

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

JÚLIA OLIVEIRA DIAS

**COVID-19: da origem aos aspectos imunológicos baseados em ontologia
genética**

SÃO CARLOS - SP
JANEIRO, 2022

JÚLIA OLIVEIRA DIAS

**COVID-19: da origem aos aspectos imunológicos baseados em ontologia
genética**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de São Carlos como parte
dos requisitos para a obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia.

Área de concentração: Genética

Orientador: Prof. Dr. Francis de Morais Franco
Nunes

SÃO CARLOS - SP
JANEIRO, 2022

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francis Nunes, pelo apoio incondicional, pela amizade criada e por ser uma grande referência de pessoa, professor e cientista. A todos os professores que participaram da minha formação, desde o ensino primário, ensino fundamental, ensino médio e ensino superior. À Universidade Federal de São Carlos, por toda a estrutura e abertura para que minha vida acadêmica fosse possível. Ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia, sobretudo à Prof^a. Dra. Maria Cristina Pranchevicius e ao secretário Rodrigo Malimpensa. A São Carlos, por todas as experiências que me permitiu viver. Aos pesquisadores e divulgadores científicos nas redes sociais, em especial aqueles que passei a acompanhar após o início da pandemia, pelo trabalho impagável e por trazerem luz. À Alexandra Elbakyan, por estimular a ciência aberta. À minha família, pelo suporte. Aos meus amigos, pelo amparo e companheirismo. Aos meus pais e irmã, por tudo.

RESUMO

Os coronavírus são um grupo de vírus que inclui o SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), causador da COVID-19 (*coronavirus disease 2019*), doença cujo primeiro foco surgiu na China, em dezembro de 2019 e que rapidamente se disseminou pelo globo, caracterizando uma pandemia declarada em março de 2020. A infecção pode ser assintomática, causar sintomas leves ou evoluir para casos graves ou fatais. A COVID-19 tem mostrado particularidades que demandam cada vez mais a atenção de cientistas na busca por vacinas, fármacos, métodos diagnósticos e preditores para a severidade do caso, em meio a um cenário de altos números de infectados e mortes. O sistema imune possui papel proeminente não somente no combate à infecção, mas também na própria imunopatologia da COVID-19, por meio da hipercitocinemia, conhecida como “tempestade de citocinas”. Esta resposta imune desregulada pode agravar o caso, assim como comorbidades que incluem diabetes, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e obesidade, sobretudo em indivíduos com idade mais avançada. O presente trabalho buscou revisar o histórico da COVID-19 sob um olhar imunogenético e, em extensão à revisão bibliográfica realizada, organizamos dados de estudos em larga escala que identificaram genes/proteínas com expressão alterada em indivíduos com casos de COVID-19 considerados severos, frente a casos não-severos. Com base nisso, realizamos uma análise baseada em ontologia genética que revelou processos biológicos enriquecidos e que demonstram a importância da funcionalidade e da regulação da resposta imune.

Palavras-chave: COVID-19. Genética. Imunidade. Ontologia genética. Proteoma. Transcriptoma. SARS-CoV-2.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Mecanismo da entrada do SARS-CoV-2 nas células humanas por meio da ligação da proteína Spike em ACE2.....	24
Figura 2	Substituições de resíduos de aminoácidos presentes nas variantes B.1.1.7 (Alfa), B.1.351 (Beta), P.1 (Gama), B.1.617.1 (Kappa) e B.1.617.2 (Delta) do SARS-CoV-2.....	25
Figura 3	Fluxograma do levantamento bibliográfico.....	36
Figura 4	Fluxograma da análise de ontologia genética via enriquecimento funcional utilizando três programas (g:GOSSt, GO Term Finder e ShinyGO).....	39
Figura 5	Diagrama de Venn gerado pelo programa Venny a partir da lista consenso de termos de ontologia genética, tanto para aqueles obtidos a partir da lista de genes em <i>downregulation</i> , quanto em <i>upregulation</i> , em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparação entre as doenças SARS, MERS e COVID-19 quanto ao período de ocorrência, número de casos e número de mortes.....	20
Tabela 2	Número e porcentagem de casos e mortes por COVID-19 de acordo com a idade nos Estados Unidos até 14 de dezembro de 2021.....	29
Tabela 3	Taxas de letalidade em indivíduos do sexo masculino para a COVID-19, descritas entre janeiro e abril de 2020 na China e nos Estados Unidos.....	31
Tabela 4	Compilado dos critérios utilizados pelos seis trabalhos selecionados para a classificação da severidade dos casos de COVID-19.....	37
Tabela 5	Genes/proteínas diferencialmente expressos em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos.....	40
Tabela 6	Processos biológicos enriquecidos (p ou FDR < 0,05) nos resultados obtidos exclusivamente a partir da lista de 104 genes em <i>upregulation</i> em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos.....	43
Tabela 7	Processos biológicos enriquecidos (p ou FDR < 0,05) nos resultados obtidos exclusivamente a partir da lista de 74 genes em <i>downregulation</i> em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos.....	45
Tabela 8	Análise comparativa entre o número de genes/proteínas em <i>up</i> e <i>downregulation</i> nos processos biológicos enriquecidos que estão presentes tanto nos resultados obtidos a partir do <i>input</i> da lista de genes em <i>upregulation</i> , quanto a partir do <i>input</i> da lista de genes em <i>downregulation</i> em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

Agl	Angiotensina I
AgII	Angiotensina II
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
nt	Nucleotídeos

LISTA DE SIGLAS

2019-nCoV - *2019 novel coronavirus*

AVE - acidente vascular encefálico

COVID-19 - *coronavirus disease 2019*

ECA2 - enzima conversora de angiotensina 2

GO - *Gene Ontology*

HDL - *high-density lipoprotein*

HIV - *human immunodeficiency virus*

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

MERS - *Middle East respiratory syndrome*

MERS-CoV - *Middle East respiratory coronavirus*

NETs - *neutrophil extracellular traps*

NK - *natural killer*

OMS - Organização Mundial da Saúde

PAMPs - *pathogen-associated molecular patterns*

PANGO - *Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages*

PASC - *postacute sequelae of COVID-19*

PCR - *polymerase chain reaction*

SARS - *severe acute respiratory syndrome*

SARS-CoV - *severe acute respiratory syndrome coronavirus*

SARS-CoV-2 - *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*

SRA - sistema renina-angiotensina

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

WHCV - *Wuhan-Human 1 coronavirus*

LISTA DE SÍMBOLOS

A1BG	alpha-1-B glycoprotein
A2M	alpha-2-macroglobulin
ACE2	angiotensin-converting enzyme 2
ACTB	actin beta
AFM	afamin
AHSG	alpha 2-HS glycoprotein
ALB	albumin
AMBP	alpha-1-microglobulin/bikunin precursor
ANKRD50	ankyrin repeat domain containing 50
APOA1	apolipoprotein A1
APOA2	apolipoprotein A2
APOC1	apolipoprotein C1
APOC2	apolipoprotein C2
APOC3	apolipoprotein C3
APOH	apolipoprotein H
APOM	apolipoprotein M
BST2	bone marrow stromal cell antigen 2
AZGP1	alpha-2-glycoprotein 1, zinc-binding
C1R	complement C1r
C1S	complement C1s
C3	complement C3
C4A	complement C4A
C5	complement C5
C6	complement C6
C7	complement C7
C8A	complement C8 alpha chain
CA6	carbonic anhydrase 6

CAPNS1	calpain small subunit 1
CCL11	C-C motif chemokine ligand 11
CCL18	C-C motif chemokine ligand 18
CCL2	C-C motif chemokine ligand 2
CCL23	C-C motif chemokine ligand 23
CCL3	C-C motif chemokine ligand 3
CCL4	C-C motif chemokine ligand 4
CCL4L2	C-C motif chemokine ligand 4 like 2
CCL7	C-C motif chemokine ligand 7
CCL8	C-C motif chemokine ligand 8
CCR5	C-C motif chemokine receptor 5
CCR7	C-C motif chemokine receptor 7
CD14	CD14 molecule
CFB	CD180 molecule
CFH	complement factor H
CFP	complement factor properdin
CLEC3B	C-type lectin domain family 3 member B
CLU	clusterin
COL6A3	collagen type VI alpha 3 chain
CP	ceruloplasmin
CPN1	carboxypeptidase N subunit 1
CRP	C-reactive protein
CSF1	colony stimulating factor 1
CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor subunit beta
CSF3R	colony stimulating factor 3 receptor
CSTB	cathepsin B
CTSL	cathepsin L
CX3CL1	C-X3-C motif chemokine ligand 1
CX3CR1	C-X3-C motif chemokine receptor 1

CXCL1	C-X-C motif chemokine ligand 1
CXCL13	C-X-C motif chemokine ligand 13
CXCL2	C-X-C motif chemokine ligand 2
CXCR1	C-X-C motif chemokine receptor 1
CXCR2	C-X-C motif chemokine receptor 2
DDT	D-dopachrome tautomerase
DPP4	dipeptidyl peptidase 4
F8	coagulation factor VIII
FCN2	ficolin 2
FGA	fibrinogen alpha chain
FGB	fibrinogen beta chain
FGG	fibrinogen gamma chain
FLNA	filamin A
GC	GC vitamin D binding protein
GPLD1	glycosylphosphatidylinositol specific phospholipase D1
GSN	gelsolin
GSTO1	glutathione S-transferase omega 1
H4C1	H4 clustered histone 1
HBB	hemoglobin subunit beta
HBD	hemoglobin subunit delta
HBE1	hemoglobin subunit epsilon 1
HBG1	hemoglobin subunit gamma 1
HBG2	<u>hemoglobin subunit gamma 2</u>
HIF1A	hypoxia inducible factor 1 subunit alpha
HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A
HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
HMOX1	heme oxygenase 1
HPR	haptoglobin-related protein
HPX	hemopexin

HRG	histidine rich glycoprotein
HSPA5	heat shock protein family A (Hsp70) member 5
HSPB1	heat shock protein family B (small) member 1
HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha
IFI35	interferon induced protein 35
IFIT1	interferon induced protein with tetratricopeptide repeats 1
IFIT2	interferon induced protein with tetratricopeptide repeats 2
IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1
IFNA2	interferon alpha 2
IFNAR1	interferon alpha and beta receptor subunit 1
IFNAR2	interferon alpha and beta receptor subunit 2
IFNGR1	interferon gamma receptor 1
IGFALS	insulin like growth factor binding protein acid labile subunit
IL10	interleukin 10
IL12A	interleukin 12A
IL13	interleukin 13
IL13RA1	interleukin 13 receptor subunit alpha 1
IL16	interleukin 16
IL17	interleukin 17
IL18	interleukin 18
IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein
IL1B	interleukin 1 beta
IL1R1	interleukin 1 receptor type 1
IL1R2	interleukin 1 receptor type 2
IL1RAP	interleukin 1 receptor accessory protein
IL22	interleukin 22
IL27	interleukin 27
IL2RB	interleukin 2 receptor subunit beta
IL32	interleukin 32

IL4R	interleukin 4 receptor
IL6	interleukin 6
IL6R	interleukin 6 receptor
IL7	interleukin 7
IL7R	interleukin 7 receptor
IL8	interleukin 8
IRF1	interferon regulatory factor 1
IRF4	interferon regulatory factor 4
IRF5	interferon regulatory factor 5
IRF7	interferon regulatory factor 7
ITIH1	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 1
ITIH2	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 2
ITIH3	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 3
ITIH4	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4
JAK1	Janus kinase 1
JCHAIN	joining chain of multimeric IgA and IgM
KNG1	kininogen 1
LGALS3BP	galectin 3 binding protein
LTB	lymphotoxin beta
MB	macroH2A.1 histone
MIF	macrophage migration inhibitory factor
MMRN1	multimerin 1
MX1	MX dynamin like GTPase 1
OAF	out at first homolog
OAS1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 1
ORM1	orosomucoid 1
ORM2	orosomucoid 2
PCYOX1	prenylcysteine oxidase 1
PDGFRB	platelet derived growth factor receptor beta

PF4	platelet factor 4
PFN1	profilin 1
PLG	plasminogen
PLGLB1	plasminogen like B1
PON1	paraoxonase 1
PPBP	pro-platelet basic protein
PPIA	peptidylprolyl isomerase A
PSMB8	proteasome 20S subunit beta 8
PTAFR	platelet activating factor receptor
PTPN6	protein tyrosine phosphatase non-receptor type 6
PZP	PZP alpha-2-macroglobulin like
Rab-10	ras-related protein Rab-10
Rab-7a	ras-related protein Rab-7a
RBP4	retinol binding protein 4
RPS28	ribosomal protein S28
S100A8	S100 calcium binding protein A8
S100A9	S100 calcium binding protein A9
S1PR1	sphingosine-1-phosphate receptor 1
SAA1	serum amyloid A1
SAA2	serum amyloid A2
SAA4	serum amyloid A4, constitutive
SERPINA3	serpin family A member 3
SOCS1	suppressor of cytokine signaling 1
SOCS3	suppressor of cytokine signaling 3
SOD2	superoxide dismutase 2
SPARC	secreted protein acidic and cysteine rich
STAT1	signal transducer and activator of transcription 1
STAT2	signal transducer and activator of transcription 2
TAGLN2	transgelin 2

TF	transferrin
TGFBR1	transforming growth factor beta receptor 1
TGFBR2	transforming growth factor beta receptor 2
TLR7	toll-like receptor 7
TMEM106B	transmembrane protein 106B
TMEM41B	transmembrane protein 41B
TMPRSS2	transmembrane serine protease 2
TMSB4X	thymosin beta 4 X-linked
TNFA	tumor necrosis factor
TNFRSF10C	TNF receptor superfamily member 10c
TNFRSF11A	TNF receptor superfamily member 11a
TNFRSF17	TNF receptor superfamily member 17
TNFRSF8	TNF receptor superfamily member 8
TNFRSF9	TNF receptor superfamily member 9
TTR	transthyretin
TYK2	tyrosine kinase 2
UBB	ubiquitin B
VASP	vasodilator stimulated phosphoprotein
VCPIP1	valosin containing protein interacting protein 1
VTN	vitronectin

SUMÁRIO

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2 OBJETIVOS	35
3 METODOLOGIA	35
3.1 Levantamento bibliográfico	35
3.2 Levantamento de genes/proteínas envolvidos na COVID-19.....	36
3.3 Análise de ontologia genética via enriquecimento funcional	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Expressão de genes e de proteínas associados à COVID-19	39
4.2 Ontologia genética	43
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
REFERÊNCIAS.....	52

Nota: o presente Trabalho de Conclusão de Curso se propôs a realizar uma revisão bibliográfica (de acordo com as normas do “Regulamento para Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) do curso de Bacharelado em Biotecnologia do campus de S. Carlos”, capítulo II, artigo 4º, item I) que envolveu duas partes: 1) a organização de informações científicas, conciliando-as e apurando de forma crítica os principais aspectos da COVID-19; e 2) uma pesquisa *in silico* que envolveu o levantamento de genes humanos alterados em pacientes acometidos com a doença, em busca de assinaturas moleculares e funcionais que explicam os eventos clínicos.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em dezembro de 2019, em Wuhan, na província chinesa de Hubei, começaram a ser notificados casos clínicos envolvendo pacientes com febre, tosse seca, falta de ar e pneumonia, que podiam evoluir para uma síndrome respiratória aguda grave (WUHAN MUNICIPAL HEALTH COMMISSION, 2019). Quando um total de 27 casos de “pneumonia de causa desconhecida” foram registrados, a Organização Mundial da Saúde (OMS) contatou as autoridades da China solicitando informações detalhadas dos episódios (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a).

