferon 3/7) estimula a produção de IFN tipo I que ativa a via JAK1/TYK2-STAT 1/2 (via de sinalização do tipo JAK-STAT). Os fatores de transcrição STAT1 e STAT2 se ligam ao IRF9, formando um complexo que entra no núcleo e inicia a transcrição dos genes estimulados por interferons (ISGs). Essa ativação é necessária para inibir a replicação viral, reduzir a disseminação e aumentar a eficácia da resposta imune adaptativa.

Figura 5- Mecanismos de evasão do sistema imunológico pelo SARS-CoV2.



Legenda: A) Célula epitelial das vias aéreas: o SARS-COV-2 infecta as células epiteliais das vias aéreas por meio da interação com a enzima conversora de Angiotensina 2 (ACE2) (a). O SARS-COV-2 inibe a ativação dos fatores de associados ao receptor de fator de necrose tumoral (TNF), fator de necrose tumoral associado ao fator 3 (TRAF3) e fator de necrose tumoral associado ao fator 6 (TRAF6), sendo uma ação diferente da esperada para os vírus de RNA que por via de regra ativam os TLR3 e ou TLR7 nos endossomos (b) e também ativam os sensores de RNA citosólico, sendo o RIG-1 e MDA-5 c, por esse motivo, reduzindo a ativação dos fatores de transcrição NFkB. IRF3, IRF7, causando a supressão das respostas pró-inflamatórias prévias por meio dos interferons do tipo 1 (IFN-I) e das citocinas pró-inflamatórias efetoras, IL-1, IL-6 e TNF. Somado a isso, o SARS-COV-2 inibe a ativação da via STAT (d) em resposta a ativação do receptor de interferon do tipo 1 (IFNAR1),

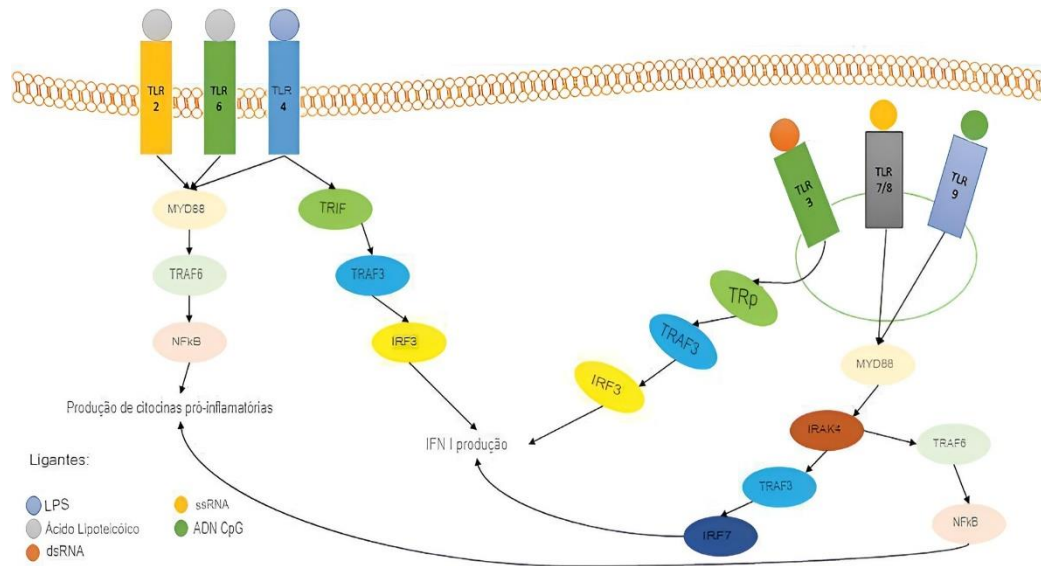
ocorre o dano tecidual local, doença pulmonar grave e disseminação inflamatória sistêmica, piorando o quadro clínico e levando os pacientes em estado grave (Casillo *et al.*, 2020; Tay *et al.*, 2020). Nos pacientes graves, a resposta imune exacerbada e descontrolada é denominada de “tempestade de citocinas”, que é responsável pelo ataque do sistema imune ao próprio organismo, causando lesões, falência múltipla de órgãos e SRAG, que podem levar a morte (Hu, Huang e Yin. 2021; Mehta *et al.*, 2020).

As células dendríticas estão presentes no fígado e nos tecidos linfóides, podendo ser originadas dos monócitos em situações inflamatórias. Sua função é baseada na apresentação de antígenos às células T, sendo fundamental para ativação e diferenciação dos linfócitos T naive (Conti, Bruno José; Santiago, Karina Basso; Sforzin, José Maurício. *et al.*, 2014; Patente, Thiago A. *et al.*, 2019). As células dendríticas plasmocitóides são células imunes circulantes, reconhecidas por sua capacidade de produzir elevadas quantidades de IFN (IFN-I), sendo indispensáveis para a resposta mediada por IFN do tipo I na região da infecção, para suprimir a replicação viral.

No entanto, o SARS-CoV-2 dispõe de mecanismos de evasão do sistema imune que interferem diretamente nesse tipo de resposta, desencadeando a hiperinflamação (Figura 5) (Jamilloux *et al.*, 2020; Felsenstein *et al.*, 2020). São subdivididas em clássicas ou mielóides (cDCs; CD11c⁺⁺ CD12⁻) e plasmocitoides (pDCs, CD11c⁻ CD123⁺). Além disso, levando em consideração a expressão dos CD141 e CD1c, são classificadas em cDC1 (CD141⁺) e cDC2 (CD1c⁺). A primeira, atua na resposta antitumoral e antiviral, apresentando antígenos às células T CD8⁺, através da via MHC-1, promovendo resposta Th1. Enquanto as cDC2 apresentam antígenos para os linfócitos T, principalmente às células T CD4⁺, posteriormente diferenciando-se em Th1, Th2, Th17 e T regulatórias (Collin, Matthew; Bigley, Venetia. 2018; Patente, Thiago A. *et al.*, 2019).

Por último, as células dendríticas plasmocitóides (pDCs) atuam na produção de interferon do tipo I, destacando os IFN- α e IFN- β e interferon do tipo III (IFN- γ) além de outras citocinas antivirais, atuando no início das infecções virais. Essas ações são possibilitadas pelo fato dessas células expressarem em altos níveis de Toll-like receptors (TLR) endossômicos (TLR-3, TLR-7, TLR-8 e TLR-9) que atuam no reconhecimento dos ácidos nucleicos virais (Figura 7) (Bao, Musheng; Liu, Yong-Jun. 2013; Swiecki, Melissa; Colonna, Marco. 2015; Patente, Thiago A. *et al.*, 2019).

Figura 7- A interação dos receptores do tipo Toll com os diferentes tipos de ligantes e suas respectivas respostas inflamatórias.



Fonte: Adaptado de Khanmohammadi e Rezaei (2021).

2.3.2 Resposta Imune adaptativa

A apresentação dos antígenos virais pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), a exemplo dos macrófagos e das células dendríticas, para as células TCD4+ e TCD8+, estimula a imunidade adaptativa do organismo, promovendo a produção de citocinas inflamatórias pela via sinalizadora NF-κB (Jamilloux *et al.*, 2020; Barnes *et al.*, 2020). Os linfócitos TCD4+ induzem a atuação efetora dos linfócitos TCD8+ e a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos. Por sua vez, os plasmócitos compõem a resposta humoral, haja vista que atuam na produção dos anticorpos, por volta de sete a 14 dias após a infecção. Nesse sentido, essa resposta é possível, após o reconhecimento e apresentação pelas células apresentadoras de antígeno dos principais antígenos virais, sendo eles a proteína S, nucleocapsídeo, ORF8 e OFR3b (Bonjorno *et al.*, 2020; Guihot *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021).

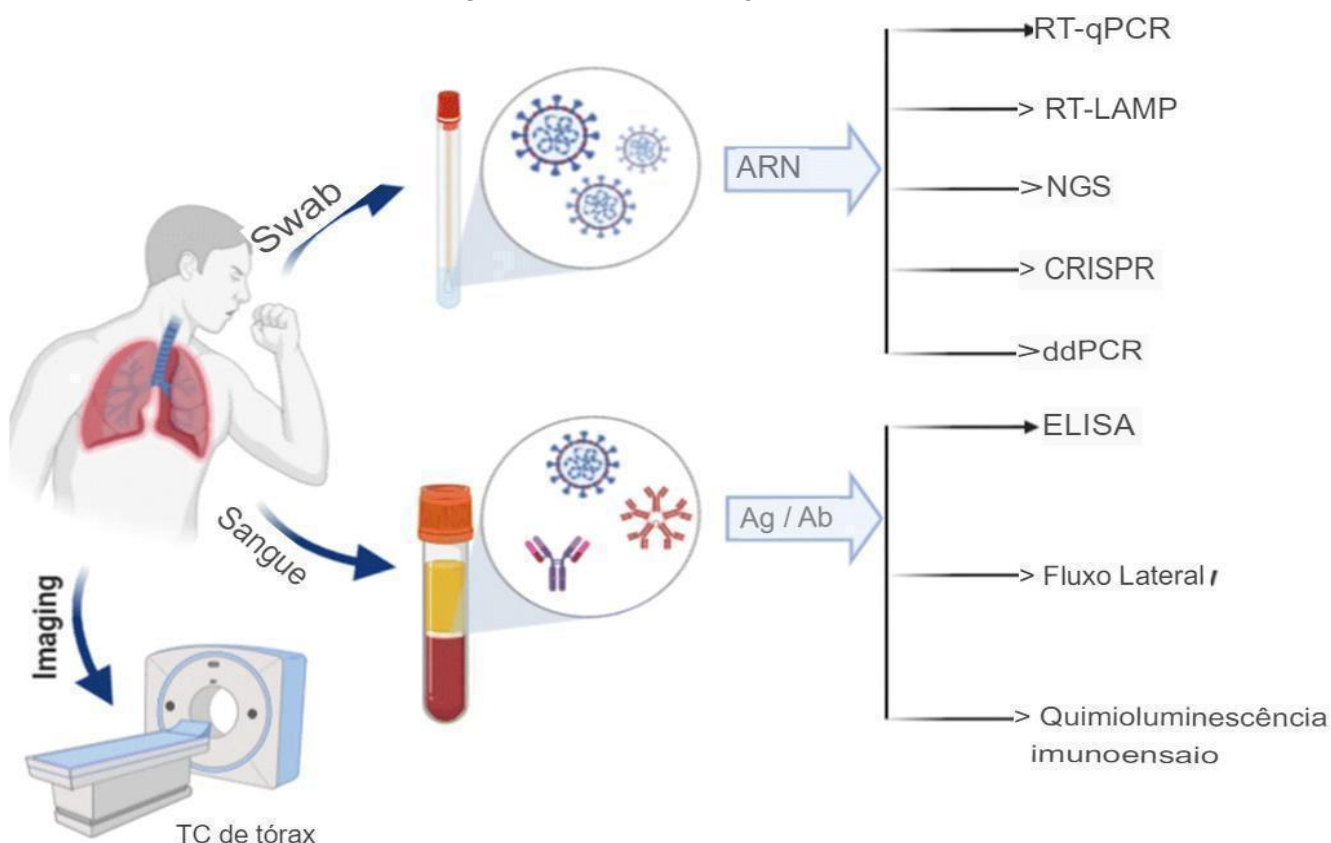
As células T citotóxicas destroem as células infectadas pelo Sars-Cov-2, enquanto as células B ativadas produzem anticorpos específicos contra o patógeno. O conjunto dessas vias imunológicas objetiva o fornecimento de um ambiente inflamatório para a eliminação do SARS-Cov-2 (Li *et al.*, 2020; Casillo *et al.*, 2020). Entretanto, o controle da infecção viral depende da ação do sistema imunológico do organismo infectado, quando se trata de uma resposta regulada. Porém, na COVID-19, quando a resposta é descontrolada, contribui para a manifestação da fisiopatologia. Na maioria dos pacientes graves, a infecção desencadeia a linfopenia, reduzindo o número das células T CD4+, T CD8+, Natural Killer e células B, sendo considerado como um possível marcador de mau prognóstico da COVID-19 (Huang *et al.*, 2020). A linfopenia pode ser explicada pela infecção direta dos linfócitos, pois os mesmos expressam a ACE2, causando a morte dessas células. Além disso, o SARS-CoV-2 pode causar a destruição dos órgãos linfáticos, causando redução na produção dos linfócitos. Outra possibilidade seria a apoptose dos linfócitos pelo excesso de citocinas pró-inflamatórias e por último, a inibição dos linfócitos pela presença da acidose láctica (Delshad *et al.*, 2021). A redução dos linfócitos TCD4+ e dos linfócitos TCD8+ contribuem para a desregulação da resposta imunológica na COVID-19, tendo em vista a diminuição da efetividade na eliminação do SARS-CoV-2, resultando no aumento da multiplicação das cópias virais e na intensificação do dano pulmonar (Azkur *et al.*, 2020; Jesenak *et al.*, 2020).

O direcionamento dos anticorpos aos locais de interação entre o vírus e a célula do hospedeiro impede a ligação entre a proteína S à ACE2. No entanto, a ligação do IgG anti-proteína S ao vírus facilita a absorção viral por meio dos receptores Fc, sendo denominado de *Antibody-Dependent Enhancement (ADE)* (García, Luis F. 2020; Molaei *et al.*, 2021). Tal ocorrência pode levar à infecção dos monócitos, macrófagos e das células B, aumentando a quantidade das cópias virais e reduzindo a eliminação do patógeno. Por esse motivo, a presença dos anticorpos não neutralizantes pode inferir no desenvolvimento das manifestações graves da COVID-19, tanto pelo aumento da carga viral e pela indução da tempestade de citocinas (Molaei *et al.*, 2021; García, Luis F. 2020; Wang e Zand, 2021). As proteínas S e o nucleocapsídeo do SARS-CoV-2 são as mais imunogênicas, desse modo, a produção de IgG nucleocapsídeo específico e IgG proteína S específico são detectados nos pacientes recuperados (Tay *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021).

2.4 Diagnóstico e Tratamento

Em relação ao diagnóstico da COVID-19, o tempo de incubação da doença, que varia de cinco a catorze dias, têm um papel relevante no diagnóstico assertivo e precoce, a fim de bloquear o ciclo de transmissão viral. Por esse motivo, existem diferenças no tipo dos métodos diagnósticos utilizados e no tempo no qual serão empregados. Por essa razão, é recomendado o uso da reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-PCR) para a detecção do RNA viral ou do antígeno viral após três dias do início dos sintomas, mediante a utilização de swab nasofaríngeo. Por outro lado, a detecção dos anticorpos: imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) produzidas contra o SARS-COV-2 devem ser realizados após o sétimo dia do início dos sintomas (Wiersinga *et al.*, 2020; Brasil, 2020b).

A realização do diagnóstico preciso da COVID-19 não é uma tarefa simples, tendo em vista a variedade das manifestações clínicas desta doença, variando de indivíduos assintomáticos até pacientes que desenvolvem a falência múltipla de órgãos (RAI, Praveen *et al.*, 2021). Nesse sentido, leva-se em consideração a trajetória epidemiológica do pacientes, incluindo dinâmica de movimentação e contato com outros indivíduos, além da caracterização das manifestações clínicas, somado a realização de tomografia computadorizada (TC), teste de amplificação de ácido nucléico (NAAT) e testes rápidos, pela detecção de anticorpos, por meio de métodos sorológicos (Kim *et al.*, 2011; ZOU *et al.*, 2020). O diagnóstico da COVID-19 é realizado através da reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR), reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (rRT-PCR) e pela amplificação isotérmica através do loop de transcrição reversa (RT-LAMP) (Figura 8) (Zhai *et al.*, 2020; Bhadra *et al.*, 2015; Chan *et al.*, 2015).

Figura 8- Métodos de diagnóstico da COVID-19.

Fonte: Adaptado de Rai (2021).

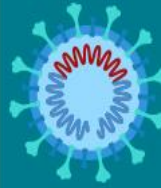
Os pacientes incluídos no grupo leve não necessitam de internação, porém é necessário que os mesmos fiquem em isolamento por 10 dias, após o início dos sintomas, utilizem máscaras de proteção e realizem a higienização das mãos. No âmbito dos moderados, os pacientes necessitam de acompanhamento médico, sendo necessário a internação. Porém, não possuem as complicações fisiológicas compatíveis com a necessidade de serem internados na unidade de terapia intensiva (UTI), a exemplo da ventilação mecânica. Posteriormente, após a estabilização do quadro clínico, o paciente recebe a alta médica, mas segue sendo acompanhado pelo serviço de monitoramento de caso. Nos casos dos pacientes graves, ou seja, aqueles que necessitam de internamento na unidade de terapia intensiva (UTI), pois apresentam dificuldade respiratória, hipoxemia, é necessário a realização de oxigenoterapia suplementar imediata, somado a administração de antibacterianos para a prevenção de pneumonia ou sepse bacterianas, sendo necessário o acompanhamento dos parâmetros laboratoriais (Ministério da Saúde, 2023).