No início de 2020, três grupos independentes de cientistas chineses identificaram em amostras desses pacientes de Wuhan um novo coronavírus e propuseram ensaios, utilizando métodos de biologia molecular, para o diagnóstico da doença até então desconhecida (WU *et al.*, 2020; ZHOU, P. *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020). No trabalho liderado por Zhu, publicado em 24 de janeiro de 2020, as amostras eram do trato respiratório inferior, incluindo fluido do lavado broncoalveolar, e foram utilizadas técnicas de sequenciamento genômico e reação em cadeia da polimerase (PCR) para a identificação do patógeno (ZHU *et al.*, 2020). O vírus isolado possuía mais de 85% de identidade com um coronavírus de morcego (bat-SL-CoVZC45, número de acesso no GenBank: MG772933.1, sequenciado por Hu *et al.*, 2018) e, por isso, foi então nomeado 2019-nCoV (do inglês *2019 novel coronavirus*), um novo coronavírus do gênero betacoronavírus (ZHU *et al.*, 2020).

Publicado alguns dias depois, em 03 de fevereiro de 2020, o grupo de Wu também utilizou sequenciamento da amostra do fluido do lavado broncoalveolar de um paciente de Wuhan e identificou o mesmo vírus de RNA da família dos

coronavírus, referindo-se a ele como WHCV (*Wuhan-Human 1 coronavirus*), além da nomenclatura 2019-nCoV utilizada por Zhu *et al.* (WU *et al.*, 2020). O genoma sequenciado foi inserido na plataforma GenBank sob o número de acesso MN908947 e apresentou 89,1% de identidade com o coronavírus de morcego bat-SL-CoVZC45 (WU *et al.*, 2020), corroborando o resultado anterior de Zhu *et al.* Além disso, o trabalho aponta para similaridades genômicas e filogenéticas entre o isolado e o vírus SARS-CoV (do inglês *severe acute respiratory syndrome coronavirus*) (WU *et al.*, 2020), o coronavírus causador da SARS (*severe acute respiratory syndrome*, síndrome respiratória aguda severa) (DROSTEN *et al.*, 2003).

Na mesma data em fevereiro, foi publicado o estudo de Zhou e colaboradores, que fizeram uso de PCR e sequenciamento de nova geração em amostras de *swab* oral, *swab* anal, sangue e fluido do lavado broncoalveolar para a identificação viral (ZHOU, P. *et al.*, 2020). Como resultado, descreveram um coronavírus com 79,6% de identidade com o vírus SARS-CoV (ZHOU, P. *et al.*, 2020). Pela proximidade filogenética entre estes agentes etiológicos, o novo coronavírus, antes chamado de 2019-nCoV e WHCV, foi nomeado oficialmente como SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2020). A OMS nomeou a doença como COVID-19 (também do inglês, *coronavirus disease 2019*) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020b).

Com estes estudos, foi possível caracterizar o SARS-CoV-2 como um vírus de RNA fita simples e polaridade positiva, cujo genoma possui 29.903 nucleotídeos (nt), podendo ser organizado em ORF1ab replicase (21.291 nt), spike (3.822 nt), ORF3a (828 nt), envelope (228 nt), membrana (669 nt) e nucleocapsídeo (1.260 nt) (WU *et al.*, 2020). Foi sugerida uma possível origem zoonótica, dada sua alta identidade genética com dois coronavírus de morcegos, conforme mencionado anteriormente (WU *et al.*, 2020; ZHOU, P. *et al.*, 2020). Um relatório da OMS de março de 2021 classificou como muito provável a hipótese de introdução do vírus a um hospedeiro intermediário seguida de *spillover* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021a). Ou seja, a origem melhor aceita é a de que, a partir de um animal reservatório – possivelmente, um morcego –, o SARS-CoV-2 foi transmitido a um hospedeiro intermediário (como o pangolim, consumido na culinária oriental) e, assim, chegou aos humanos (HOLMES *et al.*, 2021; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021a). Um

trabalho de novembro de 2021 conciliou informações, a fim de entender a origem da COVID-19. Seus resultados apontam que os primeiros casos conhecidos da doença foram de indivíduos que trabalhavam em mercados em Wuhan que comercializam mamíferos vivos e, dessa maneira, os trabalhadores teriam tido contato com animais infectados (WOROBNEY, 2021).

Amplamente distribuídos entre os humanos e outros animais, coronavírus podem causar encefalite aguda, pneumonite e hepatite em camundongos (WEISS; LEIBOWITZ, 2011). Em humanos, quatro coronavírus podem causar sintomas de resfriado em indivíduos imunocompetentes e, anteriormente à pandemia de COVID-19, eram conhecidos apenas o SARS-CoV e o MERS-CoV como coronavírus que podiam acarretar quadros fatais, como observado nos surtos de 2002 na China (ZHONG *et al.*, 2003) e 2012 no Oriente Médio (ZAKI *et al.*, 2012).

Para compreensão geral da COVID-19, cabe antes destacar sobre a epidemia de SARS, que teve início em novembro de 2002, na província chinesa de Guangdong, e fim em junho de 2003 (CHAN-YEUNG; RUI-HENG, 2003), após atingir 29 países em cinco continentes (LAM; ZHONG; TAN, 2003). Ao todo, ocorreram mais de 8.400 casos da doença, com mais de 900 mortes, principalmente em pessoas com doenças pré-existentes, como diabetes (CHAN-YEUNG; RUI-HENG, 2003). O SARS-CoV possui um tempo de incubação de 11 dias (PEIRIS *et al.*, 2003) e é transmitido por meio de gotículas respiratórias e de saliva expelidas por indivíduos contaminados sintomáticos (CHAN-YEUNG; RUI-HENG, 2003). Casos de indivíduos infectados por SARS-CoV e assintomáticos foram relatados (PEIRIS *et al.*, 2003), mas não há registros de transmissão causada por estes pacientes (WILDER-SMITH; CHIEW; LEE, 2020). No entanto, há também relatos de que a SARS podia se manifestar por meio de febre, mialgia, dor de cabeça, tosse, falta de ar e diarreia, podendo até mesmo evoluir para uma síndrome respiratória aguda grave e causar a morte do paciente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Os casos se concentraram em Taiwan e Hong Kong (China), Toronto (Canadá) e Singapura e, por isso, esses foram locais onde medidas como distanciamento e/ou isolamento social, quarentena, *lockdown* de cidades e fiscalização foram rigorosamente implementadas (TSANG; LAM, 2003; SVOBODA *et al.*, 2004; GOH *et al.*, 2006; WILDER-SMITH; CHIEW; LEE, 2020). Hoje, a SARS é considerada erradicada (SMITH, 2019).

Anos após a ocorrência da SARS, em 2012, aconteceu o surto de MERS (síndrome respiratória do oriente médio, do inglês *Middle East respiratory syndrome*),

doença causada pelo coronavírus MERS-CoV (*Middle East respiratory coronavirus*). O primeiro registro da doença ocorreu em 2012, em Jidá, na Arábia Saudita (ZAKI *et al.*, 2012) e, desde então, a OMS registrou mais de 2.500 casos até outubro de 2021, em um total de 27 países (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021b). A doença também afeta, majoritariamente, pessoas com doenças pré-existentes, podendo desde não causar sintomas a provocar febre, tosse, dor de garganta, dor no corpo, diarreia, falta de ar e, em casos graves, pneumonia, choque séptico e falência renal (ZUMLA; HUI; PERLMAN, 2015). A transmissão ocorre principalmente por gotículas e contato humano, em especial de infectados para profissionais da saúde ou entre membros de uma mesma família (NASSAR *et al.*, 2018), com uma taxa de mortalidade alarmante de quase 35% (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021b). Por poder ser transmitida também por dromedários, a MERS possui um controle mais difícil que a SARS (NASSAR *et al.*, 2018) e ainda existem casos da doença na atualidade. Entre janeiro e março de 2021, sete novos casos na Arábia Saudita foram reportados à OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021c).

Assim como SARS-CoV e MERS-CoV, o SARS-CoV-2 também é transmitido por contato com pessoas infectadas e por gotículas e aerossóis (CHIRICO *et al.*, 2020; DELIKHOON *et al.*, 2021). Em janeiro de 2020, na Alemanha, um relato descreveu o caso de um paciente de COVID-19 que adquiriu o vírus após o contato com uma pessoa assintomática que posteriormente foi diagnosticada com a doença, o que levou à hipótese de transmissão viral por portadores sem sintomas (ROTHER *et al.*, 2020). Em sequência, uma meta-análise envolvendo 34 estudos diferentes analisou os dados de 506 pacientes com COVID-19 infectados até o final de março de 2020 e indicou que mais de 20% dos casos podem ser assintomáticos (KRONBICHLER *et al.*, 2020). Isso foi corroborado por um estudo de 2021 que estimou que 59% das transmissões analisadas se deram por pacientes assintomáticos (JOHANSSON *et al.*, 2021). Esta grande proporção de transmissão por pacientes com COVID-19 sem sintomas reflete na diferença nos números de casos e mortes entre SARS ou MERS e a COVID-19 (Tabela 1). Tomando o caso da SARS, o isolamento de infectados era eficiente, pois o pico da carga viral ocorria quando o paciente já estava sintomático e facilmente identificável; o mesmo não ocorre com a COVID-19, pois a transmissão já ocorre de forma comunitária devido à circulação de grande número de assintomáticos (WILDER-SMITH; CHIEW; LEE, 2020). O rastreio de pacientes assintomáticos é difícil, o que contribui para que muitos

circulem livremente e, por consequência, continuem a transmitir o vírus, principalmente em locais com pouca fiscalização do cumprimento de medidas sanitárias (CANDIDO *et al.*, 2020; CASTRO *et al.*, 2021). Dados da iniciativa *Our World in Data* mostram que, em 23 de novembro de 2021, a taxa de mortalidade acumulada por COVID-19 no mundo era de 656,02 mortes por milhão de pessoas; considerando apenas o Brasil, o número sobe para 2.864,88 mortes por milhão (RITCHIE *et al.*, 2020).

Tabela 1 – Comparação entre as doenças SARS, MERS e COVID-19 quanto ao período de ocorrência, número de casos e número de mortes.

Doença	Período	Número de casos	Número de mortes
SARS	Novembro de 2002 - junho de 2003	8.422 (CHAN-YEUNG; RUI-HENG, 2003)	916 (CHAN-YEUNG; RUI-HENG, 2003)
MERS	Junho de 2012 - atualidade	2.578 (WHO, 2021b)	888 (WHO, 2021b)
COVID-19	Novembro de 2019 - atualidade	270.031.622 em 14 de dezembro de 2021 (WHO, 2021d)	5.310.502 em 14 de dezembro de 2021 (WHO, 2021d)

Para além dos casos assintomáticos e dos previamente descritos nos primeiros casos em Wuhan, diferentes sintomas da COVID-19 foram identificados, incluindo fadiga, dor de cabeça, diarreia (HUANG *et al.*, 2020) e perda de olfato e de paladar (VAIRA *et al.*, 2020). A perda de olfato pode ser causada pela infecção de células do epitélio olfatório, como células sustentaculares, células das glândulas de Bowman e células tronco, uma vez que expressam determinados genes, como ACE2 e TMPRSS2, que são utilizados como receptores para a entrada viral (GUPTA *et al.*, 2021). Há a possibilidade de complicações em pacientes graves, como síndrome respiratória aguda grave, lesões cardíacas agudas, infecções secundárias (HUANG *et al.*, 2020), trombose (KLOK *et al.*, 2020), acidente vascular encefálico (AVE) e alteração do estado mental (VARATHARAJ *et al.*, 2020). Uma maneira de o SARS-CoV-2 atingir o sistema nervoso central pode ser por meio da mucosa olfatória (MEINHARDT *et al.*, 2021) e um estudo alertou que, além de danos como o AVE, a COVID-19 pode também deixar sequelas neurológicas de longo prazo, seja por alterações diretas, ou por aumentar a susceptibilidade ou agravar condições

neuroológicas pré-existentes (DE FELICE *et al.*, 2020). O mesmo trabalho pontua o papel da inflamação sistêmica no desenvolvimento destas sequelas e a necessidade de se realizar o acompanhamento de indivíduos curados da COVID-19. Este panorama ganha notoriedade principalmente ao se considerar que, em um estudo com 3.744 pacientes conduzido por Chou *et al.* (2021), 80% dos analisados tiveram manifestações neurológicas durante a hospitalização por COVID-19.

Estudos indicam que sintomas de falta de ar e fadiga podem se mostrar persistentes por pelo menos três meses após a infecção (CARFI; BERNABEI; LANDI, 2020; DAVIDO *et al.*, 2020; GOËRTZ *et al.*, 2020) e há relatos de outras consequências da COVID-19 como dificuldades para dormir, ansiedade e depressão (HUANG *et al.*, 2021). Pesquisadores em um estudo estadunidense acompanharam 73.435 pessoas recuperadas sem hospitalização e indicaram alterações respiratórias, neurológicas, mentais, metabólicas, cardiovasculares e gastrointestinais, além do aumento do uso de diversos medicamentos, incluindo analgésicos, antidepressivos, anti-hipertensivos, ansiolíticos e hipoglicemiantes (AL-ALY; XIE; BOWE, 2021). Publicada em outubro de 2021, uma revisão sistemática de 57 estudos envolvendo no total 250.351 sobreviventes da COVID-19 identificou que 54% dos indivíduos apresentavam pelo menos uma sequela pós-aguda de COVID-19 a longo prazo (PASC, do inglês *postacute sequelae of COVID-19*), sobretudo distúrbios respiratórios, neurológicos e de saúde mental (GROFF *et al.*, 2021). Este quadro prolongado, que tem afetado inclusive crianças (BUONSENSO *et al.*, 2021; LEWIS, 2021), foi chamado de COVID longa e pode definir uma possível síndrome pós-viral (PERRIN *et al.*, 2020), a qual também ocorre após a infecção por outros vírus, como por exemplo o Epstein-Barr (HOTCHIN *et al.*, 1989; DAVIDO *et al.*, 2020). Dados de outubro de 2021 do Escritório de Estatísticas Nacionais (*Office for National Statistics*), não publicados na literatura científica, indicam que mais de 1,1 milhão de pessoas no Reino Unido estariam passando por um quadro de COVID longa mesmo após 12 semanas desde a infecção, com sintomas que prejudicam seu bem-estar e capacidade para trabalhar (OFFICE FOR NATIONAL STATISTICS, 2021).

Existem também registros sobre a persistência de detecção de RNA viral mesmo em indivíduos já recuperados da doença (AVANZATO *et al.*, 2020; AYDILLO *et al.*, 2020; CHOI *et al.*, 2020; LAN *et al.*, 2020; LI; WANG; LV, 2020; LIU *et al.*, 2020; WEI, B. *et al.*, 2020; BAANG *et al.*, 2021), mas eventuais consequências desta detecção prolongada ainda são incertas (FERRARI *et al.*, 2021).

A COVID-19 atingiu proporções globais em curto espaço de tempo, culminando em uma pandemia oficialmente declarada pela OMS em 11 de março de 2020 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a). Uma reportagem com informações fornecidas pelo governo chinês noticiou que o primeiro caso de COVID-19 ocorreu quase quatro meses antes do início da pandemia, provavelmente no dia 17 de novembro de 2019 (MA, 2020). Este dado não foi publicado na literatura científica, mas é corroborado por uma análise de março de 2021 que definiu o intervalo entre outubro e novembro de 2019 como o período plausível para a origem do primeiro caso de infecção em humanos pelo SARS-CoV-2 na província de Hubei, na China (PEKAR *et al.*, 2021). Considerando o atual mundo globalizado, trata-se de uma pandemia sem precedentes, com notícias que chegam em tempo real e intensa cobertura pelas diferentes mídias, com destaque para a internet e redes sociais. A internet ajuda a difundir informações corretas e ampliar a divulgação científica, suprindo a população de conhecimento útil que auxilia na proteção e prevenção da doença. Entretanto, a superabundância de informações nas redes levou a OMS a alertar a população sobre a “infodemia” (da junção das palavras “informação” e “epidemia”) que dificulta a distinção entre o que é verossímil ou não (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020c). A disseminação de notícias e dados falsos na internet gera um grande fenômeno de desinformação que pode causar consequências desastrosas, como a adoção de protocolos - farmacológicos ou não - que não possuem respaldo científico para o tratamento ou prevenção da COVID-19 e o desincentivo ao uso de máscaras e ao isolamento social (VAN DER LINDEN; ROOZENBEEK; COMPTON, 2020).

Com a persistência da pandemia de COVID-19, diferentes estudos indicam a possibilidade de reinfeção pelo SARS-CoV-2, como relatado no Brasil (BONIFÁCIO *et al.*, 2020; NONAKA *et al.*, 2021;), Reino Unido (HARRINGTON *et al.*, 2021) e África do Sul (ZUCMAN *et al.*, 2021). Esta situação traz ainda mais atenção à imunidade da população infectada pelo SARS-CoV-2 em relação à produção de anticorpos (também chamados de imunoglobulinas), a qual tem sido alvo de diversos estudos em todo o mundo. Um estudo monitorou os anticorpos de 87 indivíduos recuperados da COVID-19 entre um e seis meses após a infecção pelo SARS-CoV-2 (GAEBLER *et al.*, 2021). Os resultados mostraram que, apesar de os anticorpos IgG e IgM contra a proteína viral Spike (S) terem diminuído consideravelmente durante o intervalo de tempo em questão, outros anticorpos, expressos por suas células B de memória, possuíam uma potência aumentada, indicando uma evolução contínua da resposta humoral

(GAEBLER *et al.*, 2021). Um estudo um pouco mais amplo, com amostras de 188 casos de COVID-19, corrobora a queda de anticorpos IgG e IgM e a melhora da resposta de células B de memória entre um e oito meses após a infecção (DAN *et al.*, 2021). Outro trabalho, publicado em maio de 2021, sugeriu que a resposta humoral contra o SARS-CoV-2 em indivíduos que contraíram a doença e tiveram sintomas leves permanece detectável por pelo menos 11 meses após a infecção (TURNER *et al.*, 2021).

Contudo, duas das razões atribuídas à possibilidade de reinfeção são a contínua transmissão comunitária e a exposição a variantes virais (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021a). A cada ciclo de replicação, o material genético viral está passível de sofrer mutações, originando variantes virais. Estima-se que o SARS-CoV-2 sofre uma alteração nucleotídica em seu material genético a cada 11 dias, aproximadamente (DUCHENE *et al.*, 2020). Caso essas mudanças proporcionem um aumento no valor adaptativo do vírus, elas irão se acumular ao longo de gerações e definir novas linhagens e cepas, clados genéticos que se diferem do vírus originalmente descrito. No caso do SARS-CoV-2, as mutações de maior interesse científico e relevância clínica têm sido aquelas que ocorrem no gene codificador de Spike, uma proteína está envolvida na infecção viral às células-alvo e, portanto, é um alvo essencial para a imunidade - natural ou induzida - ao vírus (LI *et al.*, 2020).

Para entrar nas células humanas, o SARS-CoV-2 utiliza como receptor a proteína ACE2 (do inglês *angiotensin-converting enzyme 2*, ou ECA2, enzima conversora de angiotensina 2) (LU *et al.*, 2020; ZHOU, P. *et al.*, 2020). A ACE2 é expressa principalmente nos pulmões, intestino, coração, vasos, rins, cérebro e mucosa oral (HAMMING *et al.*, 2004). A afinidade do SARS-CoV-2 pela ACE2 é cerca de 10 a 20 vezes maior do que a do SARS-CoV pelo mesmo receptor e isso pode ser um fator para a maior infectividade deste novo coronavírus (WRAPP *et al.*, 2020). Tal afinidade também foi corroborada por outros estudos, que elucidaram diferenças estruturais na proteína Spike do SARS-CoV-2 em relação à do SARS-CoV (COSTA *et al.*, 2020; SHANG *et al.*, 2020; WALLS *et al.*, 2020).

Primeiramente, o SARS-CoV-2 se aproxima da célula que expressa ACE2 em sua superfície. Depois, a proteína Spike, ancorada no envelope viral, sofre clivagem por TMPRSS2, uma serina protease (serina protease transmembranar 2), revelando as subunidades S1 e S2 de Spike (HOFFMANN *et al.*, 2020). Por conter o domínio de

ligação ao receptor, S1 se liga em ACE2, enquanto S2 sofre uma mudança conformacional que expõe um peptídeo de fusão, permitindo a fusão da membrana viral com a da célula-hospedeira e a consequente entrada do material genético e replicação (Figura 1). Posto isto, o SARS-CoV-2 depende da co-expressão de ACE2 e TMPRSS2 para a entrada nas células e isto ocorre em pneumócitos tipo II, enterócitos e células caliciformes nasais (ZIEGLER *et al.*, 2020), o que pode ajudar a explicar a prevalência de sintomas respiratórios e gastrointestinais. Ainda, outros fatores podem estar envolvidos na infecção viral, como as proteínas neuropilina-1 (CANTUTI-CASTELVETRI *et al.*, 2020; DALY *et al.*, 2020), Rab10 (*Ras-related protein Rab-10*) (SCHNEIDER *et al.*, 2021), DPP4 (dipeptidil peptidase 4) (SOLERTE *et al.*, 2020) e HSP90AA1 (*heat shock protein HSP 90-alpha*) (WYLER *et al.*, 2021), o colesterol e reguladores (GORDON *et al.*, 2020; HOFFMANN *et al.*, 2021; SCHNEIDER *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2021) e as proteínas transmembranares TMEM106B (WANG *et al.*, 2021) e TMEM41B (SCHNEIDER *et al.*, 2021).

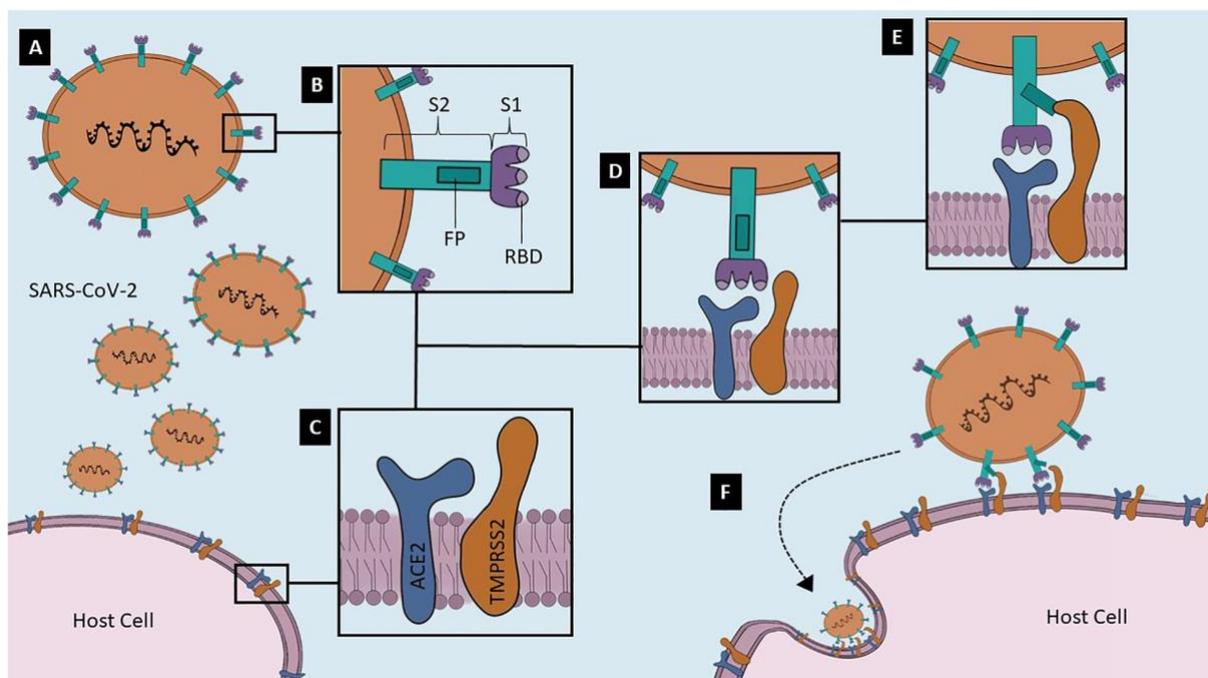


Figura 1 – Mecanismo da entrada do SARS-CoV-2 nas células humanas por meio da ligação da proteína Spike em ACE2. A) Vírus se aproxima de células que expressam em sua superfície proteínas que serão utilizadas como receptores. B) Enfoque na proteína viral Spike, constituída pela subunidade S1, que contém o domínio de ligação ao receptor, e pela subunidade S2 que abriga o peptídeo de fusão. C) Enfoque em ACE2 e TMPRSS2, proteínas humanas utilizadas pelo vírus para a infecção. D) ACE2 é utilizada pelo vírus como receptor. E) O domínio de ligação ao receptor contido em S1 se liga em ACE2 e TMPRSS2 cliva S2, expondo o peptídeo de fusão do vírus. F) Ocorrência da entrada do vírus na célula hospedeira por endocitose. Fonte: Retirado de COSTA *et al.*, 2020 - *Frontiers in Cell and Developmental Biology*.

Existem registros de diferentes mutações na proteína Spike. A variante viral com a substituição D614G (substituição de um resíduo do aminoácido ácido aspártico por uma glicina na posição 614), por exemplo, provavelmente surgiu na China em janeiro de 2020 (MARTIN; VANISBERGHE; KOELLE, 2021) e se tornou a forma dominante na pandemia (KORBER *et al.*, 2020; PLANTE *et al.*, 2021), sendo mais infecciosa do que o vírus originalmente sequenciado (YURKOVETSKI *et al.*, 2020).