O tratamento dos pacientes com COVID-19 é baseado na apresentação clínica dos indivíduos, com caracterização dos sintomas e das doenças de base preexistentes. Com isso, têm-se a terapia com suporte de oxigênio, terapia antiviral, na qual destaca-se a utilização da hidroxicloroquina, azitromicina, remdesivir (análogo de nucleosídeo), lopinavir e ritonavir (inibidores de protease), ACE-2 solúvel recombinante, interferons tipo 1 e plasma de pacientes convalescentes. Somado a isso, há a utilização de corticosteróides, imunoglobulinas intravenosas e antagonistas de Janus quinases (JAK) (Felsenstein *et al.*, 2020).

O desenvolvimento de vacinas na pandemia da COVID-19 foi de suma importância para o salvamento de muitas vidas, haja vista que trata-se de um mecanismo de imunização ativa, pois estimula o sistema imunológico a produzir anticorpos contra o agente infeccioso. Nesse sentido, existem por volta de dezoito vacinas contra COVID-19 que foram aprovadas e estão sendo usadas no mundo (Ndwandwe e Wysonge, 2021). Sendo divididas em quatro categorias: vacinas à base de proteínas, vacinas de vetores virais, vacinas de ácido nucleico e vacinas de vírus completos (Nagy e Alhatlani, 2021). A vacinação é uma ação profilática, ou seja, preventiva, sendo fundamental no combate a uma doença. Sendo corroborado pela detecção de variantes de importância patológica, haja vista que alteram a taxa de transmissão e o índice de gravidade da doença (Who, 2022).

Nesse sentido, a Organização Mundial de Saúde destaca cinco principais variantes, sendo: alfa (B.1.1.7), beta (B.1.351), gama (P.1), delta (B.1.617.2) e ômicron (B.1.529), sendo caracterizadas por apresentar mutações em diferentes regiões da proteína Spike (proteína S), desafiando o processo de tratamento e vacinação (Harvey *et al.*, 2021; O'toole *et al.*, 2021). No Brasil, as variantes gama e delta foram responsáveis pelo aumento da transmissibilidade e letalidade no primeiro semestre de 2021. No período vigente, ao âmbito nacional e mundial, a variante omicron possui maior prevalência que se apresenta com menor letalidade e sintomatologia mais leve (Brizzi *et al.*, 2022).

Figura 9- Principais tecnologias vacinais empregadas na COVID-19.

Tipos de Vacina	DNA ou RNA	Vivo atenuado	Inativado	Subunidades	Vetor viral
					
Exemplos existentes	Nenhum	Sarampo, Caxumba, Rubéola e Catapora	Poliomielite	Hepatite B, HPV e Coqueluche	Ebola
Grupos testando esta plataforma para COVID-19	Moderna (RNA) Inovio (DNA)	Codagenix Indian Immunologicals Ltd.	Sinovac Sinopharm	Novavax AdaptVac	Universidade de Oxford & AstraZeneca CanSino Biologics Johnson & Johnson

Fonte: Adaptado de Cheng; Lurie; Zhu (2020) e Labtest e OMS (2020).

No contexto, da COVID-19 o desenvolvimento da grande quantidade de vacinas e em tempo muito reduzido, foi fundamental para que a pandemia não causasse ainda mais perdas, porém estudos estão sendo realizados para avaliar a imunização a longo prazo. Além disso, por se tratar de um vírus com elevada capacidade mutagênica, não se pode descartar a possibilidade de novos surtos e manifestações clínicas ainda mais complexas. Por esse motivo, é necessário a prospecção de biomarcadores que auxiliem no prognóstico e tratamento dos indivíduos que estão infectados, pois nesses casos, a administração da vacina não obterá efeito profilático nesses pacientes.

2.5 Biomarcador

Biomarcador é uma medição que reflete a interação entre um sistema biológico e um perigo potencial, podendo ser biológico, químico ou físico. Na qual, a resposta expressa pode ser fisiológica e funcional, bioquímica em nível celular ou em interações moleculares (Who *et al.*, 1993). Pode ainda ser descrito, como um parâmetro biológico que possibilita a previsão do desfecho clínico, sendo menos dispendioso, medido em intervalos de tempo reduzidos e mais acessível quando comparado a medição direta

do desfecho clínico final. Nesse sentido, são utilizados no diagnóstico, triagem, indicadores de prognóstico, monitoramento e caracterização de doenças, prevenção e tratamento de efeitos adversos medicamentosos, entre outros. O conhecimento sobre a relação fisiopatológica entre o desfecho clínico e o biomarcador é fundamental para compreender seu valor, pois para serem considerados aptos, devem ser mensuráveis, apresentando a menor variabilidade possível (Ronson *et al.*, 2017).

Os biomarcadores são utilizados desde a medição da pressão arterial até exames laboratoriais complexos. No âmbito laboratorial, o uso desses marcadores é mais recente, exigindo a realização de estudos e o desenvolvimento de abordagens mais específicas (Strimbu e Tavel, 2010). A pesquisa de biomarcadores é fundamental para o desenvolvimento de medicamentos, acompanhamento da evolução clínica dos pacientes e avanço na pesquisa biomédica (Strimbu e Tavel, 2010). Nesse contexto, por se tratar de uma doença complexa e de desfechos clínicos variados, é necessária a prospecção de biomarcadores para a evolução clínica de pacientes com a COVID-19, visando o aperfeiçoamento e ampliação do tratamento desses pacientes. Nessa perspectiva, muitos estudos têm-se desenvolvido nessa área, apresentando potenciais biomarcadores (Kermali *et al.*, 2020; Coomes *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2020; Tay *et al.*, 2020; Gómez-Rial *et al.*, 2020).

2.5.1 Biomarcadores da COVID-19

2.5.1.2 Procalcitonina (PCT)

A procalcitonina (PCT) é precursora do hormônio calcitonina que atua na homeostase dos níveis séricos de cálcio no organismo. Além disso, é um biomarcador sérico utilizado na avaliação de infecções bacterianas e na evolução desta patologia (Schuetz *et al.*, 2019). Não obstante, estudos realizados detectaram que a PCT está frequentemente aumentada em indivíduos com COVID-19, tendo em vista a cascata inflamatória desencadeada pela tempestade de citocinas (Lippi e Plebani, 2020; Sohn *et al.*, 2020). Por esse motivo, hipotetiza-se que os pacientes com COVID-19 que apresentam índices de PCT mais elevados, apresentam evolução clínica desfavorável. Por isso, a identificação prévia desses pacientes pode auxiliar a equipe hospitalar na triagem e na escolha dos tratamentos mais adequados (Lippi e Plebani, 2020; Hu *et al.*, 2020).

2.5.1.3 Dímero-D

O dímero-D é gerado a partir da quebra da rede de fibrina polimerizada, indicando o processo de ativação da coagulação sanguínea e da fibrinólise (Zhang *et al.*, 2018). Pesquisas realizadas na década de 2000 demonstraram que a maior parte dos pacientes internados com pneumonia apresentaram aumento na atividade da coagulação, sendo explícita pelos níveis mais elevados de dímero-D (Milbrandt *et al.*, 2009). Na COVID-19 ocorrem distúrbios hemostáticos, principalmente o processo da hipercoagulabilidade, demonstrando a relevância deste produto de degradação. Nesse sentido, estudos realizados neste âmbito demonstram que os níveis de d-dímero estão associados ao prognóstico da COVID-19, haja vista que os pacientes que evoluíram a óbito apresentaram níveis mais elevados de dímero-D quando comparado aos que sobreviveram (Zhang *et al.*, 2020). Nessa perspectiva, foi descoberto que os pacientes internados na UTI apresentaram níveis aumentados de dímero-D quando comparados aos indivíduos que não estavam na UTI (Kermali *et al.*, 2020). Por essa razão, acredita-se que o dímero-D pode ser utilizado como biomarcador de prognóstico de pacientes com a COVID-19, auxiliando os médicos no monitoramento (Huang *et al.*, 2020; Kermali *et al.*, 2020).

2.5.1.4 Interleucina 6 (IL-6)

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que é liberada principalmente por macrófagos ativados, aumentando acentuadamente nas manifestações graves da COVID-19 (Mahajan *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020). No entanto, a maior parte dos estudos realizados foram observacionais, por esse motivo, não é possível afirmar que o aumento dessa citocina é significativo para influenciar nas manifestações graves da doença. No entanto, alguns estudos demonstraram que os pacientes com a manifestação grave da COVID-19 apresentam concentrações médias 2,9 vezes superiores aos pacientes sem as manifestações graves da doença (Chen *et al.*, 2020; Chen, N *et al.*, 2020; Diao *et al.*, 2020; Ruan *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020; Coomes *et al.*, 2020).

2.5.1.5 Proteína C reativa (PCR)

A PCR é uma proteína sérica de fase aguda positiva e inespecífica produzida pelo fígado e induzida por mediadores pró-inflamatórios, a exemplo da IL-6. Nesse sentido, embora seja inespecífico, essa proteína é amplamente utilizada como biomarcador em condições inflamatórias, desde infecções bacterianas, diabetes a doenças cardiovasculares (Gong *et al.*, 2020). Alguns estudos demonstraram que os pacientes com a manifestação grave da COVID-19 apresentaram níveis significativamente mais elevados de PCR quando comparados com os pacientes não graves. Além disso, outros estudos descobriram que os pacientes que possuíam níveis aumentados da PCR, apresentavam maior chance de progressão para a manifestação grave da doença (Qin *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020). A PCR é indicada para avaliação de inflamação aguda e sua concentração sérica/plasmática está atrelada à gravidade da inflamação sistêmica (Tay *et al.*, 2020).

2.5.1.6 Lactato desidrogenase (LDH)

A LDH é uma enzima citoplasmática responsável por catalisar a oxidação do lactato em piruvato e dinucleotídeo de nicotinamida-adenina (NAD), como acceptor de hidrogênio, sendo a via final da glicólise anaeróbia (Rifai, 2017). Nessa perspectiva, possui cinco isoformas, LDH-1 e LDH-2, expressas nos rins, coração e eritrócitos; LDH-3, expresso nos pulmões; LDH-4 e LDH-5, expressos no fígado e no músculo esquelético (Jurisic *et al.*, 2015). Em situações que ocorrem danos teciduais induzidos pela produção de mediadores pró-inflamatórios, ocorre a liberação de LDH na corrente sanguínea (Erez *et al.*, 2014). Nesse cenário, acredita-se que os pacientes que apresentam manifestação grave da COVID-19 com desenvolvimento da pneumonia intersticial, apresentaram níveis mais elevados da isoforma LDH-3, que está presente em grande quantidade no tecido pulmonar (Henry *et al.*, 2020). No entanto, a participação das isoformas da LDH para o valor total dosado em pacientes com COVID-19 não foi determinada (Guan *et al.*, 2020). Na pneumonia induzida pelo SARS-COV-2 ocorre necrose da membrana celular, desencadeando a liberação da LDH na corrente sanguínea, correlacionando os níveis de LDH com o desenvolvimento da COVID-19 (Han *et al.*, 2020; Ferrari *et al.*, 2020). Além disso, estudos demonstraram que pacientes internados na UTI apresentaram níveis mais

elevados de LDH quando comparados aos pacientes que não estavam na UTI, podendo ser um biomarcador preditivo da doença grave. Nesse acepção, houve correlação entre a extensão do dano tecidual e inflamação com os níveis de LDH, entre a gravidade da pneumonia e níveis mais elevados de LDH (Luo *et al.*, 2020; Guan *et al.*, 2020; Xiong *et al.*, 2020; Mo *et al.*, 2020).

2.5.1.7 Receptor solúvel do ativador do plasminogênio da uroquinase (SuPAR)

O SuPAR é uma molécula envolvida no processo de coagulação e no recrutamento de leucócitos em eventos infecciosos, refletindo o nível de ativação do sistema imunológico (Furlan *et al.*, 2004; Galliera *et al.*, 2022). É conhecido como agente prognóstico em diversos tipos de infecções, a exemplo da pneumonia e sepse bacteriana (Donadello *et al.*, 2012). Pode prever o risco da SDR na sepse, pois se correlaciona diretamente com inflamação e a mortalidade (Galliera *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2019). Estudos recentes evidenciam que os níveis de SuPAR podem ser correlacionados com os pacientes com pneumonias por COVID-19 e preditor de complicações em pacientes com covid-19 internados em UTI. Os pacientes que evoluíram para óbito apresentaram níveis de SuPAR superiores quando comparados aos que se recuperaram. (D'Alonzo *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020).

2.5.1.8 Receptor para produtos finais de glicação avançada solúvel (sRAGE)

O RAGE está ligado à membrana e é expresso na maior parte dos tecidos humanos, porém com maior concentração nos pulmões (Oczypok *et al.*, 2017). A forma solúvel, sRAGE, atua como biomarcador de doenças (Selvin *et al.*, 2013 ; Dozio *et al.*, 2020). Estudos relataram que o RAGE participa no processo de infecção pelo SARS-COV-2 na SDR, pois o receptor tipo 1 da angiotensina II (ATII) (AT1R) pode ativar o RAGE sem a presença dos seus ligantes (Pickering *et al.*, 2019; Rojas *et al.*, 2020). O SARS-CoV-2 utiliza a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor para adentrar na célula, induzindo sua regulação negativa, aumentando os níveis de ATII e do AT1R (Zhang *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020). Além disso, já foi demonstrado que vesículas extracelulares advindas do plasma de pacientes com a manifestação grave da COVID-19 são

enriquecidas em uma proteína de ligação recentemente identificada (EN-RAGE) (Krishnamachary *et al.*, 2020).

2.5.1.9 Forma solúvel do receptor CD163 (sCD163)

O CD163 pertence à família dos receptores necrófagos da classe B, possuindo a principal função de realizar a endocitose dos complexos de hemoglobina-haptoglobina (Hb-Hp) (Kristiansen *et al.*, 2001). É um marcador de diferenciação mielóide, sendo considerado como biomarcador de ativação de monócitos-macrófagos, pois encontra-se em níveis elevados nos macrófagos e monócitos, sendo sua forma solúvel detectada no plasma. Os macrófagos que expressam o CD163 atuam na regulação da inflamação, reduzindo os possíveis danos associados à presença da hemoglobina livre (Schaer *et al.*, 2007). Após estimulação pró-inflamatória, ocorre a clivagem proteolítica do CD163 da superfície celular, gerando a forma solúvel (sCD163), atuando na regulação da inflamação por mecanismos que não foram totalmente elucidados (Weaver *et al.*, 2007). Nesse sentido, sua atuação foi estudada na análise da evolução clínica de pacientes infectados pelo HIV (Tippett *et al.*, 2011; Gómez-Rial *et al.*, 2020). No entanto, não foi observada correlação relevante entre os níveis de sCD163 com os índices laboratoriais: LDH, PCT, ferritina, d-dímero, IL-6 e linfócitos. Ademais, também não foi observada diferença estatisticamente significativa ao comparar os níveis de sCD163 nos pacientes internados em UTI com os não internados na UTI. Em contrapartida, observou-se correlação entre o tempo decorrido entre a admissão no hospital até o período de dosagem da amostra, indicando um possível biomarcador de progressão da doença (Gómez-Rial *et al.*, 2020).

2.5.1.10 Presepsina (sCD14-ST)

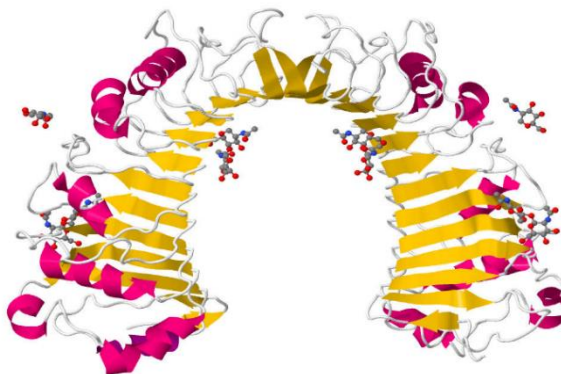
Após clivagem proteolítica do sCD14, ocorre a formação de fragmentos N-terminais compostos por 64 aminoácidos de 13 kDa, sendo denominado de PSP ou SD14-ST, sendo conhecido por atuar como fator modulador do sistema imunológico, tendo em vista a interação com células B e T (Memar *et al.*, 2019; Zaninotto *et al.*, 2020). A PSP é considerada como novo biomarcador útil no diagnóstico e prognóstico

de pacientes com sepse. Estudos têm sido realizados em busca de uma possível correlação entre o prognóstico da COVID-19 e a PSP, porém os resultados ainda são inconsistentes (Guarino *et al.*, 2023). No estudo de Zaninotto *et al* (2020) foi observado que os níveis da PSP estavam significativamente mais elevados nos pacientes que estavam com COVID-19 e internados na UTI quando comparados aos internados na enfermaria. Além disso, foi detectado uma correlação positiva entre os níveis da PSP com o tempo de internação. No estudo de Assal *et al* (2022) observou-se que os níveis de PSP dos pacientes com COVID-19 que evoluíram a óbito estavam mais elevados quando comparados aos que sobreviveram. Além disso, os pacientes que evoluíram para a forma grave da doença e necessitam de ventilação mecânica apresentaram níveis mais elevados de PSP.