Em algumas localidades, mutações originaram outras variantes virais, como a variante B.1.1.7 identificada primeiramente no Reino Unido (PUBLIC HEALTH ENGLAND, 2020; RAMBAUT *et al.*, 2020; GRAHAM *et al.*, 2021), a B.1.351 na África do Sul (KARIM; OLIVEIRA, 2021), P.1 e P.2 no Brasil (FARIA *et al.*, 2021; SABINO *et al.*, 2021; VOLOCH *et al.*, 2021) e B.1.617.1 e B.1.617.2 na Índia (CHERIAN *et al.*, 2021; VAIDYANATHAN, 2021) (Figura 2). Em maio de 2021, a OMS divulgou uma nova nomenclatura para as variantes a ser utilizada para o público geral, para evitar referências que podem ser discriminatórias e estigmatizantes aos países que primeiro detectaram cada variante (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021e). Utilizando letras do alfabeto grego, as variantes B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.1 e B.1.617.2 podem ser denominadas, respectivamente, como Alfa, Beta, Gama, Kappa e Delta. A OMS destaca que a nomenclatura baseada na linhagem (PANGO, *Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages*) pode continuar a ser utilizada no âmbito científico.

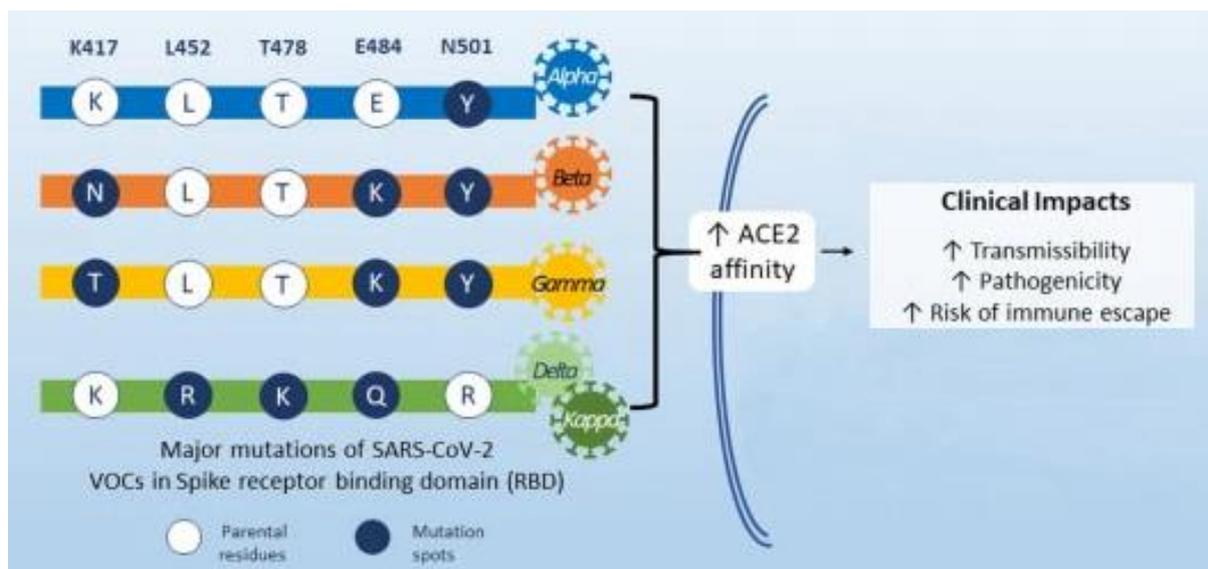


Figura 2 – Substituições de resíduos de aminoácidos presentes nas variantes B.1.1.7 (Alfa), B.1.351 (Beta), P.1 (Gama), B.1.617.1 (Kappa) e B.1.617.2 (Delta) do SARS-CoV-2. Os resíduos de aminoácidos indicados em um círculo preenchido com a cor branca estão também presentes no genoma do vírus originalmente sequenciado, enquanto aqueles ilustrados em um círculo preenchido

com a cor azul são substituições em relação à sequência original. À direita, estão listados impactos clínicos de uma maior afinidade por ACE2 propiciada por essas mutações, como aumento na transmissibilidade, patogenicidade e risco de escape da resposta imune. Fonte: Adaptado de KHATEEB; LI; ZHANG, 2021 - Critical Care.

A substituição E484K (substituição de um resíduo do aminoácido ácido glutâmico por uma lisina na posição 484) está presente nas variantes B.1.351 e P.1 e pode facilitar a evasão viral perante imunoglobulinas neutralizantes e aumentar o risco de reinfecção (NELSON *et al.*, 2021). Já a substituição N501Y (substituição de um resíduo do aminoácido asparagina por uma tirosina na posição 501) é comum às variantes B.1.1.7, B.1.351 e P1 (KARIM; OLIVEIRA, 2021) e pode aumentar a força de interação entre o domínio de ligação ao receptor (RBD) da proteína S e ACE2, conforme sugere um estudo brasileiro (SANTOS; PASSOS, 2021). A variante B.1.617, por sua vez, carrega mutações diferentes, sendo elas: E484Q (substituição de um resíduo do aminoácido ácido glutâmico por uma glutamina na posição 484), L452R (substituição de um resíduo do aminoácido leucina por uma arginina na posição 452) e T478K (substituição de um resíduo do aminoácido treonina por uma lisina na posição 478). As mutações de B.1.617 também podem aumentar a força de ligação entre S e ACE2 e, assim, aumentar sua transmissibilidade (CHERIAN *et al.*, 2021; DENG *et al.*, 2021). De fato, um artigo ainda não revisado por pares (*pre-print*) sugere que a variante B.1.617 (Delta) leva a uma maior carga viral e possui um tempo de incubação mais curto, facilitando a sua transmissibilidade (LI, B. *et al.*, 2021).

A proteína ACE2 utilizada como receptor pelo vírus foi descrita por dois grupos independentes como sendo uma carboxipeptidase envolvida no sistema renina-angiotensina (SRA), essencial para a regulação cardiovascular (DONOGHUE *et al.*, 2000; TIPNIS *et al.*, 2000). Nos eventos do SRA, primeiramente, uma molécula de angiotensinogênio sofre a ação da enzima renina que a converte em angiotensina I (Agl). Por sua vez, duas enzimas podem atuar sob angiotensina I: ACE e ACE2. Embora possuam grandes semelhanças estruturais, elas possuem sítios enzimáticos diferentes: ACE, uma dipeptidilcarboxipeptidase, remove dois aminoácidos de AgI, originando uma molécula de angiotensina II (AgII), enquanto ACE2 remove um único aminoácido de AgI, resultando em angiotensina-(1,9). Ainda, ACE2 pode agir novamente, desta vez sob AgII, realizando uma hidrólise sobre o aminoácido C-terminal, o que origina angiotensina-(1,7).

O primeiro estudo *in vivo* sobre a ação cardiovascular de Ag-(1,7) foi publicado em 1989, apresentando um efeito hipotensivo em ratos (CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1989). Depois, Ag-(1,7) foi descrita como um peptídeo cardioprotetor (FERREIRA; SANTOS; ALMEIDA, 2001) e anti-inflamatório (DA SILVEIRA *et al.*, 2010), antagonizando os efeitos de AgII em um mecanismo contrarregulatório (CLARKE *et al.*, 2013). A ACE2 já foi relacionada à proteção contra falência pulmonar (IMAI *et al.*, 2005), inclusive em quadros causados pela influenza A aviária H5N1 (ZOU *et al.*, 2014) e pelo vírus sincicial respiratório (GU *et al.*, 2016). Por outro lado, alguns estudos sugerem que a ligação da proteína S do SARS-CoV-2 muito provavelmente diminui a expressão de ACE2, o que pode reduzir a formação de Ag-(1,7) e aumentar a inflamação, conforme revisado por Zhang, H. *et al.* (2020).

A inflamação possui papel importante na COVID-19 e se relaciona com a imunopatologia da doença por meio da hipercitocinemia, conhecida como “tempestade de citocinas”. Trata-se de uma liberação generalizada de citocinas pró-inflamatórias visando a combater o agente invasor, mas que, quando desbalanceada, pode causar danos (BLAGOSKLONNY, 2020). Em geral, os pacientes com COVID-19 possuem altos níveis de citocinas, além de quimiocinas pró-inflamatórias, interleucinas e outros marcadores, tais como lactato desidrogenase, proteína C-reativa, ferritina e d-dímero, os quais também são efetores da imunidade inata (BLANCO-MELO *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2020; YANG, Y. *et al.*, 2020). Além da hipercitocinemia e hiperinflamação, pacientes com formas graves da doença, geralmente, apresentam síndrome respiratória aguda grave (YE; WANG; MAO, 2020).

Desregulações da resposta imune durante a tentativa do organismo de contenção do vírus podem levar a uma persistência do processo inflamatório, sobretudo com presença de infiltrado de neutrófilos (VARDHANA; WOLCHOK, 2020). Este quadro pode agravar a síndrome respiratória aguda grave e causar inflamação sistêmica, hipercoagulação e suas conseqüentes lesões, inclusive em órgãos mais distantes, como os rins (BLAGOSKLONNY, 2020; MAUVAIS-JARVIS, 2020). Um artigo em *pre-print*, realizado por brasileiros, sugere que a hiperinflamação pode estar associada ao aumento de mediadores lipídicos e de acetilcolina e à diminuição da expressão das glicoproteínas CD14 e CD36 em monócitos (PÉREZ *et al.*, 2021). Com o avanço da hipercitocinemia, pode-se atingir a exaustão celular, manifestada pela diminuição da resposta imune adaptativa e conseqüente linfopenia (QIN, Chuan *et*

al., 2020; TAN *et al.*, 2020). Alguns mecanismos sugeridos para essa queda na contagem de linfócitos são a infecção direta do SARS-CoV-2 a linfócitos T CD4+ (DAVANZO *et al.*, 2020), a participação da prostaglandina D2 (GUPTA; CHIANG, 2020) e a produção deficiente de interferons (ACHARYA; LIU; GACK, 2020). Posto isto, um trabalho frisou a importância da expressão de ACE2 e dos efeitos protetores de Ag-(1,7) nos pulmões no contexto da COVID-19 (BONAFÈ *et al.*, 2020): indivíduos que podem possuir ACE2 com expressão diminuída, como aqueles com idade avançada, diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares (VERDECCHIA *et al.*, 2020; LIO *et al.*, 2021), convivem com níveis mais altos de angiotensina II e, dadas as propriedades pró-inflamatórias desta proteína, estão mais propensos a gerar respostas imunes exacerbadas, o que deve ser um fator de atenção na COVID-19.

Quanto à epidemiologia, exemplificamos a SARS: durante o surto da doença, houve cerca de 916 mortes, principalmente de pessoas com idade avançada e doenças associadas, tais como diabetes, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares (DONNELLY *et al.*, 2004). Trata-se de um cenário com grande semelhança com o caso da COVID-19, cujas principais vítimas são pessoas idosas e indivíduos com comorbidades.

Dentre as comorbidades, diabetes, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e obesidade são consideradas as principais para a COVID-19 (ZHOU, F. *et al.*, 2020); outras também foram relatadas, como doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, cânceres, soropositividade para o HIV e doenças renais (EJAZ *et al.*, 2020). Trata-se de condições que, associadas à COVID-19, podem aumentar o risco de agravamento do caso, conforme será abordado na Discussão do presente trabalho. Um estudo demonstrou que pacientes diabéticos com COVID-19 possuem maior risco de serem internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e possuem maiores taxas de letalidade quando comparados com pacientes não-diabéticos (RONCON *et al.*, 2020). Em um estudo envolvendo meta-análise, a hipertensão foi apontada como a condição cardiovascular mais comum a aumentar o risco de letalidade em pacientes da COVID-19 (ZUIN *et al.*, 2020). Também, um estudo baseado nos dados de quase 400 mil pacientes da COVID-19 relatou que obesos possuem risco de morte 48% maior do que não-obesos (POPKIN *et al.*, 2020).

Com o avanço da pandemia, casos entre adultos com menos de 50 anos aumentaram em diferentes países, a exemplo dos Estados Unidos, onde o número de pessoas entre 18 e 49 anos hospitalizadas por COVID-19 passou de 374 em 19

de setembro de 2020 para 1.382 em 12 de dezembro de 2020 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021b). Um estudo avaliou que, dentre 3.222 indivíduos com idade entre 18 e 34 anos internados com COVID-19 nos meses de abril e junho de 2020, as principais comorbidades foram obesidade, asma, hipertensão, tabagismo e diabetes (CUNNINGHAM *et al.*, 2020). Uma possível razão para o aumento do número de casos entre jovens é a emergência de variantes virais mais transmissíveis (KIDD, *et al.*, 2021; TAYLOR, 2021), tais como B.1.1.7, B.1.351, B.1.617, P.1 e P.2, citadas anteriormente. Por exemplo, foi estimado que a variante B.1.1.7 seja entre 30% e 80% mais transmissível (MASCOLA; GRAHAM; FAUCI, 2021) e a mutação D614G foi associada a uma maior carga viral e maior incidência em pacientes mais jovens (VOLZ *et al.*, 2021). Tomando ainda o cenário dos Estados Unidos, podemos analisar o número e porcentagem de casos e mortes por COVID-19 de acordo com a idade até 14 de dezembro de 2021 (Tabela 2).

Tabela 2 – Número e porcentagem de casos e mortes por COVID-19 de acordo com a idade nos Estados Unidos até 14 de dezembro de 2021. Fonte: Centers for Disease Control and Prevention, 2021c.

Grupos de idades	Porcentagem da população estadunidense	Número e porcentagem de casos por idade	Número e porcentagem de mortes por idade
Entre 0 e 4 anos	6%	1.091.945 (2,7%)	314 (<0,1%)
Entre 5 e 11 anos	8,7%	2.417.942 (5,9%)	211 (<0,1%)
Entre 12 e 15 anos	5,1%	1.799.562 (4,4%)	239 (<0,1%)
Entre 16 e 17 anos	2,5%	1.122.359 (2,7%)	233 (<0,1%)
Entre 18 e 29 anos	16,4%	8.765.324 (21,4%)	4.946 (0,7%)
Entre 30 e 39 anos	13,5%	6.787.872 (16,6%)	11.486 (1,7%)
Entre 40 e 49 anos	12,3%	5.905.875 (14,4%)	26.198 (3,9%)
Entre 50 e 64 anos	19,2%	7.812.590 (19,1%)	116.446 (17,2%)
Entre 65 e 74 anos	9,6%	2.914.212 (7,1%)	148.322 (21,9%)
Entre 75 e 84 anos	4,9%	1.471.414 (3,6%)	176.733 (26,2%)
Acima de 85 anos	2%	782.434 (1,9%)	190.689 (28,2%)
		Total de casos: 40.871.530	Total de mortes: 675.817

Como podemos observar, de um total de 40.871.530 casos, a maior parcela (21,4%) ocorreu em pessoas com idade entre 18 e 29 anos; todavia, apesar de os mais jovens representarem o maior número de casos, os idosos, em especial aqueles com mais de 85 anos, permaneceram com as maiores taxas de letalidade (CENTERS

FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021c). De fato, indivíduos com idade entre 65 e 74 anos possuem um risco de óbito 90 vezes maior do que o grupo controle que compreende pessoas entre 18 e 29 anos; para idosos na faixa de 75 e 84 e acima de 85 anos, esse risco é 220 e 630 vezes maior, respectivamente (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2020). Uma revisão de março de 2021 corroborou o fato de que crianças e jovens de até 19 anos permaneceram entre os menos afetados pela COVID-19 até então (BHOPAL *et al.*, 2021). Considerando o cenário alarmante para os idosos, este grupo foi priorizado e, ainda utilizando dados dos Estados Unidos, 87,2% da população com mais de 65 anos havia sido completamente imunizada em 14 de dezembro de 2021 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021d).

Acredita-se que a idade seja o principal preditor da severidade do quadro de COVID-19 (LAUC; SINCLAIR, 2020). Como exemplo, tomamos um caso da Itália: uma análise trabalhou com um número de mortes de cerca de 63 mil pacientes da doença. A média de idade das vítimas da doença era 80 anos, apenas 1,2% tinham menos de 50 anos e quase 60% das mortes ocorreram em indivíduos do sexo masculino (ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ, 2020). Informações oficiais sobre a situação no Brasil são de acesso mais difícil, principalmente para dados discriminados entre idade ou sexo biológico, mas uma nota técnica publicada pelo Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) em maio de 2021 indica que, comparando de maneira proporcional à faixa etária e sexo em cada país, o Brasil registrou mais mortes por COVID-19 em 2020 do que 94,9% dos outros 178 países com dados compilados pela OMS (HECKSHER, 2021).

Em revisão de literatura, Blagosklonny (2010) aponta que pessoas do sexo masculino envelhecem mais rápido e vivem menos que as do sexo feminino. Tal conclusão baseia-se, principalmente, em um trabalho de 2006 que mostra que, à época, 90% de todas as pessoas no mundo com mais de 110 anos eram do sexo biológico feminino e que, historicamente, taxas de expectativa de vida tendem a ser maiores para este sexo (AUSTAD, 2006). Outra revisão, de 2017, corrobora tais informações, ao passo em que analisa dados demográficos da Itália que evidenciam a prevalência de centenárias (MONTESANTO *et al.*, 2017).

Nesse sentido, as taxas de letalidade para a COVID-19 apresentam um viés de sexo biológico e o mesmo ocorreu nas epidemias de SARS e MERS (KARLBERG; CHONG; LAI, 2004; LEONG *et al.*, 2006; ALGHAMDI *et al.*, 2014). A literatura ainda

carece de números totais de COVID-19 discriminados entre sexo biológico (CHAMEKH; CASIMIR, 2020; O'GRADY, 2021), mas, consideremos de novo um exemplo da Itália: um estudo analisou 1.591 pacientes internados na UTI entre fevereiro e março de 2020 e indicou que 82% deles eram do sexo masculino (GRASSELLI *et al.*, 2020). Outro artigo italiano tomou uma amostra de 355 pacientes que vieram a óbito, dos quais 70% eram do sexo masculino (ONDER; REZZA; BRUSAFERRO, 2020). Mesmo em diferentes países e números de amostras, outras análises também do início da disseminação da doença mantêm a ênfase em indivíduos do sexo masculino mais velhos e com comorbidades (JIN *et al.*, 2020; MENG *et al.*, 2020; RICHARDSON *et al.*, 2020; ZHOU, F. *et al.*, 2020), conforme mostrado na Tabela 3. Análises da iniciativa *Global Health 50/50* em novembro de 2021 indicaram que, a cada 10 mortes de pacientes do sexo feminino por COVID-19, ocorrem 14 de pacientes masculinos (GLOBAL HEALTH 5050, 2021).

Tabela 3 – Taxas de letalidade em indivíduos do sexo masculino para a COVID-19, descritas entre janeiro e abril de 2020 na China e nos Estados Unidos.

Referência	Período abrangido	Número de casos analisados	Número de vítimas do sexo masculino em relação ao total de mortes	Média da idade dos pacientes do sexo masculino	Localidade
JIN <i>et al.</i> , 2020	Janeiro e fevereiro de 2020	1.056	26/37 (70,3%)	59 anos	China
MENG <i>et al.</i> , 2020	Janeiro e fevereiro de 2020	168	11/17 (64,7%)	56,9 anos	China
RICHARDSON <i>et al.</i> , 2020	Março e abril de 2020	2.634	334/550 (60,7%)	63 anos	Estados Unidos
ZHOU, F. <i>et al.</i> , 2020	Janeiro de 2020	191	38/54 (70%)	56 anos	China

Em relação ao sexo feminino, um estudo mostra que indivíduos do sexo masculino apresentam uma resposta de células T menos robusta entre 25 e 35 anos (HEWAGAMA *et al.*, 2009). Há indicativos de uma menor produção de interferons do tipo I em um grupo de adultos com idade média de 33 anos (BERGHÖFER *et al.*, 2006) e na puberdade (WEBB *et al.*, 2019). Ainda, níveis mais altos de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias ocorrem em indivíduos do sexo masculino adultos, o que pode favorecer lesões causadas pela COVID-19 (TAKAHASHI *et al.*, 2020). Um estudo propõe que essas diferenças entre a resposta imune nos dois sexos biológicos

estejam associadas a mecanismos de compensação de dose em genes de resposta imune ligados ao cromossomo X e à diferença de concentração de hormônios esteroides (KLEIN; FLANAGAN, 2016; WEBB *et al.*, 2019). Outros autores sugerem que baixas concentrações de testosterona podem se relacionar com a inflamação observada nos pacientes com quadros mais graves de COVID-19 (DHINDSA *et al.*, 2021; SALONIA *et al.*, 2021) e que variantes alélicas do gene TLR7 (*toll-like receptor 7*), localizado no cromossomo X, podem estar associadas a respostas fracas de interferons tipo I e II no sexo masculino (VAN DER MADE *et al.*, 2020). Mais recentemente, um trabalho de outubro de 2021 analisou 68 gestantes que contraíram a COVID-19 e identificou que aquelas que geravam fetos do sexo masculino produziram menos anticorpos contra o SARS-CoV-2 e, por consequência, transferiram menos anticorpos ao feto – o que poderia tornar os indivíduos do sexo masculino mais vulneráveis à COVID-19 após o nascimento (BORDT *et al.*, 2021). Houve diferenças também na expressão de genes estimulados por interferons e na resposta inflamatória, tendo sido maior nos fetos masculinos em relação aos femininos (BORDT *et al.*, 2021).

O envelhecimento é um processo natural, gradual e contínuo, caracterizado pela progressão do tempo que culmina na diminuição de diferentes funções biológicas. Um estudo compilou informações acerca das alterações celulares e moleculares comuns no processo de envelhecimento animal, com ênfase em mamíferos, tendo sido caracterizadas nove marcas: alteração da comunicação intercelular, desregulação da sensibilidade a nutrientes, instabilidade genômica, desgaste dos telômeros, perda da homeostase proteica, alterações epigenéticas, disfunções mitocondriais, senescência celular e exaustão de células tronco (LÓPEZ-OTÍN *et al.*, 2013). A inflamação aparece como uma das principais formas de alteração da comunicação intercelular associada ao avanço da idade. Com o passar do tempo de vida, ocorre o desenvolvimento de uma inflamação subclínica crônica que, no caso de humanos, é maior no sexo masculino (BONAFÈ *et al.*, 2001). Especificamente no caso da COVID-19, este quadro pode amplificar a inflamação causada pela infecção, levando à tempestade de citocinas (AKBAR; GILROY, 2020).

O sistema imune também está sujeito ao envelhecimento, um processo denominado imunosenescência. Algumas características como a diminuição da resposta adaptativa e menor produção de interferons (CARUSO *et al.*, 2009; KOVACS *et al.*, 2017; MONTGOMERY, 2017) relacionam-se com a dificuldade dos mais velhos

em lutar contra infecções, já que sua resposta antiviral é comprometida pela idade (DIAO *et al.*, 2020). Além disso, indivíduos com mais de 60 anos, em especial, exibem um perfil de inflamação sistêmica crônica de baixo grau, conhecido como "inflammaging", da união dos termos em inglês referentes a inflamação e envelhecimento, respectivamente: *inflammation* e *aging* (FRANCESCHI *et al.*, 2000). Caracteristicamente, indivíduos desta faixa de idade possuem concentrações de proteína C reativa, de IL-6, de IL-8 e de TNF- α acima dos níveis médios esperados para a população humana. A *inflammaging* pode ser resultado dos fatores a seguir, isolados ou combinados: (i) acúmulo de proteínas envelhecidas incorretamente, (ii) acúmulo de células senescentes, (iii) estimulação contínua de células do sistema imune inato (FRANCESCHI *et al.*, 2017). Existem hipóteses de que, na *inflammaging*, a resposta imune inata se sobrepõe à resposta adaptativa (BLAGOSKLONNY, 2020), o que parece estar de acordo com o observado em pacientes idosos com casos graves de COVID-19: células senescentes secretam citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento pró-inflamatórios, o que é conhecido como fenótipo secretório associado à senescência (do inglês SASP, *senescence-associated secretory phenotype*). Tais células podem estar presentes nos pulmões durante o envelhecimento e se envolver com o início da cascata de inflamação característica dos casos graves de COVID-19 (AKBAR; GILROY, 2020).

A inflamação crônica também está presente nos quadros de obesidade, diabetes e hipertensão e, uma vez que o ambiente inflamatório de tais condições pode permitir a intensificação da tempestade de citocinas, estas doenças são principais comorbidades associadas à COVID-19 (KORAKAS *et al.*, 2020; MAUVAIS-JARVIS, 2020; POPKIN *et al.*, 2020). Trata-se de doenças, em geral, bastante ligadas ao envelhecimento e, por isso, alguns autores defendem que não existe uma certeza se elas contribuem específica e diretamente para a patogênese da COVID-19 ou se são, primariamente, apenas indicadores da idade biológica (MUELLER; MCNAMARA; SINCLAIR, 2020). Foi desenvolvida uma ferramenta, o "relógio da inflamação", capaz de identificar multimorbidades e avaliar processos de imunosenescência, envelhecimento cardiovascular e longevidade, tendo como base marcadores de inflamação sistêmica (SAYED *et al.*, 2021).

Uma análise indicou que a inflamação em crianças infectadas pelo SARS-CoV-2 se dava apenas por um aumento moderado de IL-6, IL-17 e IL-22 (XU *et al.*, 2020), diferindo da inflamação crônica e acima dos níveis médios que ocorre nos indivíduos

dos grupos de risco melhor definidos. Outra observação curiosa sobre este grupo foi feita por um estudo que analisou a resposta imune de três crianças que viviam em casa com seus pais, os quais foram diagnosticados com COVID-19 (TOSIF *et al.*, 2020). As três crianças foram testadas para a infecção repetidas vezes, mas todos os resultados foram negativos; todavia, as três desenvolveram anticorpos contra o SARS-CoV-2 e os autores sugeriram que o sistema imune de crianças parece ser robusto o bastante de forma a controlar a replicação do vírus, o qual se mantém em níveis baixos e insuficientes para detecção em testes diagnósticos (NOGRADY, 2020; TOSIF *et al.*, 2020). Sendo assim, a regulação do sistema imune se mostra um elemento-chave na resposta à COVID-19: um estudo conduzido em 113 pacientes com sintomas moderados ou severos identificou uma resposta imune falha e desbalanceada nestes casos (LUCAS *et al.*, 2020).

Existe um grande interesse em se conseguir determinar preditores para a severidade do caso de COVID-19, justamente para tentar manejar os quadros clínicos de maneira mais eficiente e determinar alvos farmacológicos, visando à sobrevivência do paciente (CARUSO *et al.*, 2021). Por isso, diversos estudos têm descrito marcadores, como níveis plasmáticos de albumina, creatinina, d-dímero, IL-18, IL-6, lactato desidrogenase, mioglobina, proteína C-reativa e troponina cardíaca (KERMALI *et al.*, 2020; RUAN *et al.*, 2020; ZHOU, F. *et al.*, 2020; LI, X. *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2021). Um outro estudo sugeriu também o índice de melatonina como um possível biomarcador em assintomáticos (FERNANDES *et al.*, 2021).

Pesquisadores por todo o mundo procuram por assinaturas mais amplas, que propiciem uma visão integral da COVID-19. Nesse sentido, análises de ontologia genética permitem a interpretação funcional da expressão de genes e de proteínas num dado contexto, isto é, a atribuição de significado biológico a grupos de genes co-expressos, super-representados (significativamente enriquecidos) e associados a um determinado processo biológico (ASHBURNER *et al.*, 2000; THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM, 2019). Já foram feitas análises de enriquecimento utilizando ontologia genética para o estudo da COVID-19; por exemplo, o trabalho de Di *et al.* (2020) obteve os seguintes termos enriquecidos: resposta inflamatória aguda, ativação de neutrófilos e ativação da resposta imune inata. Por sua vez, os resultados de Bojkova *et al.* (2020) destacam uma grande participação de vias metabólicas de ácidos nucleicos.