2.6 Antígeno de diferenciação 14 (CD14)

O CD14 é essencial para o funcionamento da imunidade inata, haja vista que possui a capacidade de reconhecer padrões e interagir com vários ligantes de TLR, podendo ser exógenos, a exemplo do LPS (Kelley *et al.*, 2013), ácido lipoteicóico (Albright *et al.*, 2008), peptideoglicano (Ulmer *et al.*, 2000). Em relação aos ligantes endógenos, reconhecem proteínas de choque térmico (HSPs), fosfolipídios, ceramidas e partículas opsonizadas (Kol *et al.*, 2000; Schmitz *et al.*, 2002). O estudo cristalográfico do CD14 demonstrou que ele é composto por cinco estruturas dispostas em alfa hélice em ordenação para o lado convexo da molécula e no lado côncavo do beta solenóide possui onze folhas beta, sendo composta por onze domínios sucessivos de leucinas, sugerindo a formação de um túnel (Kelley *et al.*, 2013) (Figura 10).

Figura 10- Estrutura cristalográfica do CD14.



Fonte: Adaptado de Kim (2005).

O CD14 atua como cofator dos TLR's através do reconhecimento dos ligantes ao receptor, aumentando a especificidade, a sensibilidade dos receptores e na eficiência da ativação da cascata de sinalização pró-inflamatória na presença de PAMPs (Pugin *et al.*, 1994; Akira *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2012). Nesse sentido, estudos realizados com animais geneticamente deficientes de CD14, demonstram que estes possuem menor produção de citocinas, mesmo quando estimulados por agentes indutores, tornando-se insensíveis à endotoxinas em doses letais que levam ao choque séptico, visto que a ausência do CD14, reduz drasticamente a sensibilidade dos TLRs no reconhecimento de patógenos (Finberg *et al.*, 2006)

Na eliminação de agentes patogênicos, o CD14 atua no direcionamento de moléculas antigênicas para lipoproteínas, permitindo a metabolização e erradicação do organismo. Ademais, esta molécula está presente nos macrófagos atua na detecção da presença de células apoptóticas, por meio do reconhecimento de fosfolípidos aniônicos, a exemplo da fosfatidilserina na superfície das células mortas (Gregory *et al.*, 1999; Miyake *et al.*, 2003). Nos neutrófilos, o CD14 intracelular é armazenado em grânulos azurófilos e em vesículas secretórias (Rodeberg *et al.*, 1997; Detmers *et al.*, 1995). Nos monócitos, pode apresentar-se acumulado nas invaginações da membrana plasmática que são compostas por colesterol e esfingolípídios, denominadas de cavéolas, não apenas em monócitos, mas em neutrófilos. Ou ainda, encontra-se disseminado pelo citoplasma, demonstrando uma leve granularidade próximo ao complexo de Golgi (Lisanti *et al.*, 1995).

A produção do CD14 nos monócitos é regulada pelas citocinas anti-inflamatórias: interleucina 4 (IL-4), e interleucina 13 (IL-13) e pelos fatores pró-inflamatórios: interleucina 2 (IL-2), interferon alfa (IFN α), interferon gama (IFN γ) e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), atuam na diminuição da expressão do CD14. Pelo lado dos neutrófilos, a produção do CD14 é regulada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF), o fator de estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), lipopolissacarídeo (LPS) e fMLP (N-Formylmethionine-leucyl-phenylalanine) (Antal-Szalmás *et al.*, 2000). O CD14 pode ser encontrado em armazenamentos intracelulares, pressupõe-se que tal ocorrência está associada a uma translocação instantânea para o meio extracelular, mediante estímulo de secreção. Estima-se que essa molécula está estimada em cerca de 45000 nos monócitos e por volta de 7000 em neutrófilos. (Detmers *et al.*, 1995).

2.6.1 Antígeno de diferenciação 14 ligado a membrana (mCD14)

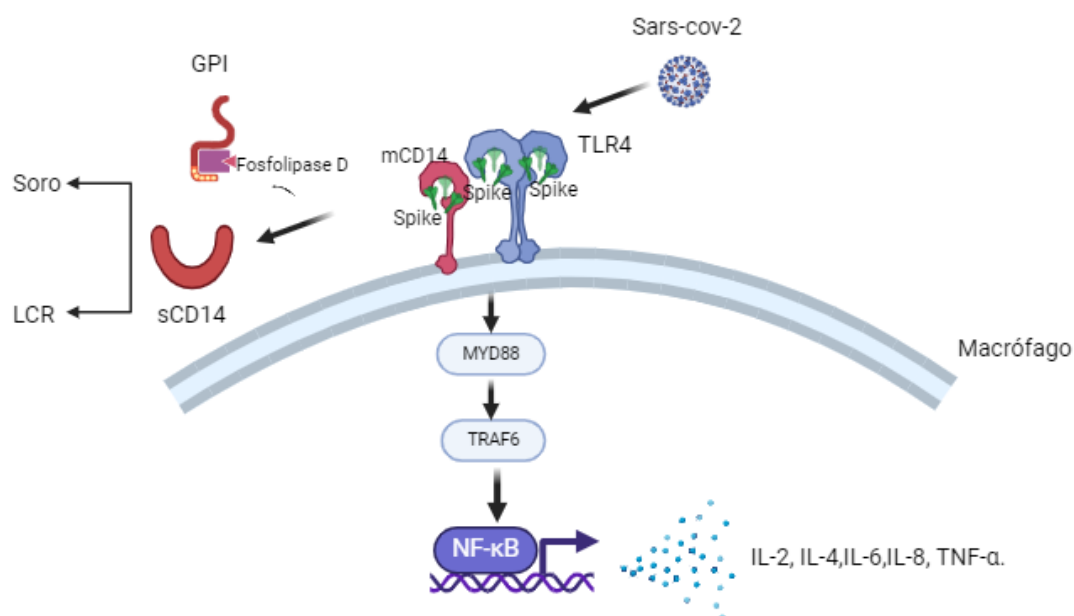
O CD14 atua como cofator no reconhecimento de PAMPs e DAMPs pelos dos TLRs, pois facilita a transdução de sinal das vias. No âmbito da infecção viral, a forma ancorada (mCD14) e a forma solúvel (sCD14) agem em consonância com os TLRs, ligando-se a uma maior variedade de PAMPs e DAMPs, dando início a respostas antivirais e pró-inflamatórias, por meio do fator nuclear kappa (Jack, 2000). Em baixos níveis de mCD14, a expressão de sCD14 é aumentada, objetivando compensar a redução da forma ancorada e manter a função dos monócitos (Hiki *et al.*, 1998).

2.6.2 Antígeno de diferenciação 14 solúvel (sCD14)

O sCD14 possui 48 kDa e sua produção é vinculada a dois possíveis mecanismos descritos: pela clivagem da âncora de GPI pela fosfolipase D (Sharom *et al.*, 2004) ou é produzido e secretado (Austena *et al.*, 2012) e por clivagem proteolítica da superfície celular (Wright *et al.*, 1990) (Figura 11). O sCD14 diferencia-se do mCD14 pela ausência da âncora de GPI na primeira (Bažil *et al.*, 1989; Viriyakosol *et al.*, 2000). A forma solúvel é fundamental para o sistema imune, tendo em vista que possibilita a sinalização via CD14 em células que não

possuem expressão do CD14, a exemplo das células epiteliais e endoteliais (Lloyd-Jones *et al.*, 2008) (Figura 11).

Figura 11- Esquema representativo da síntese do sCD14



Fonte: O autor (Biorrender)

A alta especificidade de ligação e habilidade de reconhecimento de vários ligantes, têm estimulado a investigação dos epítomos do CD14, visando o desenvolvimento de alvos terapêuticos que neutralizem sua ação em pacientes com inflamação sistêmica. Nesse sentido, os estudos voltados para essa temática, baseiam-se na realização de mutações sítio dirigidas e mapeamentos dos epítomos funcionais através do uso de anticorpos bloqueadores e peptídeos sintéticos. (Kim *et al.*, 2005; Shapiro *et al.*, 1997). Níveis maiores de sCD14 sérico estão associados a maior necessidade de suporte de oxigênio e estudos preliminares demonstram que níveis mais elevados desta proteína podem estar associados à mortalidade em indivíduos em estado grave com COVID-19 (Messner *et al.*, 2020).

Considerando os marcadores expressos na superfície dos monócitos, estes são organizados em três populações: monócitos clássicos (CD14+ CD16-) monócitos intermediários (CD14+CD16+) e monócitos não clássicos (CD14^{dim}CD16+), executando tarefas específicas (Kapellos *et al.*, 2019). O papel dessas células na patogênese da COVID-19 está sendo cada vez mais estudado (Martinez *et al.*, 2020). Na manifestação leve da COVID-19 ocorre um aumento momentâneo no número de monócitos CD14+, enquanto que na manifestação grave da doença, essas células encontram-se ausentes, tendo em vista a ocorrência da desregulação das células mieloides (Qin *et al.*, 2020; Schulte-Schreping *et al.*, 2020; Attia *et al.*, 2023).

2.6.3 COVID-19 e o CD14

A avaliação da proteína sCD14 nos pacientes com COVID-19 é de suma importância, visto que demonstra a resposta imune de monócitos e macrófagos nesta doença (Zingaropoli *et al.*, 2021; Attia *et al.*, 2023). A síndrome de ativação dos macrófagos e a tempestade de citocinas estão associadas a pacientes com COVID-19 que evoluíram para óbito. Nesse contexto, o fator de necrose tumoral- α (TNF), interferon- γ (INF- γ), interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 18 (IL-18) possuem ação imunopatogênica central no caráter hiper inflamatório da doença (Trombetta *et al.*, 2021; Fajgenbaum, 2020; Lee *et al.*, 2020). Os níveis de sCD14 encontram-se elevados em pacientes com COVID-19 quando comparados com o grupo controle, sendo consistente com a resposta inflamatória aguda gerada pelo SARS-COV-2, a qual é estimulada pela IL-6 (Su *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2020; Mukaz *et al.*, 2021).

Já no estudo de Gómez-Rial *et al.* (2020), foi observado que pacientes com COVID-19 apresentaram níveis de sCD14 superior aos não infectados, independentemente de estarem internados na UTI ou não. Além disso, no estudo de Zingaropoli *et al.* (2021), foi encontrado correlação positiva entre os níveis de sCD14 e d-dímero e correlação negativa entre os níveis de sCD14 e contagem absoluta de linfócitos. Desse modo, buscar entender o papel do sCD14 nos pacientes com COVID-19 é fundamental para o melhor entendimento da imunopatogênese desta patologia.

A pesquisa de Mabrey et al (2021), demonstrou que níveis mais elevados de sCD14 estão associados ao pior prognóstico nos pacientes internados em UTI, independentemente de estarem ou não infectados pelo SARS-CoV-2. Entretanto, observou-se que pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 internados em UTI, apresentam níveis plasmáticos de sCD14 mais baixos quando comparados com os indivíduos não infectados (Mabrey *et al.*, 2021).

A pesquisa de Attia et al (2023), demonstrou uma correlação positiva entre os níveis de sCD14 e dímero D ($r=0,271$, $P=0,030$) em consonância a um desvio à esquerda e presença de granulações tóxicas dos neutrófilos nos pacientes com COVID-19, quando comparado ao grupo controle. Além disso, não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis do sCD14 quando se comparou os pacientes internados na UTI e não internados na UTI, mas ambos com COVID-19. Esses achados são explicados pelo aumento momentâneo da população de monócitos CD14+ nos pacientes do grupo leve e a ausência nos pacientes do grupo grave, por conta da desregulação das células mieloides (Qin, Chuan *et al.*, 2020; Schulte-Schrepping, Jonas *et al.*, 2020; Attia *et al.*, 2023). Attia et al (2023) também encontraram níveis elevados de ferritina, PCR e dímero D nos pacientes internados na UTI quando comparado aos não internados em UTI.

O sCD14 é considerado como biomarcador da ativação de monócitos/macrófagos na infecção pelo SARS-CoV-2, pois reflete a resposta imune dessas células no processo infeccioso. Somado a isso, atua na ativação das células endoteliais, aumentando a expressão das moléculas de adesão e na atividade pró-coagulante, desencadeando eventos trombóticos em pacientes com pneumonia pela COVID-19 (Zingaropoli *et al.*, 2021; Attia *et al.*, 2023). A avaliação dos parâmetros hematológicos demonstrou-se ser um instrumento importante para avaliar o risco de mortalidade e predição da gravidade da doença (Wang, Changzheng *et al.*, 2020). O aumento do fator de transcrição inflamatório NF-kB foi associado a monócitos que expressam elevados níveis de sCD14 em pacientes com manifestação grave da COVID-19 (Silvin *et al.*, 2020; Kimer, 2020).

Pacientes com COVID-19 apresentaram níveis séricos significativamente mais elevados de sCD14 quando comparados ao grupo de controles saudáveis. Somado a isso, os pacientes que evoluíram a óbito apresentaram níveis mais elevados de sCD14 quando comparado com os pacientes que tiveram as manifestações leve, moderada crítica, mas que se recuperaram, visto que a ativação dos macrófagos e

monócitos desencadeiam o aumento da cascata do TNF, estando relacionado ao prognóstico desta doença (Bowman *et al.*, 2021; Pati *et al.*, 2021). Contudo, resultados discordantes também são observados frente ao sCD14. Os níveis de sCD14 reduziram nos pacientes com COVID-19 quando comparado com o grupo controle (André *et al.*, 2022). Nesse âmbito, não houve associação entre os níveis de sCD14 e internação na UTI (Ueland *et al.*, 2021). Por essa razão, são necessários mais estudos que avaliem esse potencial biomarcador na população.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

-Avaliar o sCD14 em pacientes com COVID-19 atendidos no Hospital das Clínicas-HC/UFPE.

3.2 Objetivos Específicos

-Quantificar os níveis séricos do sCD14 entre os pacientes que apresentaram manifestações leves, moderadas e graves da COVID-19.

-Correlacionar os níveis séricos do sCD14 com parâmetros bioquímicos laboratoriais: (Creatinina; Creatinofosfoquinase (CPK); Dímero-D; Ferritina; Lactato desidrogenase (LDH) e Proteína C reativa (PCR) dos pacientes com COVID-19.

-Correlacionar os níveis séricos do sCD14 com parâmetros hematológicos: Leucócitos; Linfócitos e Plaquetas dos pacientes com COVID-19.

-Correlacionar os níveis séricos do sCD14 com o tipo de acometimento pulmonar: < 25%; 25-50% e >50 %) dos pacientes com COVID-19.

-Correlacionar os níveis séricos do sCD14 com os desfechos de cura e óbito dos pacientes com COVID-19.

4 METODOLOGIA

4.1 População e Local de estudo

Os participantes do estudo foram 129 pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE) com diagnóstico para o SARS-CoV-2, obtido pela confirmação da infecção através do teste molecular, qRT-PCR (PCR quantitativa em tempo real) do swab nasofaríngeo, realizado pelo Laboratório Central de Pernambuco (LACEN-PE) ou pelo Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (NUPIT-UFPE). Os pacientes foram divididos em três grupos, conforme os critérios utilizados por Aciole et al (2023), no qual o grupo leve (n=14): pacientes internados na enfermaria e sem a suporte de O₂; grupo moderado (n=83): pacientes internados em enfermaria e com suporte de O₂ e grupo grave (n=32): pacientes internados na unidade de terapia intensiva (UTI). Na análise das tomografias computadorizadas de tórax, avaliou-se os níveis de sCD14 com comprometimento pulmonar dentro dos três grupos supracitados, além da população geral do estudo. Nesse sentido, os indivíduos foram caracterizados de acordo com o acometimento pulmonar, sendo: < 25 %, entre 25-50% e > 50 %.

4.2 Critérios de inclusão e exclusão

Para a realização do estudo, foram incluídos pacientes com idade superior a 18 anos, com diagnóstico confirmado para infecção por SARS-COV-2 e tomografia computadorizada do tórax para a definição do comprometimento pulmonar. Os pacientes que haviam sido vacinados e com diagnóstico confirmatório para outras infecções pulmonares no momento da admissão hospitalar não foram incluídos no estudo.

4.3 Coleta de sangue

O sangue dos pacientes foi coletado por punção venosa em tubo seco de 4 ml, após formação do coágulo, os tubos foram centrifugados a 900 xg durante 10 minutos para obtenção do soro. As alíquotas do soro foram identificadas e armazenadas na

soroteca do Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto Aggeu Magalhães – IAM/Fiocruz-PE.

4.4 Quantificação do receptor solúvel CD14

Os níveis de receptores solúveis de CD14 foram quantificados através do ensaio imunoenzimático do tipo sanduíche, seguindo as instruções do fabricante (R&D Systems-EUA, número de catálogo DY383-05 e DY383). A quantificação iniciou-se com o revestimento da placa com o anticorpo primário fornecido pelo laboratório, esse anticorpo é específico para o sCD14. Posteriormente, foi selado e incubado durante a noite. Foi realizada uma lavagem com solução tampão para retirar todo o anticorpo que não ficou retido na placa. Posteriormente o soro do paciente foi adicionado na placa, formando o conjugado entre o anticorpo e o sCD14. Posteriormente, realizou-se novamente uma lavagem da placa para que todo o sCD14 presente na amostra que não ficou ligado ao anticorpo primário seja retirado. Depois, um segundo anticorpo que difere do primeiro por estar conjugado a uma enzima, foi adicionado a placa e se ligou ao sCD14 que está ligado ao anticorpo primário, posteriormente outra lavagem foi feita para retirar todo o anticorpo conjugado que não se ligou ao sCD14. Por fim, a enzima converteu o substrato incolor em um produto cromogênico, na qual a intensidade da reação é proporcional à quantidade de sCD14 presente, sendo lida no espectro de leitura de 450 nm. Para este estudo, a curva padrão para análise utilizou a faixa de detecção de 62,5 pg/mL a 4000 pg/mL.