O presente estudo procurou rever o histórico da COVID-19 e conciliar as informações para contribuir com uma visão mais global da doença, mas em especial sob uma abordagem imunogenética. Por isso, optamos por fazer buscas por estudos em larga escala, como proteomas e transcriptomas, a fim de encontrar assinaturas moleculares e processos biológicos enriquecidos em relação à COVID-19, bem como potenciais relações com o envelhecimento e comorbidades. Por meio de nossa revisão, conseguimos reuni-los e indicar processos que devem ser alvo de atenção da ciência para a contínua compreensão da COVID-19.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho possui como objetivo geral realizar uma revisão bibliográfica acerca do histórico da COVID-19, com enfoque em sua genética e imunopatologia. Com o intuito de ampliar a presente revisão, os objetivos específicos são: (i) levantar, compilar e organizar dados de artigos científicos que descreveram genes/proteínas com expressão alterada em indivíduos com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos; (ii) realizar uma análise funcional baseada em ontologia genética, para determinar processos biológicos envolvidos na manifestação e progressão da COVID-19.

3 METODOLOGIA

3.1 Levantamento bibliográfico

Para o levantamento bibliográfico, foram feitas buscas nas bases de dados Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br/?hl=pt>) e PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), visando a identificar e selecionar a literatura científica relevante para o desenvolvimento do presente trabalho. Dessa forma, foram feitas combinações das palavras-chave relacionadas com a doença e seu agente causador, envelhecimento e abordagens metodológicas em larga escala para a análise gênica e proteica: “coronavirus”, “COVID-19”, “gene”, “genetic”, “genetics”, “protein”, “proteome”, “proteomic”, “proteomics”, “RNA-Seq”, “SARS-CoV-2”,

“transcriptome”, “transcriptomic” e “transcriptomics”.

A coletânea inicial contabilizou 103 artigos, os quais foram lidos e reduzidos a 97. Os artigos excluídos não atendiam ao critério de real compatibilidade com o tema, pois tratavam de assuntos como, por exemplo, influência da dieta no envelhecimento e aspectos sociais do envelhecimento. Os artigos incluídos foram utilizados para a compreensão do tema, a revisão bibliográfica, o levantamento de genes envolvidos na COVID-19 e a Discussão. Com o avançar do trabalho, novas buscas foram feitas na literatura, a fim de se encontrar suporte científico para a interpretação de nossos achados, chegando assim ao total de 350 estudos consultados (Figura 3).

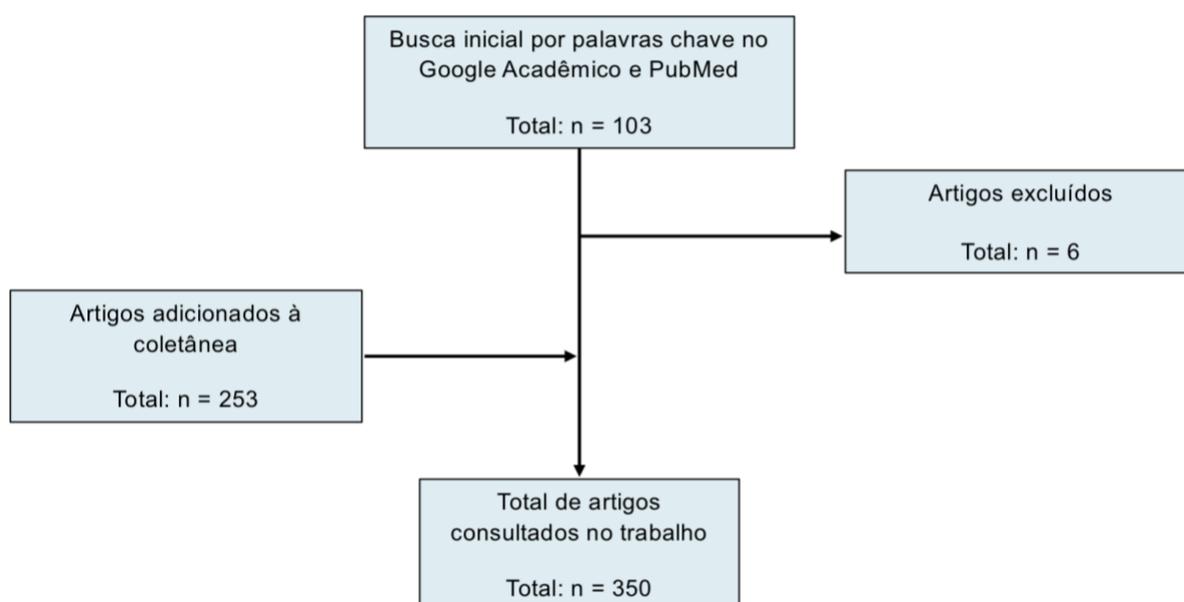


Figura 3 – Fluxograma do levantamento bibliográfico.

3.2 Levantamento de genes/proteínas associados à COVID-19

A partir da leitura dos artigos selecionados, foi possível encontrar estudos de proteômica e transcriptômica que analisaram o perfil de expressão gênica ou proteica em pacientes com COVID-19. No geral, observamos que as metodologias são muito distintas e em apenas seis trabalhos encontramos uma certa uniformidade de amostragem e de técnicas moleculares que nos permitisse avançar para a etapa seguinte, que envolve uma abordagem de ontologia genética. O presente trabalho conciliou as informações sobre os critérios para a classificação da severidade dos

casos, de acordo com os seis diferentes trabalhos, e os organizou na Tabela 4. Estes trabalhos fizeram a análise em pacientes com casos severos e não-severos durante a fase aguda da COVID-19. Os casos não-severos incluem os quadros leves e moderados, enquanto os severos compreendem os casos graves e críticos.

Tabela 4 – Compilado dos critérios utilizados pelos seis trabalhos selecionados para a classificação da severidade dos casos de COVID-19.

Classificação da severidade dos casos de COVID-19		Crítérios clínicos para a classificação
Casos não-severos	Casos leves	Pacientes hospitalizados em ambulatório sem intervenções respiratórias e sem pneumonia
	Casos moderados	Pacientes hospitalizados em ambulatório com sintomas respiratórios e pneumonia, candidatos a oxigenoterapia por cateter nasal
Casos severos	Casos graves	Pacientes em estresse respiratório, saturação sanguínea $\leq 93\%$ em repouso, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2^1 \leq 300$ mmHg, frequentemente fazendo uso de ventilação não-invasiva ou oxigenoterapia por cateter nasal de alto fluxo
	Casos críticos	Pacientes com falência respiratória, choque e, possivelmente, falência de outros órgãos, necessitando de ventilação mecânica invasiva e monitoramento em UTI

Os genes (apenas os expressos como mRNAs e, portanto, codificadores de proteínas) e as proteínas descritos em cada artigo como tendo expressão alterada foram reunidos, gerando duas listas diferentes: genes/proteínas em *upregulation* (com expressão aumentada) e genes/proteínas em *downregulation* (com expressão diminuída) em pacientes com casos severos, sempre em relação aos casos não-severos, e este será o referencial utilizado em todo o trabalho.

¹ $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$: relação entre a pressão parcial de oxigênio arterial e a fração inspirada de oxigênio, utilizada para determinar o índice de oxigenação do paciente e classificar a severidade da síndrome do desconforto respiratório aguda.

3.3 Análise de ontologia genética via enriquecimento funcional

Para ambas as listas de genes/proteínas em *up* e em *downregulation*, dados foram removidos quando reportados nos resultados de mais de um artigo (redundância). Após a retirada dos dados redundantes, serviram como entrada nos programas de análises de enriquecimento funcional baseadas em ontologia genética (Gene Ontology - <http://geneontology.org/>).

Foram escolhidos três programas disponíveis *online*: g:GOST (<http://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>) (RAUDVERE *et al.*, 2019), GO Term Finder (<https://go.princeton.edu/cgi-bin/GOTermFinder>) (BOYLE *et al.*, 2004) e ShinyGO (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>) (GE; JUNG; YAO, 2020). Como configurações, para todos os programas selecionamos a ontologia de "processo biológico", significância < 0,05 e demais opções mantidas no padrão (*default*). Quanto à espécie, escolhemos, nos três programas, respectivamente: "*Homo sapiens* (Human)"; "GOA - *H. sapiens* (Human)"; "Human".

Cada programa gerou uma lista de resultados para cada uma das duas listas. Então, em todos os casos, selecionamos os 30 primeiros resultados (termos), sendo eles os que agruparam um maior número de genes por termo e, necessariamente, com significância estatística e os menores p valor ajustado, p valor corrigido e FDR (*False Discovery Rate*) para g:GOST, GO Term Finder e ShinyGO, respectivamente.

Os 30 resultados selecionados de cada programa para cada uma das duas listas foram comparados entre si em busca dos termos de ontologia que se repetiam, ou seja, obrigatoriamente comuns aos resultados dos três programas. Como forma de confirmação, foi utilizada a ferramenta Venny (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) (OLIVEROS, 2015) para verificar se, de fato, foram selecionados os termos em comum entre os três programas. O Venny também foi utilizado para ilustrar a sobreposição dos termos que apareceram em ambas as listas, além de indicar os termos obtidos exclusivamente a partir da lista de *up* e de *downregulation*. Com isso, finalmente, obtivemos duas tabelas consenso com os termos finais de ontologia genética via enriquecimento funcional para os dois conjuntos de genes (Figura 4).

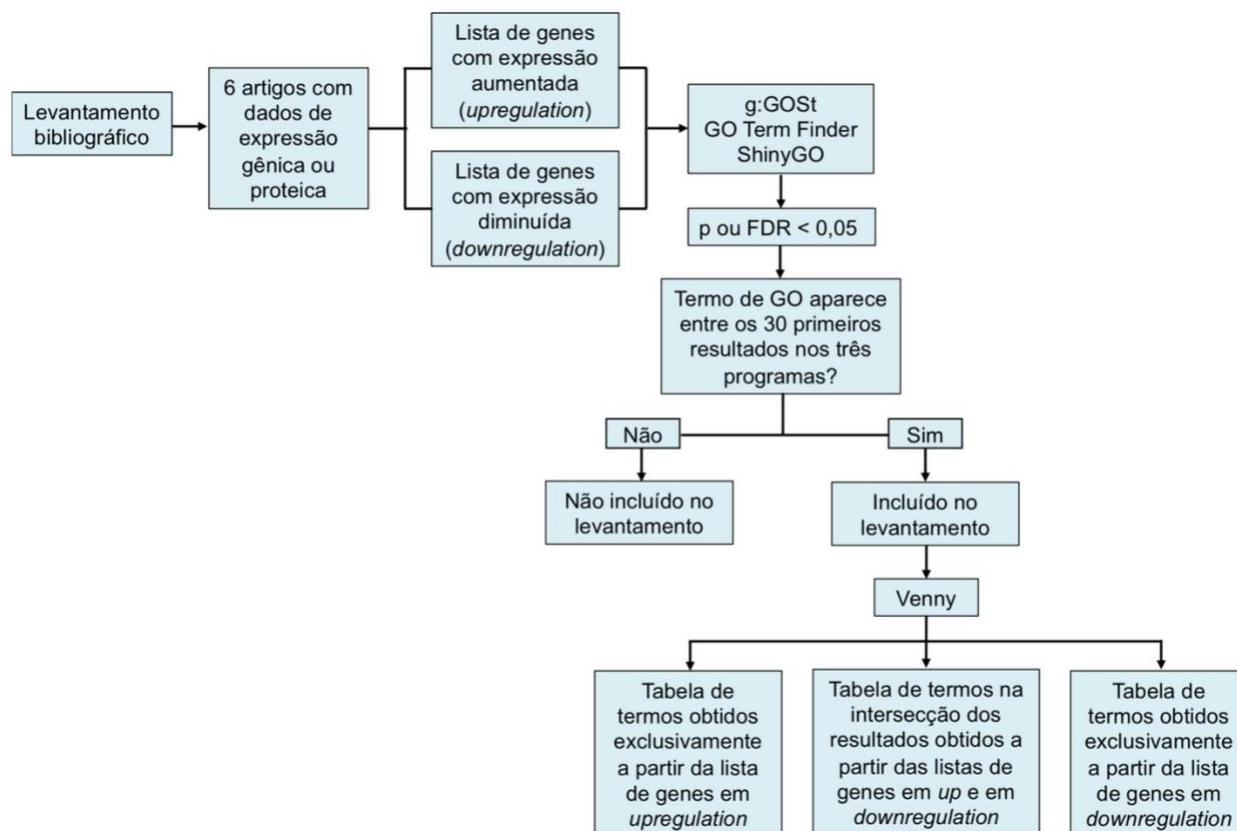


Figura 4 – Fluxograma da análise de ontologia genética via enriquecimento funcional utilizando três programas (g:GOST, GO Term Finder e ShinyGO).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Expressão de genes e de proteínas associados à COVID-19

A leitura dos artigos permitiu o levantamento de genes/proteínas com expressão diferencial em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos. Os dados foram compilados, organizados e listados na Tabela 5. Após a exclusão de algumas redundâncias, observa-se um total de 178 genes/proteínas diferencialmente expressos em pacientes com COVID-19, considerando a soma entre *up* ou *downregulation*.

Tabela 5 – Genes/proteínas diferencialmente expressos em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos.