4.5 Análise estatística

A análise estatística e a construção dos gráficos foram obtidas através do software PRISM-GraphPad 8.0 Windows® software (E.U.A.). Para confirmação do pressuposto de homogeneidade foi utilizado o teste de Bartlett. Desta forma, para amostras homogêneas com curva de distribuição normal, a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, foram realizados para comparação das médias de expressão de sCD14 entre os grupos. Quando diante da heterogeneidade das amostras, teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn, foram realizados. A avaliação das correlações foi feita através do teste de correlação de Pearson ou Spearman. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5%.

4.6 Comitê de ética

Os pacientes que compõem a população de estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), de acordo com as orientações da Resolução CNS 466/2012 do Ministério da Saúde do Brasil, antes da coleta de sangue, possibilitando que os mesmos participassem de maneira voluntária do projeto intitulado: “Prospecção de biomarcadores de evolução clínica da Covid-19”. O projeto foi submetido ao comitê de ética do Hospital das Clínicas de Pernambuco (HC/UFPE), obtendo o CAAE: 30323620.1.3002.8807 (ANEXO A).

5 RESULTADOS

5.1 Descrição dos pacientes do estudo

Tabela 1. Caracterização dos pacientes do estudo.

SINTOMAS	Número (%)
Febre	75/129 (58,13%)
Tosse	78/129(60,46%)
Dispneia	87/129 (67,44%)
Cefaleia	17/129 (13,17%)
Alteração de olfato/paladar	20/129 (15,50%)
COMORBIDADES	Número (%)
Diabetes	66/129 (51,16%)
Hipertensão	31/129 (24,03%)
SUORTE DE OXIGÊNIO	Número (%)
Com suporte de Oxigênio	115/129 (89,14%)
Sem suporte de Oxigênio	14/129 (11,62%)
ACOMETIMENTO PULMONAR (TC)	Número (%)
<25%	21/129 (16,27%)
25-50%	43/129 (33,33%)
>50%	54/129 (41,86%)

INTERNAÇÃO	Número (%)
Enfermaria	84\129(65,11 %)
UTI	6\129(4,65%)
Enfermaria\UTI	11\129(8,52%)
DESFECHO CLÍNICO	Número (%)
Alta	118\129(91,48%)
Óbito	11\129(8,52%)

Fonte: O autor.

5.2 Determinação do perfil clínico e laboratorial dos pacientes

Em relação à distribuição dos pacientes no estudo, verificamos um elevado número de pacientes acometidos pela forma moderada, seguida pela forma grave e leve (Tabela 2). A faixa etária dos indivíduos participantes do estudo foi similar entre os grupos estudados, alcançando uma média de 51,5 – 57,5 anos. No entanto, verificamos que pacientes do sexo feminino foram predominantes no grupo moderado, quando comparado ao masculino. Em contrapartida, nos demais grupos avaliados, a porcentagem de homens foi superior ao de mulheres.

No que se refere aos parâmetros laboratoriais, verificamos que os pacientes da forma grave apresentaram níveis mais elevados nos parâmetros bioquímicos, quando comparado aos demais grupos estudados (Tabela 2). O mesmo fenômeno foi observado em relação aos parâmetros hematológicos, onde os pacientes com a forma grave e moderada demonstraram alterações hematológicas robustas (Tabela 3).

Tabela 2. Classificação dos pacientes do estudo.

VARIÁVEIS	LEVE	Valor de p	MODERADO	Valor de p	GRAVE	Valor de p
Número de pacientes	14		83		32	
Mediana de Idade(anos)	57,5		52		51,5	
Sexo						
Feminino	4(28,57%)		46(55,42 %)		11(34,37%)	
Masculino	10(71,43%)		37(44,58%)		21(65,63%)	
Parâmetros laboratoriais						
CPK(U/L)	20	0.2667	43	0.1222	280,4	>0.9999
Creatinina(mg\ld)	0,84	0.1931	0,79	0.0986	0,88	0.7725
D-dímero(ng\mL)	670	0.7833	681	0.4399	1630	0.3679
Ferritina(ng\mL)	N	N	966	0.4399	1504	0.6583
LDH(U/L)	282	0.1667	329,5	0.8251	488	0.1198
PCR(mg\ldL)	16,75	>0.9999	N	N	13,5	0.3436

Os resultados estão expressos em média e mediana. CPK: Creatinofosfoquinase; LDH: Lactato desidrogenase; PCR: Proteína C reativa. N= Não realizou o exame. Valores de referência dos parâmetros laboratoriais: CPK= 26 a 140 U/L (feminino) e 38 a 174 U/L (masculino); Creatinina= 0,6 - 1,1 mg\ldL(feminino) e 0,7 - 1,3 mg\ldL (masculino); D-dímero= Até 500 ng\mL FEU (unidades equivalentes de fibrinogênio); Ferritina= 15 - 149 microg\L (feminino) e 26 - 446 microg\L (masculino); LDH= 135 - 214 U/L (feminino) e 135 - 225 U/L (masculino); PCR= 1,0 - 5,0 mg\ldL (infecções virais e processos inflamatórios leves); 5,1 - 20,0 mg\ldL (infecções bacterianas e processos inflamatórios sistêmicos) e Acima de 20,0 mg\ldL (infecções graves, grandes queimaduras e politraumatismo).

Fonte: O autor.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos.

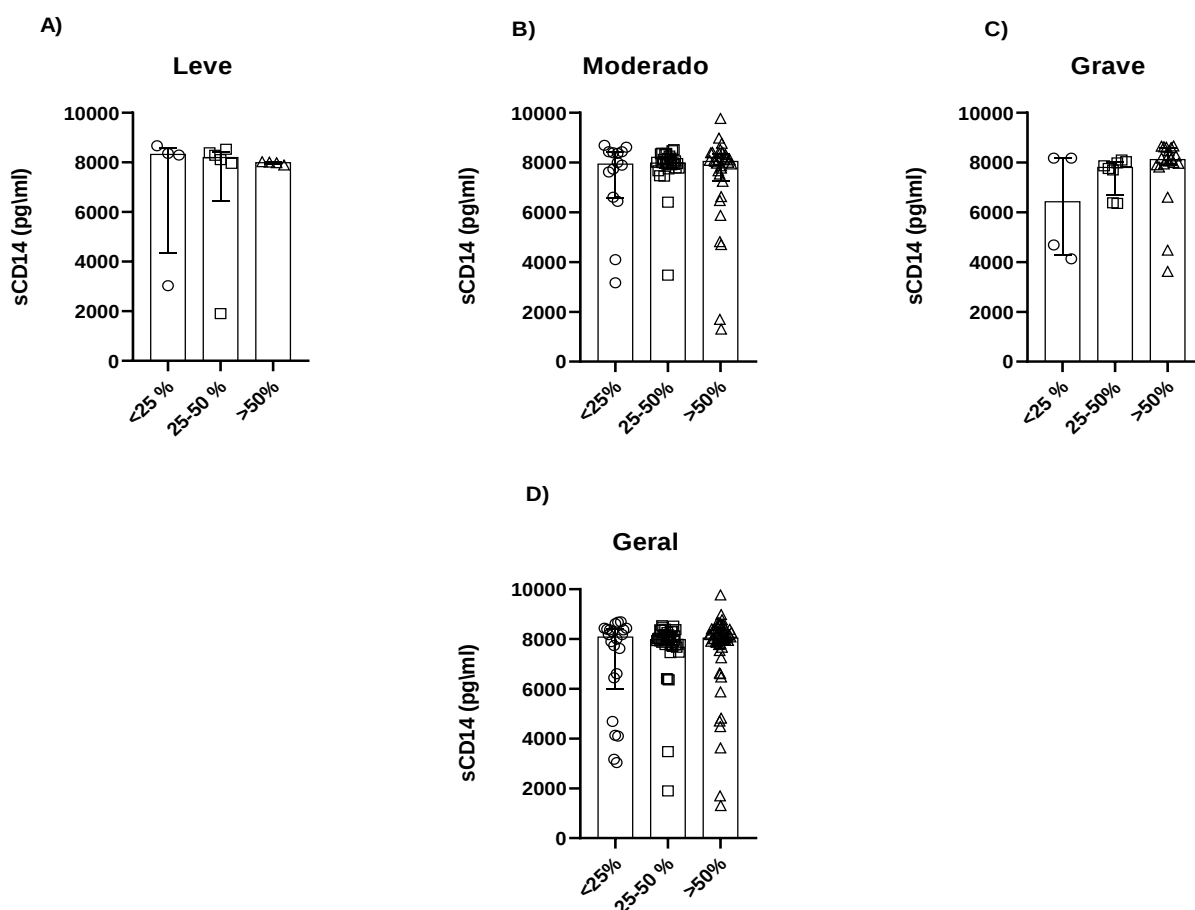
VARIÁVEIS	LEVE	VALOR DE <i>P</i>	MODERADO	VALOR DE <i>P</i>	GRAVE	VALOR DE <i>P</i>
Parâmetros hematológicos						
Leucócitos(Cel/mm³)	7115		9915		11690	
Linfócitos(Cel/mm³)	960		1190		1000	
Plaquetas(Mil/mm³)	321,5		288,5		316,5	
Leucopenia	2390*		2230*		2002*	
Normal	5730*	0.0002	6379*	<0.0001	7400*	0.0001
Leucocitose	13228*		11736*		15499*	
Linfopenia	663,4*		810,3*		712,5*	
Normal	1457*	0.0007	1671*	<0.0001	1784*	<0.0001
Linfocitose	N		3608*		3490*	
Plaquetopenia	98,5*		114,4*		82,5*	
Normal	290*	<0.0001	251,7*	<0.0001	253,2*	<0.0001
Plaquetose	459,8*		453,1*		432,9*	

*Mediana dos valores que apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0.05$). Valores de referência dos parâmetros hematológicos: Leucócitos= 3.470 - 8.290/mm³(feminino) e 3.650 - 8120/mm³(masculino); Linfócitos= 1.097 - 2.980/mm³(feminino) e 1120 - 2950/mm³(masculino); Plaquetas= 163.000 - 343.000/mm³(feminino) e 151.000 - 304.000/mm³(masculino).Fonte: O autor

Com o intuito de avaliar os níveis de sCD14 nos pacientes, inicialmente foi realizada a separação dos grupos de acordo com o acometimento pulmonar (< 25 %, 25-50% e > 50 %). Entretanto, verificamos que os níveis de sCD14 foram similares entre os pacientes acometidos e, portanto, sem diferença estatística significativa ($p=0.4193$) (Figura 12-A).

Em relação ao grupo moderado, observamos um comportamento semelhante ao leve, onde a secreção de sCD14 foi similar entre os níveis de acometimento e não foi possível observar diferença estatística significativa (valor de $p=0.9968$) (Figura 12-B). Da mesma forma, o grupo grave também se comportou de modo semelhante aos demais grupos avaliados, não sendo possível observar diferença estatística significativa ($p=0.1218$) (Figura 12-C). Além disso, ao avaliar a secreção de sCD14 de forma global (leve, moderado e grave) também não foi verificada nenhuma diferença estatística significativa ($p=0.6538$) (Figura 12-D).

Figura 12- Avaliação dos níveis séricos de sCD14 com o tipo de acometimento pulmonar.

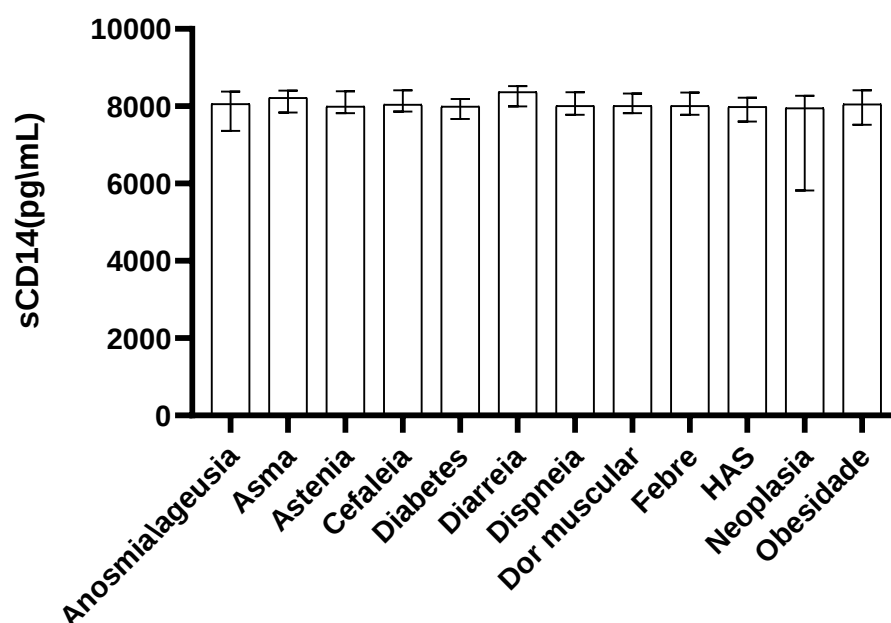


Na avaliação do acometimento pulmonar, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, considerando $P<0,05$ como significativo.

Fonte: O autor.

Em relação às comorbidades e sintomas apresentados pelos pacientes, verificou-se os níveis de sCD14 na população geral do estudo, sendo a soma dos pacientes dos grupos leve, moderado e grave. No entanto, as variáveis se comportaram de maneira similar entre si e não foi possível observar diferença estatística significativa (valor de $p=0.8631$) (Figura 13).

Figura 13- Avaliação das comorbidades e sintomas de acordo com os níveis de sCD14



Na análise dos níveis de sCD14 em relação às comorbidades e sintomas, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis, considerando $P<0,05$ como significativo; HAS (Hipertensão arterial sistêmica).

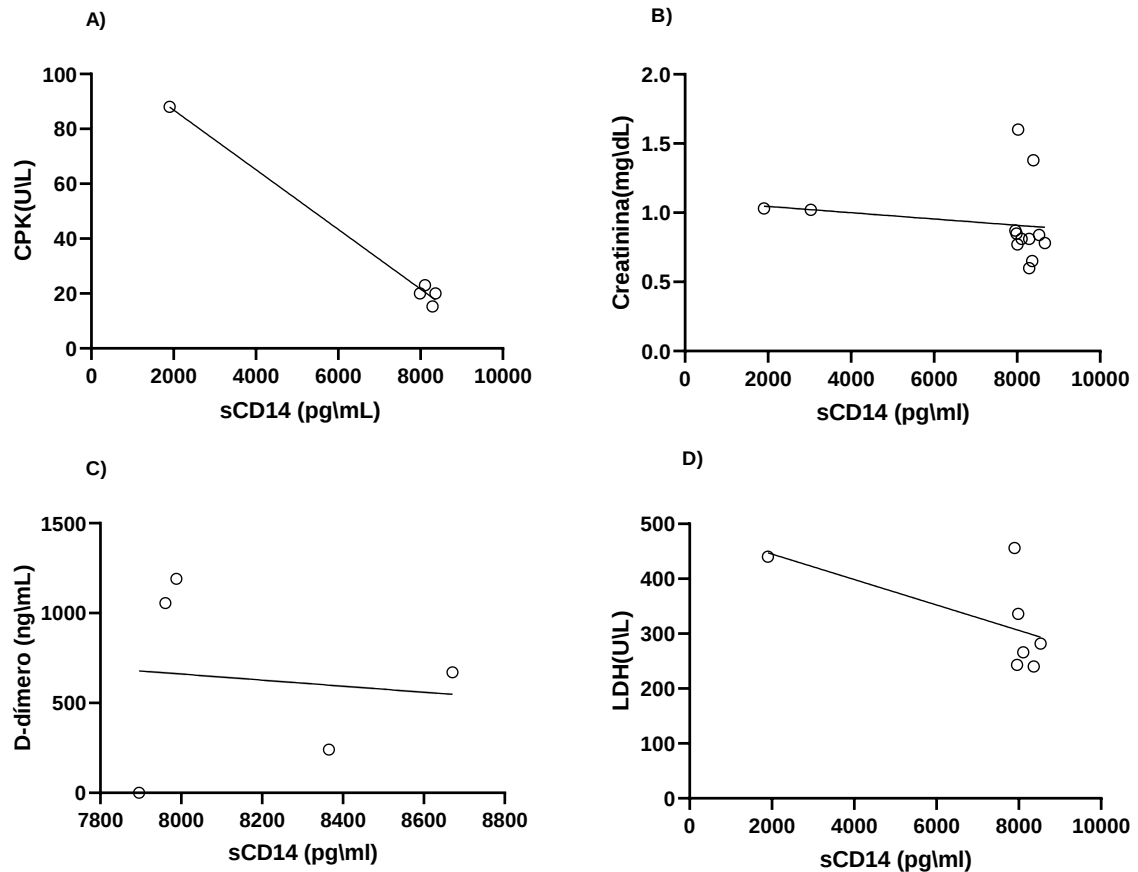
Fonte: O autor.