Referências	Genes/proteínas em <i>upregulation</i>	Genes/proteínas em <i>downregulation</i>
BOST <i>et al.</i> , 2020 (transcriptoma)	CCL18; CCL2; CCL3; CCL4; CCL4L2; CCL7; CCL8; CCR7; CTSB; CTSL; HIF1A; HMOX1; IL7R; LTB; S1PR1	HLA-A; HLA-DQA1; IFIT1; OAS1
DI <i>et al.</i> , 2020 (proteoma)	ACTB; CAPNS1; COL6A3; CSTB; DDT; F8; GSTO1; H4C1; MB; OAF; RPS28; S100A8; S100A9; SOD2; TMSB4X; TNFRSF17; UBB; VASP	CA6; HSPB1; IGFALS; VCPIP1
FLORA <i>et al.</i> , 2021 (proteoma)	AFM; APOC3; CRP; HBB; HBD; PLGLB1; PON1; SAA1; SAA2; SERPINA3	A1BG; A2M; AHSG; AMBP; ANKRD50; APOA1; APOA2; APOC2; APOH; AZGP1; C3; C4A; C5; C7; CFH; CLU; CP; FGA; FGB; FGG; GC; GSN; HBE1; HBG1; HBG2; HPR; HPX; ITIH1; ITIH2; JCHAIN; KNG1; ORM1; ORM2; PLG; PZP; RBP4; TF; TTR; VTN
HADJADJ <i>et al.</i> , 2020 (transcriptoma)	CCL11; CCL18; CCL23; CSF1; CSF2RB; CSF3R; CX3CL1; CXCL1; CXCL13; CXCL2; CXCR1; CXCR2; IFNA2; IFNAR1; IFNAR2; IFNGR1; IL10; IL12A; IL13; IL13RA1; IL16; IL18RAP; IL1B; IL1R1; IL1R2; IL1RAP; IL27; IL32; IL4R; IL6R; IL7; IRF1; IRF4; JAK1; MIF; PPBP; PSMB8; PTAFR; PTPN6; SOCS3; TGFBR1; TGFBR2; TNFRSF10C; TNFRSF11A; TNFRSF8; TNFRSF9; TYK2	BST2; CCR5; CX3CR1; IFI35; IFIT2; IFITM1; IL2RB; IL7R; IRF5; IRF7; PDGFRB; MX1; SOCS1; STAT1; STAT2
MESSNER <i>et al.</i> , 2020 (proteoma)	A1BG; ACTB; C1R; C1S; C8A; CD14; CFB; CFH; CFI; CRP; FGA; FGB; FGG; HP; ITIH3; ITIH4; LBP; LGALS3BP; LRG1; SAA1; SAA2; SERPINA10	ALB; APOA1; APOC1; GSN; TF
SHEN <i>et al.</i> , 2020 (proteoma)	C6; C8A; CFB; CPN1; CRP; ITIH3; ITIH4; LGALS3BP; ORM1; ORM2; SAA1; SAA2; SAA4; SERPINA3	AHSG; ALB; APOA1; APOA2; APOH; APOM; CFP; CLEC3B; FCN2; FLNA; GPLD1; HRG; HSPA5; MMRN1; PCYOX1; PF4; PFN1; PPBP; PPIA; RBP4; SPARC; TAGLN2

Um trabalho de bioinformática listou 123 genes coincidentes que se expressam diferencialmente nos seguintes quadros clínicos: doença cardiovascular, diabetes, hepatite, doença pulmonar e doença renal, cinco comorbidades relacionadas à COVID-19 e, portanto, os genes associados a estas diferentes doenças indicam bases moleculares comuns (DOLAN *et al.*, 2020). Dentre estes 123 genes,

encontramos 19 correspondências (APOA1, C3, CCL2, CCR5, CFH, CX3CL1, FGA, HLA-DQA1, HMOX1, HSPA5, IL10, IL12A, IL1B, IL4R, MIF, PON1, SOCS1, SOCS3 e SOD2) com o nosso levantamento.

Em especial, APOA1 (apolipoproteína 1) é a proteína mais frequente entre os trabalhos selecionados (descrita em três dos seis artigos, como tendo expressão diminuída em proteomas). A APOA1 é a principal constituinte do HDL (*high-density lipoprotein*). Em níveis balanceados, o HDL atua na modulação do sistema imune, até mesmo mediando a resposta inata excessiva em casos de sepse (KARATHANANIS *et al.*, 2017; SOROKIN *et al.*, 2020). Perfis de dislipidemia são observados nos pacientes com COVID-19 e, inclusive, níveis baixos de HDL passaram a ser considerados um forte preditor da severidade do caso (HU *et al.*, 2020; QIN, Chen *et al.*, 2020; WANG, G. *et al.*, 2020; WEI, X. *et al.*, 2020). Ainda que uma melhor compreensão do papel desta proteína na imunopatologia da COVID-19 seja necessária, num primeiro momento, se fôssemos sugerir um potencial alvo para diagnóstico ou para o desenvolvimento de fármacos que atuem na modulação da resposta imune por meio do HDL, com base em nossos levantamentos, indicariamos a APOA1.

Uma constatação curiosa foi a ausência de ACE2 em nossos resultados, cuja expressão em pacientes com COVID-19 tem sido alvo de muitos estudos desde o surgimento da doença. Como mencionado anteriormente, o vírus SARS-CoV-2 utiliza como receptor a proteína ACE2 para sua entrada nas células humanas (LU *et al.*, 2020) e um estudo sugeriu que a ligação da proteína viral S muito provavelmente induziria uma *downregulation* na expressão de ACE2 (ZHANG, H. *et al.*, 2020). Diferentes autores levantaram hipóteses para essa possível diminuição da expressão de ACE2: (i) pela participação da proteína Rab-7a (*ras-related protein Rab-7a*) na regulação da expressão de ACE2 na superfície celular (DANILOSKI *et al.*, 2021), ou (ii) pela remoção do sítio externo de ACE2 da membrana celular após a ligação de S (VERDECCHIA *et al.*, 2020), ou (iii) por consequência de uma possível liberação de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias (BONAFÈ *et al.*, 2020). Uma *downregulation* de ACE2 já foi relacionada com o desenvolvimento de lesões pulmonares (KUBA *et al.*, 2005; GU *et al.*, 2016; RIVELLESE; PREDILETTO, 2020). Uma explicação para esses dados seria a de que uma menor expressão de ACE2 pode significar uma maior disponibilidade de angiotensina II, gerando uma importante inflamação no sistema respiratório nessas condições (IMAI *et al.*, 2005), inclusive por influenciar na liberação

de E-selectinas, P-selectinas, IL-8 e diferentes quimiocinas (BERNSTEIN *et al.*, 2018). Além disso, diferentes estudos em ratos e camundongos indicam que a expressão de ACE2 sofre *downregulation* com o envelhecimento (XUDONG *et al.*, 2006; YOON *et al.*, 2016), também corroborado por dados de proteômica em humanos (CHIRINOS *et al.*, 2020). Existem evidências de que pacientes com diabetes tipo 2, hipertensão e insuficiência cardíaca também possuem uma menor expressão de ACE2 (TIKELLIS *et al.*, 2003; ZHONG *et al.*, 2010; PATEL *et al.*, 2014; PAL; BHANSALI, 2020; CHIRINOS *et al.*, 2020; YAMAGATA *et al.*, 2020). Por outro lado, um estudo com pacientes com COVID-19 em quadros graves e que possuíam comorbidades indicou que a expressão de ACE2 estava aumentada nos pulmões destes indivíduos (PINTO *et al.*, 2020). Nesse mesmo sentido, outro trabalho de transcriptoma descreveu a expressão aumentada de ACE2 em pacientes com quadros severos de COVID-19, em relação a pacientes com sintomas leves ou moderados (JAIN *et al.*, 2021). Pelo exposto, observamos que ainda não existe um consenso sobre a expressão de ACE2 na COVID-19, se aumentada ou diminuída. A ausência de ACE2 em nosso levantamento de genes/proteínas diferencialmente expressos em indivíduos com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos, utilizando seis diferentes trabalhos, nos indica que as células infectadas pelo SARS-CoV-2 não estão tendo sua expressão de ACE2 alterada neste universo de amostras. Ou seja, nossos dados sugerem que humanos parecem não ter mecanismos de proteção contra a infecção viral que envolvam a diminuição de ACE2, assim como o vírus também não possuiria estratégias que estimulem a expressão deste receptor pelas células hospedeiras para permitir a infecção. As discrepâncias entre os estudos parecem refletir muito mais uma perturbação generalizada causada pela infecção que ora altera a expressão de ACE2, e provavelmente outros alvos gênicos, e ora não altera.

Tratando do número total de genes levantados no presente estudo, 67,9% deles (121 entre 178 genes) estão associados a processos do sistema imune. Considerando a invasão do SARS-CoV-2 às células humanas que desencadeia o curso da doença, a resposta imediata do organismo é a ação do sistema imune, por meio da expressão de diferentes genes/proteínas, tais como citocinas, quimiocinas e interleucinas. Em busca de assinaturas moleculares enriquecidas em quadros severos e não-severos de COVID-19, seguimos para a análise de ontologia genética.

4.2 Ontologia genética

Após o levantamento e organização dos dados em listas de genes/proteínas, foi feita a análise de ontologia genética para agora explorarmos a natureza da expressão diferencial e focarmos em características exclusivas e não mais globais. Os resultados de ontologia genética obtidos exclusivamente utilizando os genes/proteínas com expressão aumentada (*upregulation*) em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Processos biológicos enriquecidos (p ou FDR $< 0,05$) nos resultados obtidos exclusivamente a partir da lista de 104 genes em *upregulation* em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos. Os números em sequência, na coluna 3, são referentes ao número de genes pelos programas g:GOST, GO Term Finder e ShinyGO, respectivamente, usando a base de dados Gene Ontology (GO).

Termo de Gene Ontology	GO#	Número de genes/proteínas em <i>upregulation</i> incluídos no termo	g:GOST (p ajustado)	GO Term Finder (p-valor corrigido)	ShinyGO (FDR)
Cell chemotaxis	GO:0060326	31 / 31 / 30	4,2e-27	1,6e-28	6,8e-28
Cellular response to chemical stimulus	GO:0070887	74 / 65 / 73	3,5e-28	4,5e-25	5,7e-32
Cellular response to cytokine stimulus	GO:0071345	62 / 44 / 61	1,4e-44	6,0e-31	1,8e-45
Cellular response to organic substance	GO:0071310	69 / 54 / 68	1,1e-28	3,4e-20	5,5e-32
Chemokine-mediated signaling pathway	GO:0070098	18 / 18 / 18	1,9e-20	5,2e-21	9,4e-22
Cytokine-mediated signaling pathway	GO:0019221	62 / 42 / 61	1,8e-53	2,7e-38	5,5e-53
Granulocyte chemotaxis	GO:0071621	22 / 22 / 21	6,7e-24	9,3e-25	3,6e-24
Granulocyte migration	GO:0097530	23 / 23 / 22	1,0e-23	1,3e-24	3,4e-24
Inflammatory response	GO:0006954	49 / 49 / 48	8,0e-32	1,0e-38	1,1e-35

Leukocyte chemotaxis	GO:0030595	30 / 30 / 29	7,8e-30	7,7e-31	5,1e-30
Myeloid leukocyte migration	GO:0097529	27 / 27 / 26	1,3e-25	1,1e-26	7,1e-26
Neutrophil chemotaxis	GO:0030593	21 / 21 / 20	3,1e-24	5,4e-25	3,6e-24
Neutrophil migration	GO:1990266	22 / 22 / 21	3,8e-24	6,3e-25	2,9e-24
Response to cytokine	GO:0034097	64 / 46 / 63	3,3e-45	3,7e-31	3,4e-46
Response to organic substance	GO:0010033	75 / 61 / 74	4,1e-29	3,8e-21	5,9e-33

Analisando esses resultados, notamos que a maioria dos termos se refere à resposta imune inata, como os processos de migração, quimiotaxia e inflamação. Com a infecção, é iniciado o reconhecimento de padrões moleculares associados ao patógeno (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) virais que se ligam a receptores de reconhecimento de padrões expressos em diferentes células humanas, como macrófagos, mastócitos, células dendríticas e epiteliais. Essa ligação ativa cascatas de sinalização de fatores de transcrição de diferentes citocinas, além de desencadear outras alterações que atuam no desenvolvimento do processo inflamatório, como aumentar o fluxo sanguíneo no tecido e a adesão de leucócitos circulantes nas vênulas pós-capilares. A atividade de citocinas pró-inflamatórias sinaliza para o recrutamento e migração de leucócitos e proteínas plasmáticas para os sítios de infecção, o que ocorre por quimiotaxia, isto é, uma locomoção celular guiada e unidirecional pela detecção de um gradiente químico causado pela alta concentração de citocinas quimioatrantes (KOLACKOWSKA; KUBES, 2013; PETRI; SANZ, 2018; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Altamente responsivo à quimiotaxia, o primeiro leucócito a ser recrutado é o neutrófilo, um granulócito. Os neutrófilos podem eliminar patógenos por fagocitose, degranulação ou liberação de armadilhas extracelulares (*neutrophil extracellular traps*, NETs) (BRINKMANN *et al.*, 2004). As NETs são formadas por DNA e proteínas expelidas pelos neutrófilos que imobilizam os patógenos, evitando que se disseminem pelo organismo. A formação de NETs durante a infecção pelo SARS-CoV-2 já foi descrita (ARCANJO *et al.*, 2020) e um estudo relatou a presença de diferentes marcadores de NETs em pacientes hospitalizados com COVID-19 (ZUO *et al.*, 2020).

A neutrofilia é um indicativo de quadros graves da COVID-19 (WANG, D. *et al.*, 2020; ZHANG, B. *et al.*, 2020), tendo inclusive sido encontrado um infiltrado neutrofílico em autópsias de vítimas da doença (BARNES *et al.*, 2020). O estudo de Barnes e colaboradores (2020) sugere que a formação de NETs pelos neutrófilos no cenário da COVID-19 pode estar associada ao estabelecimento de uma inflamação desbalanceada e progressiva. Todas essas informações relacionadas à neutrofilia se mostram coerentes com nossas análises, as quais ressaltam a migração e quimiotaxia de células imunes e sua participação no processo inflamatório.

Dando continuidade à análise de ontologia genética, temos os processos biológicos enriquecidos obtidos exclusivamente a partir do *input* dos genes/proteínas com expressão diminuída (*downregulation*) em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos, organizados na Tabela 7.

Tabela 7 - Processos biológicos enriquecidos (p ou FDR $< 0,05$) nos resultados obtidos exclusivamente a partir da lista de 74 genes em *downregulation* em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos. Os números em sequência, na coluna 3, são referentes ao número de genes pelos programas g:GOST, GO Term Finder e ShinyGO, respectivamente, usando a base de dados Gene Ontology (GO).