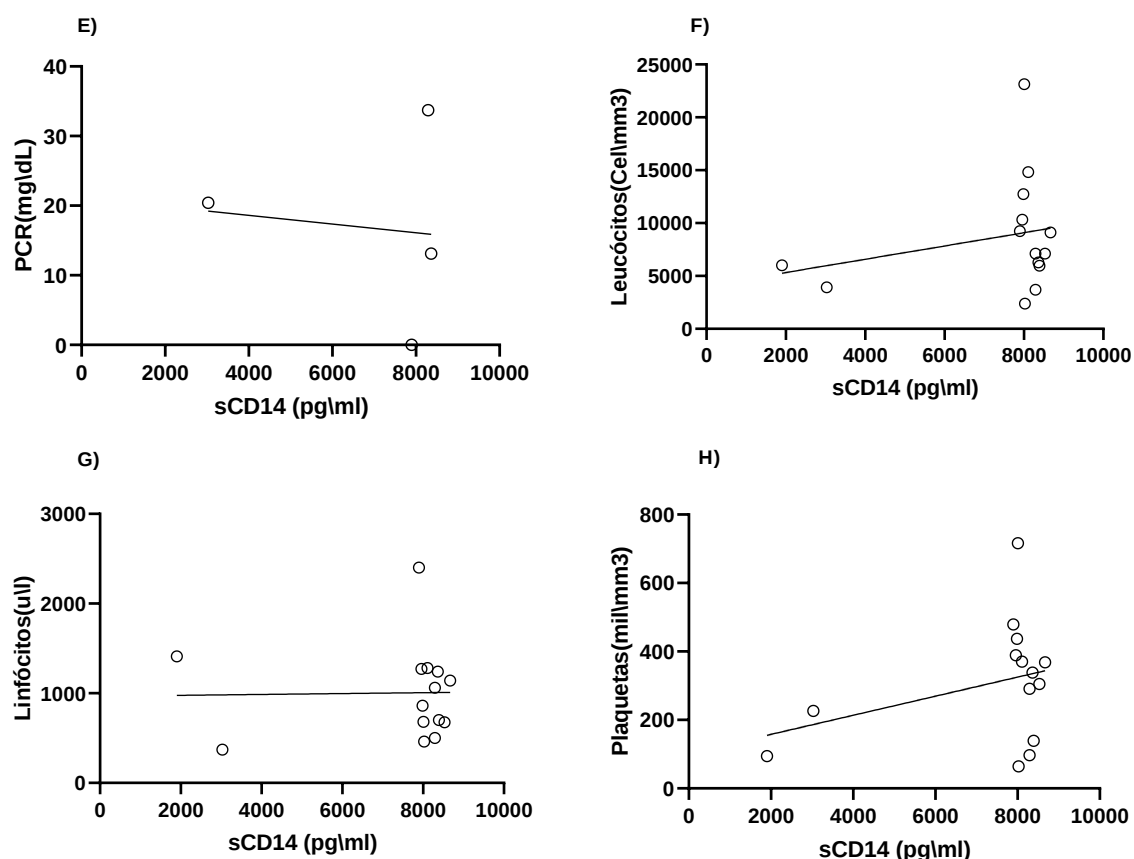
5.3 Análise da correlação entre os níveis de sCD14 e os parâmetros laboratoriais

Em relação à correlação dos níveis de sCD14 e parâmetros laboratoriais no grupo leve, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ao CPK ($p=0.2667$ e $r=-0,6669$) (Figura 14-A); creatinina ($p=0.1931$ e $r=-0.3851$) (Figura 14-B); D-dímero ($p=0,7833$ e $r=0,2000$) (Figura 14-C) e de LDH ($p=0,1667$ e $r=-0,6071$) (Figura 14-D). Do mesmo modo, também não foi observada diferença estatística e

correlação entre os níveis de sCD14 e PCR ($p>0.999$ e $r= 0.000$) (Figura 14-E); número de leucócitos ($p= 0.7849$ e $r= -0.08132$) (Figura 14-F); número de linfócitos ($p= 0.5022$ e $r=-0.1956$) (Figura 14-G) e número de plaquetas ($p=0.7500$ e $r= -0,09451$) (Figura 14-H).

Figura 14- Avaliação dos níveis de sCD14 dos pacientes do grupo leve correlacionado com os parâmetros laboratoriais.



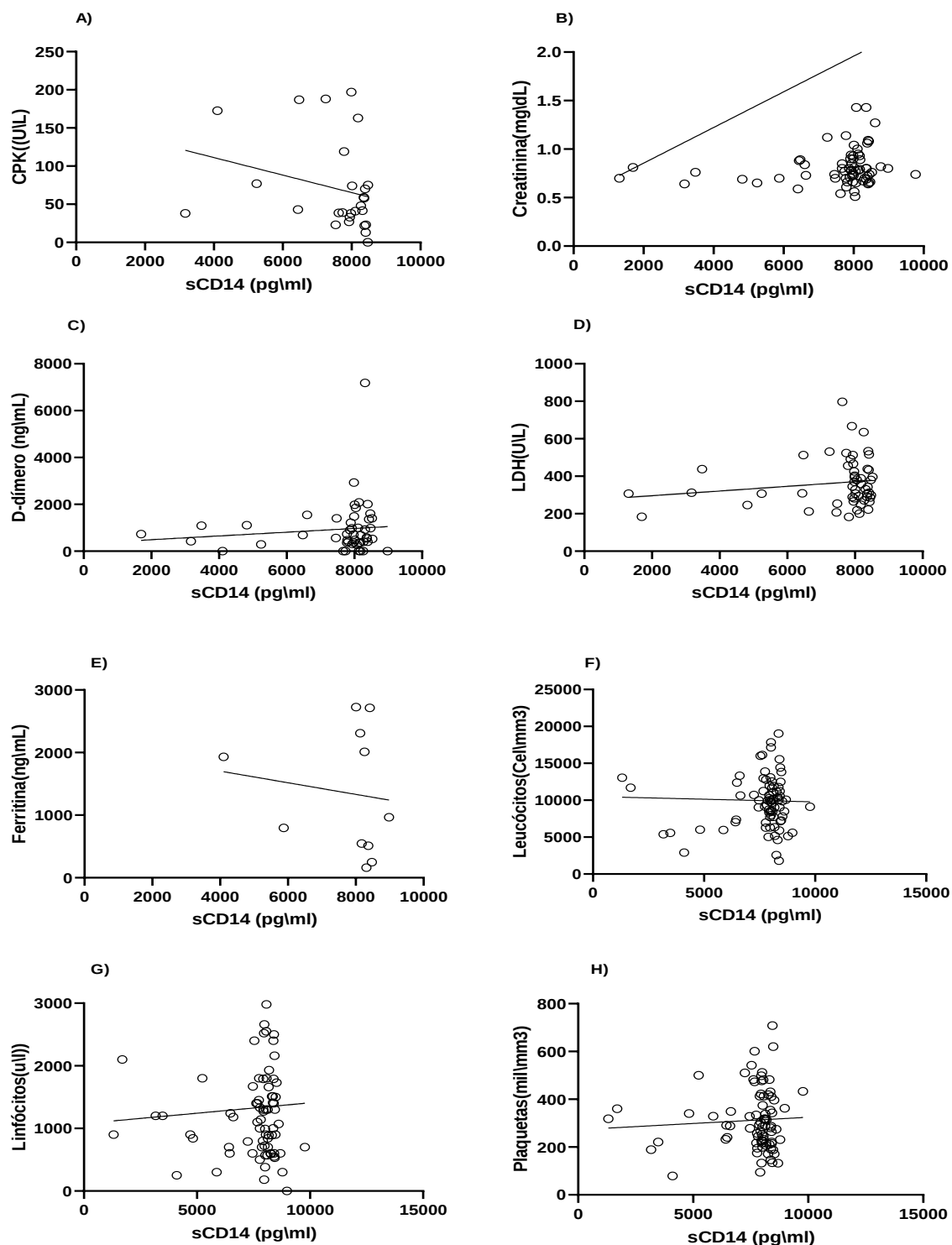


Na análise dos parâmetros laboratoriais, utilizou-se a correlação de Spearman, considerando $P < 0,05$ como significativo. CPK: Creatinofosfoquinase e LDH: Lactato desidrogenase. PCR: Proteína C reativa.

Fonte: O autor.

Em relação a correlação dos níveis de sCD14 e parâmetros laboratoriais do grupo moderado, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ao CPK ($p=0,1222$ e $r= -0,3047$) (Figura 15-A); creatinina ($p= 0,098$ e $r=0,1872$) (Figura 15-B); D-dímero ($p=0,4399$ e $r= 0,1129$) (Figura 15-C); LDH (de $p= 0,8251$ e $r= 0,03079$) (Figura 15-D) e Ferritina ($p=0,3415$ e $r= -0,3182$) (Figura 15-E). De igual modo, não foi observada diferença estatística e correlação entre os níveis de sCD14 e número de leucócitos ($p=0,6102$ e $r= -0,05713$) (Figura 15-F); número de linfócitos ($p=0,7493$ e $r= -0,03629$) (Figura 15-G) e número de plaquetas ($p= 0,4822$ e $r= -0,07870$) (Figura 15-H).

Figura 15- Avaliação dos níveis de sCD14 dos pacientes do grupo moderado correlacionado com os parâmetros laboratoriais.

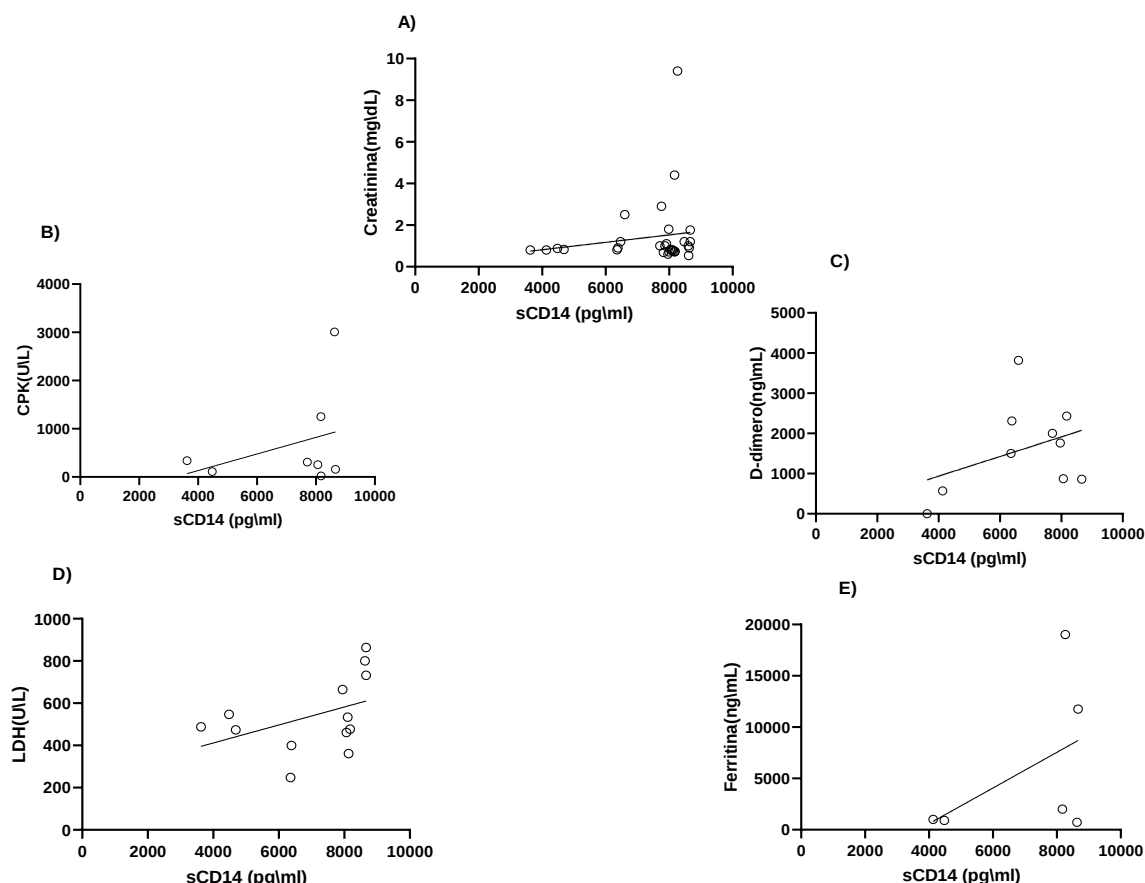


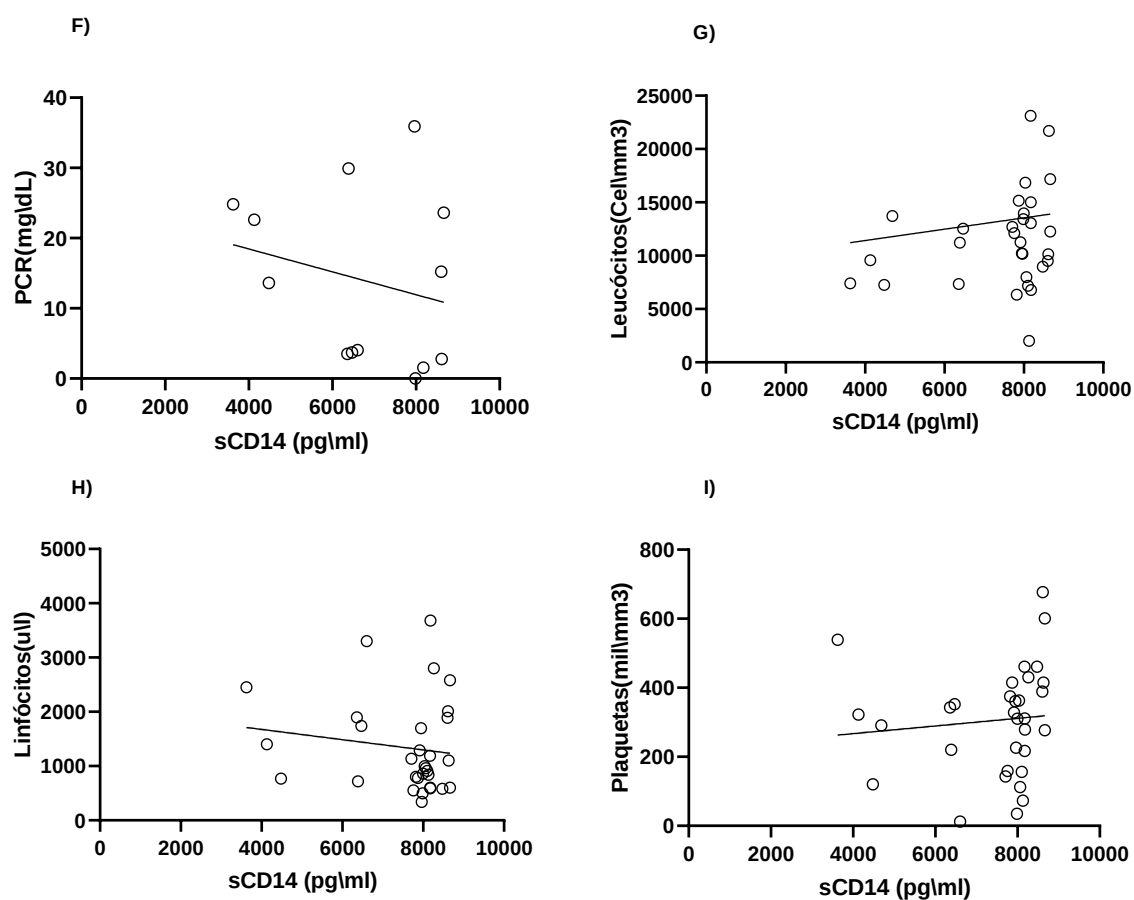
Na análise dos parâmetros laboratoriais, utilizou-se a correlação de Spearman, considerando $P < 0,05$ como significativo. CPK: Creatinofosfoquinase e LDH: Lactato desidrogenase.

Fonte: O autor.

Em relação à correlação dos níveis de sCD14 e parâmetros laboratoriais no grupo grave, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ao CPK ($p > 0,9999$ e $r = 0,000$) (Figura 16-A); creatinina ($p = 0,7725$ e $r = 0,05411$) (Figura 16-B); D-dímero ($p = 0,3679$ e $r = 0,3212$) (Figura 16-C); LDH ($p = 0,1198$ e $r = 0,4560$) (Figura 16-D) e ferritina ($p = 0,6583$ e $r = 0,2571$) (Figura 16-E). Do mesmo modo, também não foi observada diferença estatística e correlação entre os níveis de sCD14 e PCR ($p = 0,3436$ e $r = -0,2857$) (Figura 16-F); número de leucócitos ($p = 0,2923$ e $r = 0,1921$) (Figura 16-G); número de linfócitos ($p = 0,9511$ e $r = 0,01149$) (Figura 16-H) e número de plaquetas ($p = 0,1039$ e $r = 0,2928$) (Figura 16-I).

Figura 16- Avaliação dos níveis de sCD14 dos pacientes do grupo grave correlacionado com os parâmetros laboratoriais.





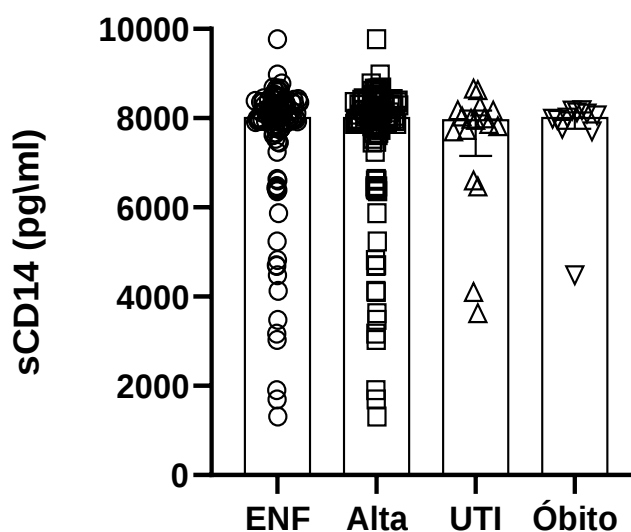
Na análise dos parâmetros laboratoriais, utilizou-se a correlação de Spearman, considerando $P < 0,05$ como significativo. CPK: Creatinofosfoquinase e LDH: Lactato desidrogenase. PCR: Proteína C reativa.

Fonte: O autor.

5.4 Análise dos níveis de sCD14 e os desfechos clínicos

Quando observados os níveis de sCD14 dos pacientes que foram internados na enfermaria, comparados aos que foram internados na UTI, somado aos que obtiveram desfecho de alta hospitalar e aos que evoluíram a óbito, não observamos diferença estatística significativa ($p=0,9235$) (Figura 17).

Figura 17-Avaliação dos níveis de sCD14 no tipo de internação e no desfecho de alta hospitalar e óbito



Fonte: O autor.

6 DISCUSSÃO

No vigente estudo avaliamos o sCD14 como possível biomarcador de prognóstico nos pacientes com COVID-19, tendo em vista que essa proteína é essencial na gênese da resposta imune frente ao SARS-CoV-2, visto que atua na ativação dos monócitos e macrófagos nesta doença (Zingaropoli *et al.*, 2021; Attia *et al.*, 2023). No cenário da infecção viral, os monócitos\macrófagos atuam de maneiras diversificadas, dentre elas, destaca-se a ação dos macrófagos residentes em conjunto com as citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, constituindo a primeira linha de defesa da resposta inata (Christensen, Thomsen e Randrup, 2009).

Nesse âmbito, essas células possuem as características de estarem presentes nos mais diversos tecidos do organismo e serem menos permissivas a replicação viral quando comparadas às outras células (Mogensen, 1979). Tal resistência à replicação viral é explicada pela produção natural de IFN do tipo 1, que possui como função induzir as células teciduais não infectadas a um estado de resistência viral, mediante a ativação do gene codificante do interferon. Nessa perspectiva, após a síntese do interferon, ele sai da célula, em direção às células que não foram infectadas, ligando-

se a membrana celular e ativando a síntese proteínas virais (Mogensen e Soren, 1987; Eloranta, 1999).

Nesse sentido, estudos realizados demonstraram que o sCD14 correlaciona-se com marcadores inflamatórios laboratoriais, parâmetros hematológicos, presença de comorbidades e acometimento pulmonar (Wang, Changzheng *et al.*, 2020; Zingaropoli *et al.*, 2021; Attia *et al.*, 2023). No estudo de Wang, Changzheng *et al.* (2020) foi realizado a comparação entre pacientes com COVID-19 do grupo moderado e do grupo grave. Nessa perspectiva, observou-se que o número de leucócitos foi significativamente maior nos pacientes do grupo grave quando comparado aos do grupo moderado.

No estudo de Zingaropoli *et al.* (2021) executou-se a comparação entre os níveis de sCD14 dos indivíduos saudáveis com pacientes com COVID-19. Nesse cenário, observou-se diferença estatisticamente significativa. Além disso, houve a avaliação dos níveis de sCD14 nos grupos leve, grave e crítico, na qual foi contemplado níveis plasmáticos mais elevados no grupos grave e crítico quando comparados com o grupo leve, embora não houvesse diferença estatística significativa. Somado a isso, não houve diferença entre os grupos grave e crítico. No âmbito dos parâmetros laboratoriais, foi visualizado correlação positiva entre o sCD14 e D-dímero e ferritina. Por outro lado, encontrou-se uma correlação negativa com a contagem do número de linfócitos.

O estudo de Attia *et al.* (2023) comparou-se os níveis do sCD14 entre os pacientes com COVID-19 e o grupo de indivíduos saudáveis, obtendo níveis mais elevados no grupo dos doentes com diferença estatística significativa. No entanto, não houve diferença estatística significativa entre os níveis do sCD14 dos pacientes internados na UTI em relação aos que não estavam. Por fim, foi encontrado uma correlação positiva com os níveis de D-dímero.

Em nosso estudo, no entanto, verificamos que a secreção de sCD14 não apresentou diferenças estatísticas significativas entre os grupos de pacientes avaliados. No entanto, algumas limitações metodológicas devem ser consideradas para a comparação entre os resultados, uma delas foi a estratificação entre os grupos de pacientes. Em nosso estudo, não houve a presença de um grupo controle composto por pacientes saudáveis, somado a forma de classificação dos grupos. Pois tais ações foram realizadas no contexto da pandemia da COVID-19, trazendo grande

impacto na escolha, classificação e determinação da população de estudo. Outro fator relevante que tornou a comparabilidade dos resultados mais complexa, é que não foram encontrados na literatura trabalhos que associam o nível de acometimento pulmonar com os níveis de sCD14 em pacientes com COVID-19.

Nessa perspectiva, os trabalhos que avaliaram o acometimento pulmonar foram o de Zingaropoli et al (2021), o qual abordou a comparação entre pacientes que tiveram SRDA com os que não tiveram SRDA, sendo a classificação diferente da realizada em nosso estudo. Nesse sentido, o trabalho de Dos Santos et al (2022) avaliou o nível de acometimento pulmonar em pacientes com COVID-19, porém relacionou o grau de comprometimento do parênquima pulmonar com a necessidade de ventilação mecânica e o tempo de internação hospitalar, distanciando-se da análise feita em nosso trabalho.

Em relação à mensuração dos níveis séricos do sCD14, os estudos descritos na literatura não avaliaram os níveis séricos de sCD14 em comparação com os sintomas apresentados pelos pacientes e com as comorbidades que possuíam (Gomez-Rial *et al.*, 2020; Messner *et al.*, 2020; Zingaropoli *et al.*, 2021). Por outro lado, nosso estudo avaliou os níveis séricos do sCD14 em comparação com cada sintoma e comorbidade dos pacientes com COVID-19, sendo um diferencial do nosso estudo.

No estudo, a classificação dos grupos da pesquisa não seguiu essa distribuição, impossibilitando a realização de comparações, visto que a classificação dos grupos do estudo foi realizada pelo grupo de pesquisa do laboratório de imunoparasitologia (LIMP) do Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz Pernambuco) em conjunto com equipe médica de infectologistas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco e com a busca de artigos na literatura sobre a divisão dos grupos. Nesse sentido, essa classificação foi realizada no início da pandemia, período no qual não havia a disponibilização do manual do Ministério da Saúde do Brasil e nem da OMS.

Por outro lado, o nosso estudo além de quantificar a sintomatologia e as comorbidades, realizou a comparação entre os níveis de sCD14, sendo um diferencial em relação aos demais estudos. Nesse sentido, as análises de correlação com os parâmetros laboratoriais foram feitas de maneira independente dos níveis de sCD14. Em contrapartida, alguns achados são concordantes ao nosso estudo, como o de Chen et al (2020) que também não verificou diferença estatisticamente significativa

entre a contagem de plaquetas dos pacientes moderados e graves. Da mesma forma, corroborando com os nossos achados, Gómez-Rial et al (2020) demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis da PCR entre os pacientes internados na UTI e não internados na UTI. Entretanto, no estudo de Gómez-Rial et al (2020) foi demonstrado que houve diferença estatisticamente significativa nos níveis da LDH entre os pacientes internados na UTI e não internados na UTI. Além disso, no mesmo estudo, foi verificada correlação negativa com valor absoluto de linfócitos; positiva com LDH, PCR e ferritina; bem como diferença estatística na contagem de linfócitos entre os pacientes internados na UTI e não internados na UTI, o que não corrobora com os nossos achados (Gómez-Rial *et al.*, 2020).

No estudo de Gómez-Rial et al (2020) demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa na contagem de linfócitos entre os pacientes internados na UTI e não internados na UTI, não corroborando com o nosso estudo. Contudo, o estudo de Gómez-Rial et al (2020) classificou a sua população de estudo, composta por 79 indivíduos, em internados em UTI (n=22) e não internados em UTI (n=37), além de um grupo controle composto por pessoas saudáveis (n=20). Por outro lado, o nosso estudo não apresentou um grupo controle de indivíduos saudáveis o que dificultou a comparabilidade dos resultados.

Além disso, nossos achados não verificaram diferença estatística significativa ao comparar os níveis de sCD14 entre os pacientes que não estavam internados na UTI com os internados. Esse resultado provavelmente é resultante do fato de que os pacientes internados na UTI são submetidos a terapia baseada na utilização de anti-inflamatórios (Gómez-Rial *et al.*, 2020). Os monócitos e macrófagos apresentam elevada expressão da enzima ciclo-oxigenase-2 (Cox-2), que é induzida por citocinas pró-inflamatórias, a exemplo da IL-1 e IL-2 em situações de inflamação e lesão celular. No entanto, sua ação é inibida mediante utilização dos glicocorticóides (Hilário *et al.*, 2006). O mecanismo de ação ocorre através da entrada da molécula por difusão passiva na célula e posteriormente liga-se ao receptor citoplasmático de glicocorticoide, presente em basicamente todas as células do organismo, o qual realiza o transporte para o interior do núcleo (Pereira *et al.*, 2007).

Dentro do núcleo, altera a transcrição dos genes relacionados à ação pró-inflamatória, inibindo a transcrição do NF- κ B e do fator de transcrição AP-1, desencadeando a redução na síntese de citocinas pró-inflamatórias, fatores de

adesão, inibição da Cox-2, diminuição no recrutamento dos macrófagos para as regiões de inflamação, fagocitose reconhecimento de antígenos (Balow and Rosenthal, 1973; Hogan and Vogel, 1988; Pereira *et al.*, 2007). Nessa perspectiva, ocorre a interferência na função dos monócitos, reduzindo a síntese do sCD14, corroborando com o estudo de Gómez-Rial *et al* (2020) e com o estudo de Ueland *et al* (2021).

Em relação aos desfechos clínicos, não verificamos diferença estatística significativa ao comparar os níveis de sCD14 entre os pacientes que obtiveram alta e os que evoluíram a óbito, o que não corrobora com o estudo de Bowman *et al* (2021). Neste estudo foi verificado que os níveis de sCD14 aumentaram nos pacientes com COVID-19, independente da gravidade da doença quando comparados com o grupo controle. Somado a isso, verificou-se que os pacientes com a manifestação crítica da COVID-19 e que evoluíram a óbito apresentaram níveis mais elevados de sCD14 quando comparados com os pacientes críticos que se recuperaram e em comparação com os que possuíam a forma leve. Entretanto, tal discordância pode ser explicada pelo fato de que nesses trabalhos, foram utilizados grupos controle compostos por pacientes saudáveis. Em contraste, nosso trabalho utilizou a população de estudo composta apenas por pacientes com COVID-19 o que limita a comparabilidade dos achados.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos em nosso estudo possuem semelhanças e divergências quando comparados aos trabalhos descritos na literatura. Tendo em vista a escassa quantidade de estudos publicados sobre os níveis de sCD14 em pacientes com COVID-19, somado aos achados divergentes nos estudos publicados, não podemos afirmar que o sCD14 é um possível biomarcador de prognóstico em pacientes com COVID-19. Apesar dos monócitos serem importantes células de defesa que contribuem para respostas inatas e adaptativas, talvez haja a participação de outras células, como as NK importantes em defesas antivirais. Por isso, faz-se necessário a realização de mais estudos que avaliem o sCD14 como possível biomarcador de prognóstico da COVID-19 e que utilizem um grupo de indivíduos sem a doença, a fim de contribuir na comparabilidade dos achados.

REFERÊNCIAS

ACIOLE, Melayne Rocha et al. Levels of soluble TNF receptors (sTNFR1 and sTNFR2) increase with clinical worsening of patients and are related to COVID-19 mortality. **Immunobiology**, p. 152748, 2023.

AHN, Ji Hoon et al. Nasal ciliated cells are primary targets for SARS-CoV-2 replication in the early stage of COVID-19. **The Journal of clinical investigation**, v. 131, n. 13, 2021.

AKIRA, Shizuo; TAKEDA, Kiyoshi. Functions of toll-like receptors: lessons from KO mice. **Comptes rendus biologies**, v. 327, n. 6, p. 581-589, 2004.

ALBRIGHT, Seth et al. Solution NMR studies provide structural basis for endotoxin pattern recognition by the innate immune receptor CD14. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 368, n. 2, p. 231-237, 2008.

ANDRÉ, Sonia et al. T cell apoptosis characterizes severe Covid-19 disease. **Cell Death & Differentiation**, v. 29, n. 8, p. 1486-1499, 2022.

ANGELOPOULOU, Athina et al. Imiquimod-A toll like receptor 7 agonist-Is an ideal option for management of COVID 19. **Environmental Research**, v. 188, p. 109858, 2020.

ANTAL-SZALMÁS, Péter et al. Evaluation of CD14 in host defence. **European journal of clinical investigation**, v. 30, n. 2, 2000.

ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. **Current protocols in pharmacology**, v. 76, n. 1, p. 9.23. 1-9.23. 17, 2017.).

ASSAL, Hebatallah Hany et al. Presepsin as a Novel Biomarker in predicting In-hospital Mortality in Patients With COVID-19 Pneumonia. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 118, p. 155-163, 2022.(avaliou o subtipo prepsina- scd14-ST).

ATTIA, Hend; EL NAGDY, Mona; HALIM, Radwa M. Abdel. Preliminary Study of sCD14 and sCD163 as Predictors of Disease Severity and ICU Admission in COVID-19: Relation to Hematological Parameters, Blood Morphological Changes and Inflammatory Biomarkers. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, 2023.

AUSTENAA, Liv et al. The histone methyltransferase Wbp7 controls macrophage function through GPI glycolipid anchor synthesis. **Immunity**, v. 36, n. 4, p. 572-585, 2012.

AZKUR, Ahmet Kursat et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. **Allergy**, v. 75, n. 7, p. 1564-1581, 2020.

BALOW, James E.; ROSENTHAL, Alan S. Glucocorticoid suppression of macrophage migration inhibitory factor. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 137, n. 4, p. 1031-1041, 1973.

BAO, Musheng; LIU, Yong-Jun. Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells. **Protein & cell**, v. 4, n. 1, p. 40-52, 2013.

BARNES, Christopher O. et al. Structures of human antibodies bound to SARS-CoV-2 spike reveal common epitopes and recurrent features of antibodies. **Cell**, v. 182, n. 4, p. 828-842. e16, 2020.

BAS, S.; GAUTHIER, B. R.; SPENATO, U.; STINGELIN, S. e GABAY, C. CD14 is an acute-phase protein. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 7, p. 4470-4479, 2004.

BAŽIL, Vladimír et al. Structural relationship between the soluble and membrane-bound forms of human monocyte surface glycoprotein CD 14. **Molecular immunology**, v. 26, n. 7, p. 657-662, 1989.

BELGE, Kai-Uwe et al. The proinflammatory CD14⁺ CD16⁺ DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF. **The Journal of Immunology**, v. 168, n. 7, p. 3536-3542, 2002.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clinical pharmacology & therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89-95, 2001.

BONJORNO, Letícia Pastorelli et al. Imunopatologia induzida por COVID-19: avaliação da resposta imune inflata e adaptativa. **Revista Paulista de Reumatologia**, v. 19, n. 3, p. 6-11, 2020.

BOWMAN, Emily R. et al. Levels of soluble CD14 and tumor necrosis factor receptors 1 and 2 may be predictive of death in severe coronavirus disease 2019. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 223, n. 5, p. 805-810, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes para diagnóstico e tratamento da COVID-19**. Versão 4. Brasília, DF: Ministério da saúde, 2020b. 98 p.

BRASIL .Ministério da Saúde. Painel Coronavírus. [Acesso em 27 de outubro de 2023]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>

BRIZZI, Andrea et al. Spatial and temporal fluctuations in COVID-19 fatality rates in Brazilian hospitals. **Nature medicine**, v. 28, n. 7, p. 1476-1485, 2022.

CALLAWAY, Ewen. Coronavirus vaccines. **Nature**, v. 580, p. 577, 2020.

CAMUSSI, Giovanni et al. Lipopolysaccharide binding protein and CD14 modulate the synthesis of platelet-activating factor by human monocytes and mesangial and endothelial cells stimulated with lipopolysaccharide. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 155, n. 1, p. 316-324, 1995.

CEVIK, Muge et al. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. **bmj**, v. 371, 2020.

CHANG, Yufei et al. Presepsin Predicts Severity and Secondary Bacterial Infection in COVID-19 by Bioinformatics Analysis. **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, v. 2022, 2022.

CHEN, Dan et al. Serum plasminogen activator urokinase receptor predicts elevated risk of acute respiratory distress syndrome in patients with sepsis and is positively associated with disease severity, inflammation and mortality. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 18, n. 4, p. 2984-2992, 2019.

CHEN, Guang et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. **The Journal of clinical investigation**, v. 130, n. 5, p. 2620-2629, 2020.

CHEN, L. et al. Analysis of clinical features of 29 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia. **Zhonghua jie he he hu xi za zhi= Zhonghua jiehe he huxi zazhi= Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases**, v. 43, p. E005-E005, 2020.

CHEN, Nanshan et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 507-513, 2020.

CHENEVIER-GOBEAUX, Camille et al. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. **Clinica chimica acta**, v. 450, p. 97-103, 2015.

CHENG, Matthew P. et al. Serodiagnostics for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus 2: A Narrative Review. **Annals of internal medicine**, v. 173, n. 6, p. 450-460, 2020.

CHRISTENSEN, Jeanette Erbo; THOMSEN, Allan Randrup. Co-ordinating innate and adaptive immunity to viral infection: mobility is the key. **Apmis**, v. 117, n. 5-6, p. 338-355, 2009.

CHRISTIE, Michael J. et al. Of bats and men: Immunomodulatory treatment options for COVID-19 guided by the immunopathology of SARS-CoV-2 infection. **Science immunology**, v. 6, n. 63, p. eabd0205, 2021.

CIOTTI, Marco et al. COVID-19 outbreak: an overview. **Chemotherapy**, v. 64, n. 5-6, p. 215-223, 2020.

COLLIN, Matthew; BIGLEY, Venetia. Human dendritic cell subsets: an update. **Immunology**, v. 154, n. 1, p. 3-20, 2018.

CONTI, Bruno José; SANTIAGO, Karina Basso; SFORCIN, José Maurício. Células dendríticas: mini-revisão. **Biosaúde**, v. 16, n. 1, p. 28-33, 2014.

CONTI, P. et al. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies. **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 34, n. 2, p. 327-331, 2020.

COOMES, Eric A.; HAGHBAYAN, Hourmazd. Interleukin-6 in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Reviews in medical virology**, v. 30, n. 6, p. 1-9, 2020.

COPERCHINI, Francesca et al. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 53, p. 25-32, 2020. COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. **Autoimmunity Reviews**, p.102567, 2020.

CROOK, Harry et al. Long covid—mechanisms, risk factors, and management. **bmj**, v. 374, 2021.

D'ALONZO, Daniele; DE FENZA, Maria; PAVONE, Vincenzo. COVID-19 and pneumonia: a role for the uPA/uPAR system. **Drug discovery today**, v. 25, n. 8, p. 1528-1534, 2020.

DAI, Li-Li et al. Synthesis of endotoxin receptor CD14 protein in Kupffer cells and its role in alcohol-induced liver disease. **World journal of gastroenterology**, v. 9, n. 3, p. 622, 2003.

DELSHAD, Mahda et al. The contributory role of lymphocyte subsets, pathophysiology of lymphopenia and its implication as prognostic and therapeutic opportunity in COVID-19. **International immunopharmacology**, v. 95, p. 107586, 2021.

DETMERS, Patricia A. et al. Endotoxin receptors (CD14) are found with CD16 (Fc gamma RIII) in an intracellular compartment of neutrophils that contains alkaline phosphatase. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 155, n. 4, p. 2085-2095, 1995.

DIAO, Bo et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Frontiers in immunology**, p. 827, 2020.

DONADELLO, Katia et al. suPAR as a prognostic biomarker in sepsis. **BMC medicine**, v. 10, p. 1-9, 2012.

DOS SANTOS, João Pedro Costa et al. O grau de acometimento do parênquima pulmonar em pacientes COVID-19 está associado a maior tempo de internação e necessidade de ventilação mecânica?. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 102043, 2022.

DOZIO, Elena et al. Soluble receptor for advanced glycation end products and its forms in COVID-19 patients with and without diabetes mellitus: a pilot study on their role as disease biomarkers. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 11, p. 3785, 2020.

ELORANTA; ALM. Splenic marginal metallophilic macrophages and marginal zone macrophages are the major interferon- α/β producers in mice upon intravenous challenge with herpes simplex virus. **Scandinavian journal of immunology**, v. 49, n. 4, p. 391-394, 1999.

EREZ, Aharon et al. Diagnostic and prognostic value of very high serum lactate dehydrogenase in admitted medical patients. **Isr Med Assoc J**, v. 16, n. 7, p. 439-43, 2014.

FAJGENBAUM, David C.; JUNE, Carl H. Cytokine storm. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 23, p. 2255-2273, 2020.

FELSENSTEIN, Susanna et al. COVID-19: Immunology and treatment options. **Clinical immunology**, v. 215, p. 108448, 2020.

FERRARI, Davide et al. Routine blood tests as a potential diagnostic tool for COVID-19. **Clinical chemistry and laboratory medicine (CCLM)**, v. 58, n. 7, p. 1095-1099, 2020.

FINBERG, Robert W.; KURT-JONES, Evelyn A. CD14: chaperone or matchmaker?. **Immunity**, v. 24, n. 2, p. 127-129, 2006.

FRASER, Bryan J. et al. Structure and activity of human TMPRSS2 protease implicated in SARS-CoV-2 activation. **Nature Chemical Biology**, v. 18, n. 9, p. 963-971, 2022.

FURLAN, Federico et al. The soluble D2D388-274 fragment of the urokinase receptor inhibits monocyte chemotaxis and integrin-dependent cell adhesion. **Journal of cell science**, v. 117, n. 14, p. 2909-2916, 2004.

GALLIERA, Emanuela et al. SCD14-ST and new generation inflammatory biomarkers in the prediction of COVID-19 outcome. **Biomolecules**, v. 12, n. 6, p. 826, 2022.

GALLIERA, Emanuela et al. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) as new biomarker of the prosthetic joint infection: correlation with inflammatory cytokines. **Clinica Chimica Acta**, v. 441, p. 23-28, 2015.

GARCÍA, Luis F. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 1441, 2020.

GÓMEZ-RIAL, Jose et al. Increased serum levels of sCD14 and sCD163 indicate a preponderant role for monocytes in COVID-19 immunopathology. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 560381, 2020.

GONG, Jing et al. Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. **BMC infectious diseases**, v. 20, p. 1-7, 2020.

GORBALENYA, Alexander E. et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. **BioRxiv**, 2020.

GREGORY, C. D.; DEVITT, A. CD14 and apoptosis. **Apoptosis**, v. 4, p. 11-20, 1999.

GUAN, Wei-jie et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708-1720, 2020.

GUARINO, Matteo et al. Presepsin levels and COVID-19 severity: A systematic review and meta-analysis. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 23, n. 4, p. 993-1002, 2023.

GUIHOT, Amélie et al. Cell-mediated immune responses to COVID-19 infection. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 1662, 2020.

HAN, Yi et al. Lactate dehydrogenase, a Risk Factor of Severe COVID-19 Patients (preprint). 2020. Disponível: <https://pesquisa.bvsalud.org/global-literature-on-novel-coronavirus-2019-ncov/resource/fr/ppzbmed-10.1101.2020.03.24.20040162>. Acesso em 11/12/2023.

HARVEY, William T. et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 7, p. 409-424, 2021.

HAYDAR, Dalia et al. Azithromycin polarizes macrophages to an M2 phenotype via inhibition of the STAT1 and NF- κ B signaling pathways. **The Journal of Immunology**, v. 203, n. 4, p. 1021-1030, 2019.

HENRY, Brandon Michael et al. Lactate dehydrogenase levels predict coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity and mortality: A pooled analysis. **The American journal of emergency medicine**, v. 38, n. 9, p. 1722-1726, 2020.

HILÁRIO, Maria Odete Esteves; TERRERI, Maria Teresa; LEN, Cláudio Arnaldo. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. **Jornal de Pediatria**, v. 82, p. S206-S212, 2006.

HIKI, Naoki et al. Endotoxin binding and elimination by monocytes: secretion of soluble CD14 represents an inducible mechanism counteracting reduced expression of membrane CD14 in patients with sepsis and in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Infection and immunity**, v. 66, n. 3, p. 1135-1141, 1998.

HOFFMANN, Markus et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, 2020.

HOGAN, M. MICHELE; VOGEL, S. N. Inhibition of macrophage tumoricidal activity by glucocorticoids. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 140, n. 2, p. 513-519, 1988.

HOU, Yixuan J. et al. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. **Cell**, v. 182, n. 2, p. 429-446. e14, 2020.

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

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

HU, Rui et al. Procalcitonin levels in COVID-19 patients. **International journal of antimicrobial agents**, v. 56, n. 2, p. 106051, 2020.

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

HUANG, Mingxiang et al. Plasma levels of the active form of suPAR are associated with COVID-19 severity. **Critical Care**, v. 24, p. 1-3, 2020.

IIDA, Mariko et al. Lipopolysaccharide primes human basophils for enhanced mediator release: requirement for plasma co-factor and CD14. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 203, n. 2, p. 1295-1301, 1994.

INFANTINO, Maria et al. Serological assays for SARS-CoV-2 infectious disease: benefits, limitations and perspectives. **Isr Med Assoc J**, v. 22, n. 4, p. 203-210, 2020.

JACK, Robert S. (Ed.). **CD14 in the Inflammatory Response**. Karger Medical and Scientific Publishers, 2000.

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

JESENAK, Milos et al. Immune parameters and COVID-19 infection–associations with clinical severity and disease prognosis. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 364, 2020.

JIN, Yuefei et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. **Viruses**, v. 12, n. 4, p. 372, 2020.

JURISIC, Vladimir; RADENKOVIC, Sandra; KONJEVIC, Gordana. The actual role of LDH as tumor marker, biochemical and clinical aspects. **Advances in cancer biomarkers: from biochemistry to clinic for a critical revision**, p. 115-124, 2015.

KAPELLOS, Theodore S. et al. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 2035, 2019.

KARIMI SHAHRI, Mehdi; NIAZKAR, Hamid R.; RAD, Fariba. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing

pieces. **International journal of laboratory hematology**, v. 43, n. 2, p. 160-168, 2021.

KATNENI, Upendra K. et al. Coagulopathy and thrombosis as a result of severe COVID-19 infection: a microvascular focus. **Thrombosis and haemostasis**, v. 120, n. 12, p. 1668-1679, 2020.

KATSURA, Hiroaki et al. Human lung stem cell-based alveolospheres provide insights into SARS-CoV-2-mediated interferon responses and pneumocyte dysfunction. **Cell stem cell**, v. 27, n. 6, p. 890-904. e8, 2020.

KAYESH, Mohammad Enamul Hoque; KOHARA, Michinori; TSUKIYAMA-KOHARA, Kyoko. An overview of recent insights into the response of TLR to SARS-CoV-2 infection and the potential of TLR agonists as SARS-CoV-2 vaccine adjuvants. **Viruses**, v. 13, n. 11, p. 2302, 2021.

KELLEY, Stacy L. et al. The crystal structure of human soluble CD14 reveals a bent solenoid with a hydrophobic amino-terminal pocket. *The Journal of Immunology*, v. 190, n. 3, p. 1304-1311, 2013.

KERMALI, Muhammed et al. The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19—A systematic review. **Life sciences**, v. 254, p. 117788, 2020.

KHAN, Mona et al. Visualizing in deceased COVID-19 patients how SARS-CoV-2 attacks the respiratory and olfactory mucosae but spares the olfactory bulb. **Cell**, v. 184, n. 24, p. 5932-5949. e15, 2021.

KHANMOHAMMADI, Shaghayegh; REZAEI, Nima. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 5, p. 2735-2739, 2021.

KIEMER, Alexandra K. Blockade of an innate immune amplifier to fight immune hyperactivation in COVID-19?. **EBioMedicine**, v. 61, 2020.

KIM, Jung-In et al. Crystal Structure of CD14 and Its Implications for Lipopolysaccharide Signaling*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 12, p. 11347-11351, 2005.

KNOOPS, Kèvin et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. **PLoS biology**, v. 6, n. 9, p. e226, 2008.

KOL, Amir et al. Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 1, p. 13-17, 2000.

KOYAMA, Takahiko; PLATT, Daniel; PARIDA, Laxmi. Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 98, n. 7, p. 495, 2020.

KRISHNAMACHARY, Balaji et al. The potential role of extracellular vesicles in COVID-19 associated endothelial injury and pro-inflammation. **medRxiv**, 2020.

KRISTIANSEN, Mette et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. **Nature**, v. 409, n. 6817, p. 198-201, 2001.

KUMAR, Amit et al. Procalcitonin as a predictive marker in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 17, n. 9, p. e0272840, 2022.

LAI, Chih-Cheng et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 3, p. 105924, 2020.

LAMERS, Mart M. et al. An organoid-derived bronchioalveolar model for SARS-CoV-2 infection of human alveolar type II-like cells. **The EMBO Journal**, v. 40, n. 5, p. e105912, 2021.

LAMERS, Mart M. et al. SARS-CoV-2 Omicron efficiently infects human airway, but not alveolar epithelium. **BioRxiv**, p. 2022.01. 19.476898, 2022.

LEE, Clarissa C.; AVALOS, Ana M.; PLOEGH, Hidde L. Accessory molecules for Toll-like receptors and their function. **Nature Reviews Immunology**, v. 12, n. 3, p. 168-179, 2012.

LEE, Jeong Seok et al. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19. **Science immunology**, v. 5, n. 49, p. eabd1554, 2020.

LEE, Justin et al. The MHC class II antigen presentation pathway in human monocytes differs by subset and is regulated by cytokines. **PloS one**, v. 12, n. 8, p. e0183594, 2017.

LI, Geng et al. Coronavirus infections and immune responses. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 424-432, 2020.

LIPPI, Giuseppe; PLEBANI, Mario. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, v. 505, p. 190, 2020.

LISANTI, Michael P. et al. Caveolae and human disease: functional roles in transcytosis, potocytosis, signalling and cell polarity. In: **seminars in DEVELOPMENTAL BIOLOGY**. Academic Press, 1995. p. 47-58.

LIU, Fang et al. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. **Journal of clinical virology**, v. 127, p. 104370, 2020.

LLOYD-JONES, Katie L.; KELLY, Margaret M.; KUBES, Paul. Varying importance of soluble and membrane CD14 in endothelial detection of lipopolysaccharide. **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 2, p. 1446-1453, 2008.

LU, Roujian et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **The lancet**, v. 395, n. 10224, p. 565-574, 2020.

LUO, Wen et al. Clinical findings of 35 cases with novel coronavirus pneumonia outside of Wuhan. 2020. Disponível: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-22554/v1>. Acesso: 11\12\2023.

LURIE, Nicole et al. Developing Covid-19 vaccines at pandemic speed. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 21, p. 1969-1973, 2020.

MABREY, F. Linzee et al. Plasma Soluble CD14 Subtype Levels Are Associated with Clinical Outcomes in Critically Ill Subjects with Coronavirus Disease 2019. **Critical Care Explorations**, v. 3, n. 12, 2021.

MAHAJAN, Sahil et al. Plcy2/Tmem178 dependent pathway in myeloid cells modulates the pathogenesis of cytokine storm syndrome. **Journal of autoimmunity**, v. 100, p. 62-74, 2019.

MANIK, Moumita; SINGH, Rakesh K. Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19. **Journal of medical virology**, v. 94, n. 3, p. 869-877, 2022.

MARTIN, Thomas R. et al. Targeting innate immunity by blocking CD14: Novel approach to control inflammation and organ dysfunction in COVID-19 illness. **EBioMedicine**, v. 57, 2020.

MARTINEZ, Fernando O. et al. Monocyte activation in systemic Covid-19 infection: Assay and rationale. **EBioMedicine**, v. 59, 2020.

MAYEUX, Richard. Biomarkers: potential uses and limitations. **NeuroRx**, v. 1, p. 182-188, 2004.

MDKHANA, Bushra et al. Nucleic acid-sensing pathways during SARS-CoV-2 infection: expectations versus reality. **Journal of Inflammation Research**, p. 199-216, 2021.

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

MEMAR, Mohammad Yousef; BAGHI, Hossein Bannazadeh. Presepsin: A promising biomarker for the detection of bacterial infections. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 649-656, 2019.

MESSNER, Christoph B. et al. Ultra-high-throughput clinical proteomics reveals classifiers of COVID-19 infection. **Cell systems**, v. 11, n. 1, p. 11-24. e4, 2020.

MILBRANDT, Eric B. et al. Prevalence and significance of coagulation abnormalities in community-acquired pneumonia. **Molecular Medicine**, v. 15, p. 438-445, 2009.

MIYAKE, Kensuke. Innate recognition of lipopolysaccharide by CD14 and toll-like receptor 4-MD-2: unique roles for MD-2. **International immunopharmacology**, v. 3, n. 1, p. 119-128, 2003.

MO, Pingzheng et al. Clinical characteristics of refractory COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. **Clin infect dis**, v. 10, 2020.

MOGENSEN, Søren Christian. Role of macrophages in natural resistance to virus infections. **Microbiological Reviews**, v. 43, n. 1, p. 1-26, 1979.

MOGENSEN, S. C.; VIRELIZIER, J. L. The interferon-macrophage alliance. **Interferon**, v. 8, p. 55-84, 1987.

MOLAEI, Soheila et al. The immune response and immune evasion characteristics in SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2: Vaccine design strategies. **International immunopharmacology**, v. 92, p. 107051, 2021.

MUKAZ, Debora Kamin et al. Thrombo-inflammatory biomarkers and D-dimer in a biracial cohort study. **Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. 8, p. e12632, 2021.

NADKARNI, Girish N. et al. Anticoagulation, bleeding, mortality, and pathology in hospitalized patients with COVID-19. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 76, n. 16, p. 1815-1826, 2020.

NAGY, Abdou; ALHATLANI, Bader. An overview of current COVID-19 vaccine platforms. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 19, p. 2508-2517, 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.

OCZYPOK, Elizabeth A.; PERKINS, Timothy N.; OURY, Tim D. All the “RAGE” in lung disease: The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is a major mediator of pulmonary inflammatory responses. **Paediatric respiratory reviews**, v. 23, p. 40-49, 2017.

OGANDO, Natacha S. et al. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology. **The Journal of general virology**, v. 101, n. 9, p. 925, 2020.

OH, Soo Jin; SHIN, Ok Sarah. SARS-CoV-2 nucleocapsid protein targets RIG-I-like receptor pathways to inhibit the induction of interferon response. **Cells**, v. 10, n. 3, p. 530, 2021.

OMS. Organização Mundial de Saúde. Comitê de Emergência do Regulamento Sanitário Internacional da OMS. Genebra: OMS, 2023. [Acesso em 27 de outubro de 2023]. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/>

O'TOOLE, Áine et al. Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B. 1.1. 7 and B. 1.351/501Y-V2 with grinch. **Wellcome Open Research**, v. 6, 2021.
 PARANJPE, Ishan et al. Clinical characteristics of hospitalized Covid-19 patients in New York City. **MedRxiv**, p. 2020.04. 19.20062117, 2020.

PATENTE, Thiago A. et al. Human dendritic cells: their heterogeneity and clinical application potential in cancer immunotherapy. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 3176, 2019.

PATI, Abhijit et al. A CD14 Polymorphism (C-159T rs2569190) Is Associated With SARS-CoV-2 Infection and Mortality in the European Population. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 224, n. 5, p. 921-922, 2021.

PEREIRA, Ana Líbia Cardozo et al. Uso sistémico de corticosteróides: revisão de literatura. **Medicina Cutânea Ibero-Latino-Americana**, v. 35, n. 1, p. 35-50, 2007.

PICKERING, Raelene J. et al. Transactivation of RAGE mediates angiotensin-induced inflammation and atherogenesis. **The Journal of clinical investigation**, v. 129, n. 1, p. 406-421, 2019.

PRAME KUMAR, Kathryn; NICHOLLS, Alyce J.; WONG, Connie HY. Partners in crime: neutrophils and monocytes/macrophages in inflammation and disease. **Cell and tissue research**, v. 371, p. 551-565, 2018.

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.

PUGIN, Jérôme et al. CD14 is a pattern recognition receptor. **Immunity**, v. 1, n. 6, p. 509-516, 1994.

PYRC, Krzysztof; BERKHOUT, Ben; VAN DER HOEK, Lia. The novel human coronaviruses NL63 and HKU1. **Journal of virology**, v. 81, n. 7, p. 3051-3057, 2007.

QIN, Chuan et al. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. **Clinical infectious diseases**, v. 71, n. 15, p. 762-768, 2020.

RAI, Praveen et al. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 105, p. 441-455, 2021.

RAJAMANICKAM, Anuradha et al. Dynamic alterations in monocyte numbers, subset frequencies and activation markers in acute and convalescent COVID-19 individuals. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 20254, 2021.

RICHARDSON, Safiya et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. **Jama**, v. 323, n. 20, p. 2052-2059, 2020.

RIFAI, Nader. **Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book**. Elsevier Health Sciences, 2017.

RODEBERG, David A.; MORRIS, Randal E.; BABCOCK, George F. Azurophilic granules of human neutrophils contain CD14. **Infection and immunity**, v. 65, n. 11, p. 4747-4753, 1997.

ROJAS, Armando; GONZALEZ, Ileana; MORALES, Miguel A. SARS-CoV-2-mediated inflammatory response in lungs: should we look at RAGE?. **Inflammation Research**, v. 69, p. 641-643, 2020.

ROKNI, Mohsen; GHASEMI, Vida; TAVAKOLI, Zahra. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: comparison with SARS and MERS. **Reviews in medical virology**, v. 30, n. 3, p. e2107, 2020.).

RUAN, Qiurong et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. **Intensive care medicine**, v. 46, n. 5, p. 846-848, 2020.

SAGHAZADEH, Amene; REZAEI, Nima. Immune-epidemiological parameters of the novel coronavirus—a perspective. **Expert review of clinical immunology**, v. 16, n. 5, p. 465-470, 2020.

SALAHUDEEN, Ameen A. et al. Progenitor identification and SARS-CoV-2 infection in human distal lung organoids. **Nature**, v. 588, n. 7839, p. 670-675, 2020.

Sampaio, NG et al. O sensor RNA MDA5 detecta a infecção por SARS-CoV-2. **Ciência. Rep.** 11 , 13638 (2021).

SCHAER, Dominik J.; ALAYASH, Abdu I.; BUEHLER, Paul W. Gating the radical hemoglobin to macrophages: the anti-inflammatory role of CD163, a scavenger receptor. **Antioxidants & redox signaling**, v. 9, n. 7, p. 991-999, 2007.

SCHIMKE, Lena F. et al. Severe COVID-19 shares a common neutrophil activation signature with other acute inflammatory states. **Cells**, v. 11, n. 5, p. 847, 2022.

SCHMIDL, Christian et al. Transcription and enhancer profiling in human monocyte subsets. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 123, n. 17, p. e90-e99, 2014.

SCHMITZ, Gerd; ORSÓ, Evelyn. CD14 signalling in lipid rafts: new ligands and co-receptors. **Current opinion in lipidology**, v. 13, n. 5, p. 513-521, 2002.

SCHOEMAN, Dewald; GORDON, Bianca; FIELDING, Burtram C. Coronaviruses. **Encyclopedia of Infection and Immunity**, p. 241, 2022.

SCHUETZ, Philipp et al. Procalcitonin (PCT)-guided antibiotic stewardship: an international experts consensus on optimized clinical use. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 57, n. 9, p. 1308-1318, 2019.

SCHULTE-SCHREPPING, Jonas et al. Severe COVID-19 is marked by a dysregulated myeloid cell compartment. **Cell**, v. 182, n. 6, p. 1419-1440. e23, 2020.

SCHULTZE, Joachim L.; ASCHENBRENNER, Anna C. COVID-19 and the human innate immune system. **Cell**, v. 184, n. 7, p. 1671-1692, 2021.

SELVIN, Elizabeth et al. sRAGE and risk of diabetes, cardiovascular disease, and death. **Diabetes**, v. 62, n. 6, p. 2116-2121, 2013.

SENDIC, Senka et al. Impact of monocyte-related modulators and kidney function on mortality in hospitalized patients with COVID-19. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 96, n. 5, p. e13215, 2022.

SERRANO-LORENZO, Pablo et al. Plasma LDH: A specific biomarker for lung affection in COVID-19?. **Practical laboratory medicine**, v. 25, p. e00226, 2021.

SHAKAIB, Baila et al. A comprehensive review on clinical and mechanistic pathophysiological aspects of COVID-19 Malady: How far have we come?. **Virology Journal**, v. 18, n. 1, p. 120, 2021. MDPI and ACS Style.

SHAPIRO, Robert A. et al. Identification of CD14 residues involved in specific lipopolysaccharide recognition. **Infection and immunity**, v. 65, n. 1, p. 293-297, 1997.

SHAROM, Frances J.; RADEVA, Galina. GPI-anchored protein cleavage in the regulation of transmembrane signals. **Membrane Dynamics and Domains: Subcellular Biochemistry**, p. 285-315, 2004.

SHI, Chao; PAMER, Eric G. Monocyte recruitment during infection and inflammation. **Nature reviews immunology**, v. 11, n. 11, p. 762-774, 2011.

SHIRATO, Ken; KIZAKI, Takako. SARS-CoV-2 spike protein S1 subunit induces pro-inflammatory responses via toll-like receptor 4 signaling in murine and human macrophages. **Heliyon**, v. 7, n. 2, 2021.

SHIVE, Carey L. et al. Soluble CD14 is a nonspecific marker of monocyte activation. **AIDS (London, England)**, v. 29, n. 10, p. 1263, 2015.

SILVA, César Augusto et al. Imunopatogênese No Desenvolvimento Da Covid-19. **REVISTA SAÚDE & CIÊNCIA**, v. 10, n. 1, p. 85-102, 2021.

SILVIN, Aymeric et al. Elevated calprotectin and abnormal myeloid cell subsets discriminate severe from mild COVID-19. **Cell**, v. 182, n. 6, p. 1401-1418. e18, 2020.

SINGHAL, Tanu. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). **The indian journal of pediatrics**, v. 87, n. 4, p. 281-286, 2020.

SOHN, Kyung Mok et al. COVID-19 patients upregulate toll-like receptor 4-mediated inflammatory signaling that mimics bacterial sepsis. **Journal of Korean medical science**, v. 35, n. 38, 2020.

SPROTT, Richard L. Biomarkers of aging and disease: introduction and definitions. **Experimental gerontology**, v. 45, n. 1, p. 2-4, 2010.

STRIMBU, Kyle; TAVEL, Jorge A. What are biomarkers?. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463, 2010.

SU, Grace L. et al. CD14 expression and production by human hepatocytes. **Journal of hepatology**, v. 31, n. 3, p. 435-442, 1999.

SWIECKI, Melissa; COLONNA, Marco. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 8, p. 471-485, 2015.

TAEFEHSHOKR, Nima et al. Covid-19: perspectives on innate immune evasion. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 2549, 2020.

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

TERPOS, Evangelos et al. Hematological findings and complications of COVID-19. **American journal of hematology**, v. 95, n. 7, p. 834-847, 2020.

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

TIPPETT, Emma et al. Differential expression of CD163 on monocyte subsets in healthy and HIV-1 infected individuals. **PloS one**, v. 6, n. 5, p. e19968, 2011.

UELAND, Thor et al. Elevated plasma sTIM-3 levels in patients with severe COVID-19. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 147, n. 1, p. 92-98, 2021.

ULEVITCH, R. J.; TOBIAS, P. S. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. **Annual review of immunology**, v. 13, n. 1, p. 437-457, 1995.

VAN DER MADE, Caspar I. et al. Presence of genetic variants among young men with severe COVID-19. **Jama**, v. 324, n. 7, p. 663-673, 2020.

VELAVAN, Thirumalaisamy P.; MEYER, Christian G. COVID-19: a PCR-defined pandemic. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 103, p. 278-279, 2021.

VIEIRA, Luisane Maria Falci; EMERY, Eduardo; ANDRIOLO, Adagmar. COVID-19-Laboratory Diagnosis for Clinicians. In: **COVID-19-Laboratory Diagnosis for Clinicians**. 2020.

VIRIYAKOSOL, Suganya et al. Structure-function analysis of CD14 as a soluble receptor for lipopolysaccharide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 5, p. 3144-3149, 2000.

WALKER, Peter J. et al. Changes to virus taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2019). **Archives of virology**, v. 164, n. 9, p. 2417-2429, 2019.

WANG, Changzheng et al. Preliminary study to identify severe from moderate cases of COVID-19 using combined hematology parameters. **Annals of translational medicine**, v. 8, n. 9, 2020.

WANG, Jiong; ZAND, Martin S. The potential for antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2 infection: Translational implications for vaccine development. **Journal of clinical and translational science**, v. 5, n. 1, p. e2, 2021.

WANG, Mei-Yue et al. SARS-CoV-2: structure, biology, and structure-based therapeutics development. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 587269, 2020.

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.

WEAVER, Lehn K. et al. Up-regulation of human monocyte CD163 upon activation of cell-surface Toll-like receptors. **Journal of Leucocyte Biology**, v. 81, n. 3, p. 663-671, 2007.

WIERSINGA, W. Joost et al. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. **Jama**, v. 324, n. 8, p. 782-793, 2020.

WOLF, Anja A. et al. The ontogeny of monocyte subsets. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1642, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Biomarkers and risk assessment: concepts and principles**. World Health Organization, 1993.

World Health Organization(WHO). **Draft landscape of Covid-19 candidate vaccines**. June 02, 2020. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/blue-print/novel-coronavirus-landscape-covid-19-24062020.pdf?sfvrsn=f97a8e43_1&download=true Acesso em: 05 de dezembro de 2023.

World Health Organization (WHO). **Tracking SARS-CoV-2 variants**. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/>. Acesso em: 11 dezembro 2023.

Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. **Science**. 1990.

WU, Chaomin et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. **JAMA internal medicine**, v. 180, n. 7, p. 934-943, 2020.

WU, Fan et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 265-269, 2020.

WU, Zhenghao et al. CD14: Biology and role in the pathogenesis of disease. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 48, p. 24-31, 2019.

XIONG, Ying et al. Clinical and high-resolution CT features of the COVID-19 infection: comparison of the initial and follow-up changes. **Investigative radiology**, 2020.

YANG, Kai et al. Serum sCD14 as a Biomarker for Significant Liver Inflammation in Chronic Hepatitis B Patients with Normal or Mildly Elevated ALT. **Clinical Laboratory**, v. 67, n. 10, 2021.

YANG, Xiaobo et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. **The lancet respiratory medicine**, v. 8, n. 5, p. 475-481, 2020.

YAZDANPANA, Fereshteh; HAMBLIN, Michael R.; REZAEI, Nima. The immune system and COVID-19: Friend or foe?. **Life sciences**, v. 256, p. 117900, 2020.

YESUDHAS, Dhanusha; SRIVASTAVA, Ambuj; GROMIHA, M. Michael. COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. **Infection**, v. 49, p. 199-213, 2021.

YIN, Xin et al. MDA5 governs the innate immune response to SARS-CoV-2 in lung epithelial cells. **Cell reports**, v. 34, n. 2, 2021.

ZANINOTTO, Martina et al. Presepsin in risk stratification of SARS-CoV-2 patients. **Clinica Chimica Acta**, v. 507, p. 161-163, 2020.

ZHANG, Dan et al. Frontline Science: COVID-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes. **Journal of Leucocyte Biology**, v. 109, n. 1, p. 13-22, 2021.

ZHANG, L. et al. Use of D-dimer in oral anticoagulation therapy. **International journal of laboratory hematology**, v. 40, n. 5, p. 503-507, 2018.

ZHANG, Litao et al. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. **Journal of thrombosis and haemostasis**, v. 18, n. 6, p. 1324-1329, 2020.

ZHANG, Si et al. SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19. **Journal of hematology & oncology**, v. 13, n. 1, p. 1-22, 2020.

ZHAO, Peng et al. Virus-receptor interactions of glycosylated SARS-CoV-2 spike and human ACE2 receptor. **Cell host & microbe**, v. 28, n. 4, p. 586-601. e6, 2020.

ZHENG, Hong-Yi et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. **Cellular & molecular immunology**, v. 17, n. 5, p. 541-543, 2020.

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

ZHOU, Pengcheng et al. Bacterial and fungal infections in COVID-19 patients: a matter of concern. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 41, n. 9, p. 1124-1125, 2020.

ZHU, Feng-Cai et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. **The Lancet**, v. 395, n. 10240, p. 1845-1854, 2020.

ZHU, Jieyun et al. Clinicopathological characteristics of 8697 patients with COVID-19 in China: a meta-analysis. **Family medicine and community health**, v. 8, n. 2, 2020.

ZHU, Xi et al. Usage of procalcitonin and sCD14-ST as diagnostic markers for postoperative spinal infection. **Journal of Orthopaedics and Traumatology**, v. 23, n. 1, p. 25, 2022.

ZINGAROPOLI, Maria Antonella et al. Increased sCD163 and sCD14 plasmatic levels and depletion of peripheral blood pro-inflammatory monocytes, myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients with severe COVID-19 pneumonia. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 627548, 2021.

ANEXOS

ANEXO A

Cópia do parecer da Comissão Nacional de ética em Pesquisa

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

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

Pesquisador: Virginia Maria Barros de Lorena

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 30323620.1.0000.0008

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.994.337

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1530310.pdf, de 27/03/2020) e/ou do Projeto Detalhado (Projeto_CoVid19_VMBLorena.pdf, de 27/03/2020).

INTRODUÇÃO

O coronavírus (Cov) é um vírus que geralmente causa doenças respiratórias leves a moderada, muito parecida com os sintomas de resfriados e gripes (CORTEGIANI et al, 2020). Porém, alguns tipos de coronavírus causam síndromes respiratórias graves. A mais importante infecção, até então, ocorrida entre os anos de 2002 e 2003, foi a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS, Severe Acute Respiratory Syndrome), causada pelo SARS-Cov, onde levou a óbito cerca de 800 pessoas na China e em países da Europa. Uma outra síndrome respiratória importante, causada por Cov ficou conhecida como Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS, Middle East Respiratory Syndrome), devido a localização geográfica dos casos, e o vírus ficou conhecido como Cov associado à MERS (MERS-CoV). Desde dezembro de 2019, tem sido relatado pelos meios de divulgação científica e de imprensa uma nova doença pulmonar grave na China, mais precisamente na cidade de Wuhan e um novo coronavírus (SARS-Cov-2), provavelmente oriundo de animais silvestres, foi descoberto. Esta nova síndrome respiratória foi denominada de COVID-19

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br