Termo de Gene Ontology	GO#	Número de genes/proteínas em <i>downregulation</i> incluídos no termo	g:GOST (p ajustado)	GO Term Finder (p-valor corrigido)	ShinyGO (FDR)
Blood coagulation	GO:0007596	17 / 13 / 17	4,3e-10	6,8e-9	1,3e-12
Humoral immune response	GO:0006959	19 / 18 / 18	8,5e-12	1,1e-12	1,3e-14
Immune effector process	GO:0002252	27 / 21 / 35	3,7e-10	2,3e-10	1,6e-18
Innate immune response	GO:0045087	29 / 27 / 27	2,0e-13	4,4e-14	9,3e-13
Regulation of immune system process	GO:0002682	33 / 32 / 31	1,5e-10	1,5e-13	1,7e-11

Em linhas gerais, nossos dados apontam que, no quadro severo de COVID-19, o panorama é composto por uma queda parcial da imunidade inata e humoral, bem como da coagulação sanguínea. Juntos, estes processos caracterizariam uma perspectiva da doença responsável por diversos efeitos danosos que distanciam a COVID-19 de outras doenças respiratórias como a gripe. Seria também plausível nos perguntarmos se a gravidade do quadro e eventuais complicações podem ser

consequências destes processos diminuídos, bem como indagar se o aumento destes processos poderia propiciar um melhor prognóstico do caso.

É coerente considerar como uma possível consequência da diminuição do processo da coagulação sanguínea a tendência a hemorragias ou dificuldade em controlá-las. De fato, a ocorrência de acidente vascular encefálico hemorrágico em pacientes com COVID-19 foi relatada por diferentes estudos (FRAIMAN *et al.*, 2020; PAVLOV *et al.*, 2020; VARATHARAJ *et al.*, 2020; CHERUIYOT *et al.*, 2021; QI; KEITH; HUANG, 2021;). Casos de AVE isquêmico em pacientes com COVID-19 também foram sendo reportados (HELMS *et al.*, 2020; MERKLER *et al.*, 2020; OXLEY *et al.*, 2020) e, inclusive, houve a descrição de um caso de infarto venoso hemorrágico após trombose em veia cerebral em um paciente de 72 anos sem histórico médico relevante (CHOUGAR *et al.*, 2020). Um estudo que analisou 3.556 pacientes internados com COVID-19 em Nova Iorque, entre março e abril de 2020, concluiu que 32 deles (0,9%) sofreram um AVE isquêmico (YAGHI *et al.*, 2020). Este número é condizente com uma revisão sistemática com meta-análise de 18 estudos que calculou que 1,11% dos 58.104 pacientes analisados teve um AVE isquêmico, enquanto a prevalência de AVE hemorrágico foi de 0,46% entre 67.155 pacientes com COVID-19 (SYAHRUL *et al.*, 2021).

Todavia, dada a diminuição do processo de coagulação sanguínea, nossos resultados parecem ressaltar que a COVID-19 estaria mais relacionada ao AVE hemorrágico e não ao isquêmico, o contrário do que parece prevalecer nos dados. Por isso, é preciso antes levar em consideração que, dos seis artigos utilizados para a compilação de genes em *downregulation* na COVID-19, cinco não especificam e um afirma o uso de anticoagulantes nos pacientes analisados. O uso de anticoagulantes em casos severos de COVID-19 remete às primeiras observações sobre a doença, com a descrição de níveis altos de d-dímero como um marcador de gravidade do quadro, por indicar processos de coagulação (ZHOU, F. *et al.*, 2020). Outros estudos corroboraram o achado e consideraram o potencial trombótico da COVID-19 (AL-SAMKARI *et al.*, 2020; BECKER, 2020; DOLHNIKOFF *et al.*, 2020; LIPPI; PLEBANI; HENRY, 2020; LOWENSTEIN; SOLOMON, 2020; YANG, X. *et al.*, 2020; POILLON *et al.*, 2021).

A trombocitopenia na COVID-19 é, muito provavelmente, multifatorial, podendo envolver mecanismos de interferência na hematopoese pelo vírus, destruição direta das plaquetas por autoanticorpos ou consumo plaquetário após a formação de

microtrombos, devido à ativação e migração plaquetária em tecidos lesionados, como o pulmonar (XU; ZHOU; XU, 2020). Autópsias estimam que a frequência de microtrombos pulmonares é mais de nove vezes maior na COVID-19 em relação à H1N1 (ACKERMANN *et al.*, 2020) e a terapia com anticoagulantes em doses profiláticas ou terapêuticas passou a ser indicada para pacientes hospitalizados com COVID-19 (NEGRI *et al.*, 2020; ORSI *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2020; CUKER *et al.*, 2021). Entretanto, este protocolo foi sendo questionado por estudos sobre a incidência de eventos trombóticos e hemorrágicos em casos graves de COVID-19: um trabalho francês com 92 pacientes em UTI mostrou que 19 deles (21%) passaram por um quadro hemorrágico, dos quais 16 (84%) haviam recebido doses terapêuticas de anticoagulantes, metade deles (oito pacientes) mesmo sem diagnóstico de distúrbios trombóticos (FRAISSÉ *et al.*, 2020). Além disso, mesmo recebendo as doses de anticoagulantes, 37 pacientes (40%) tiveram um evento trombótico e, então, os autores salientaram a importância de se adaptar as estratégias trombo-profiláticas (FRAISSÉ *et al.*, 2020). Um estudo mais amplo, com 755 pacientes com COVID-19, demonstrou que, entre os 33 casos de hemorragia intracraniana, 25 pacientes haviam passado por terapia com anticoagulantes (DOGRA *et al.*, 2020). Em junho de 2021, foi publicado o resultado de um estudo randomizado e paralelo realizado em 31 hospitais do Brasil, entre junho de 2020 e fevereiro de 2021, somando 3.331 pacientes hospitalizados com COVID-19 que apresentavam altos níveis de d-dímero (LOPES *et al.*, 2021). Nestes pacientes, os resultados demonstraram não haver efeito benéfico na adoção de protocolos com doses terapêuticas dos anticoagulantes rivaroxabana e enoxaparina, pois não houve melhora do quadro clínico e sim um aumento de hemorragias, em comparação com doses profiláticas (LOPES *et al.*, 2021). Os autores concluem que doses terapêuticas de anticoagulantes devem ser evitadas em pacientes com COVID-19 com altos níveis de d-dímero mas que não apresentem evidências e indicações para o uso de anticoagulantes orais (LOPES *et al.*, 2021). Considerando todo este contexto, é razoável considerar a hipótese de que o uso amplo de anticoagulantes ainda tenha muitos efeitos a serem elucidados, evidenciado também pela alteração na conduta médica, e possa ter contribuído para evidenciar, em nossos resultados, potenciais eventos genéticos ligados a quadros de AVE hemorrágicos e não de AVE isquêmicos.

A nossa observação de diminuição tanto da imunidade inata quanto dos fatores da resposta imune nos pacientes com quadros severos de COVID-19 pode

se relacionar com mecanismos de evasão viral. Sugerimos que o organismo pode estar respondendo ao estímulo externo de forma desbalanceada, talvez por fatores que incluam contra-ataques por parte do SARS-CoV-2, a exemplo do que ocorre com os interferons, citocinas efetoras da resposta antiviral. Diferentes estudos indicam a *downregulation* de genes da família dos interferons em pacientes com quadros mais graves, muito provavelmente como consequência de mecanismos de evasão usados pelo SARS-CoV-2 e outros betacoronavírus para conseguir atingir uma alta carga viral, além de comprometer a resposta por linfócitos T (ACHARYA; LIU; GACK, 2020; AMOR; BLANCO; BAKER, 2020; LEI *et al.*, 2020; XIA *et al.*, 2020). De fato, o SARS-CoV-2 vem sendo descrito como um potente antagonista de interferons, mais eficiente que o SARS-CoV (KONNO *et al.*, 2020) e a diminuição da resposta celular a interferons é tida como característica de casos moderados e graves (BLANCO-MELO *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2020; HADJADJ *et al.*, 2020). Além de diminuir a expressão de interferons, um artigo sugere que o SARS-CoV-2 possa ser capaz de desregular outros componentes da imunidade inata, como a sinalização de receptores do tipo Toll (*Toll-like receptors*, TLR), células NK (*natural killer*) e células dendríticas (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

Nossos resultados apontam também para a queda da imunidade humoral em pacientes com quadros severos em relação aos não-severos. Uma análise de transcriptoma em 18 indivíduos se recuperando da COVID-19 apontou que a resposta humoral estava significativamente diminuída; por sua vez, a imunidade por células T se manteve ativa e robusta (ZHENG *et al.*, 2020).

Por fim, comparamos os termos obtidos a partir de cada lista, *up versus downregulation*, e notamos informações em comum. Usando um diagrama de Venn, este cenário pode ser visualizado na Figura 5 e os dez termos na intersecção estão descritos na Tabela 8.

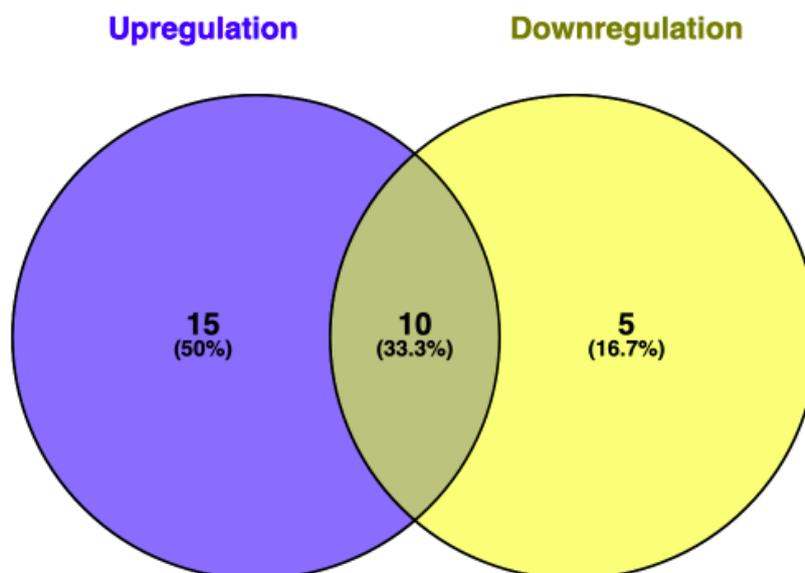


Figura 5 – Diagrama de Venn gerado pelo programa Venny a partir da lista consenso de termos de ontologia genética, tanto para aqueles obtidos a partir da lista de genes em *upregulation* (à esquerda), quanto em *downregulation* (à direita), em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos. Os resultados ilustrados pelo diagrama encontram-se nas Tabelas 8 (referente à intersecção, ou seja, os dez termos enriquecidos que coincidem em ambas as listas), 6 (referente aos 15 termos enriquecidos exclusivamente a partir da lista de genes em *upregulation*) e 7 (referente aos cinco termos enriquecidos exclusivamente a partir da lista de genes em *downregulation*).

Tabela 8 – Análise comparativa entre o número de genes/proteínas em *up* e *downregulation* nos processos biológicos enriquecidos que estão presentes tanto nos resultados obtidos a partir do *input* da lista de genes em *upregulation*, quanto a partir do *input* da lista de genes em *downregulation* em pacientes com casos severos de COVID-19 em relação aos não-severos. Os números em sequência, nas colunas 2 e 3, são referentes ao número de genes retornados pelos programas g:GOST, GO Term Finder e ShinyGO, respectivamente, usando a base de dados Gene Ontology (GO).

Termo de Gene Ontology	GO#	Número de genes/proteínas em <i>upregulation</i> incluídos no termo	Número de genes/proteínas em <i>downregulation</i> incluídos no termo
Biological process involved in interspecies interaction between organisms	GO:0044419	57 / 53 / 59	40 / 38 / 41
Defense response	GO:0006952	69 / 68 / 67	43 / 40 / 41
Defense response to other organism	GO:0098542	45 / 41 / 43	35 / 32 / 36
Immune response	GO:0006955	71 / 59 / 71	47 / 40 / 46
Immune system process	GO:0002376	79 / 71 / 78	49 / 45 / 49

Response to biotic stimulus	GO:0009607	55 / 51 / 53	39 / 36 / 37
Response to external biotic stimulus	GO:0043207	55 / 51 / 53	38 / 35 / 36
Response to external stimulus	GO:0009605	69 / 66 / 67	49 / 48 / 47
Response to other organism	GO:0051707	55 / 51 / 53	38 / 35 / 36
Response to stress	GO:0006950	78 / 74 / 76	59 / 54 / 57

Preliminarmente, pode parecer contraditório o aumento e a diminuição de determinados processos biológicos de maneira simultânea. Porém, é preciso pontuar que, a partir do momento da infecção, inicia-se uma batalha entre o invasor (vírus) e o hospedeiro, cada um usando suas diferentes estratégias, de adaptação e, conseqüentemente, de manutenção, que se confrontam e que podem gerar perturbações na regulação de eventos moleculares e em alguns processos biológicos relacionados. Tal fato ocorre, por exemplo, com os interferons, conforme mencionado anteriormente na discussão: a princípio, seria natural supor que o hospedeiro conseguisse obter vantagem frente ao SARS-CoV-2 ao utilizar desse mecanismo de defesa. Entretanto, o vírus possui estratégias de evasão (ACHARYA; LIU; GACK, 2020; AMOR; BLANCO; BAKER, 2020; LEI *et al.*, 2020; XIA *et al.*, 2020) e, talvez, por isso ocorra um desbalanço na resposta a interferons. Portanto, enquanto o organismo reage com o aumento da expressão de genes de resposta imune, o vírus contra-ataca com recursos que propiciam sua evasão (ROSENTHAL, 2020).

Uma análise um pouco mais minuciosa da Tabela 8 nos permite notar que, comparativamente, os termos de ontologia genética em questão são compostos por mais genes/proteínas com expressão aumentada do que diminuída. Isto, em uma visão mais global, é coerente e pode ser um indicativo de que, nesta batalha, as investidas do hospedeiro no que tange ao recrutamento da resposta imune contra o vírus se sobressaem: utilizando os dados da OMS, a diferença entre os números de casos e mortes registrados mundialmente, ou seja, o número de sobreviventes, até 14 de dezembro de 2021, correspondia a 98,03% do total de infecções (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021d).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho permitiu conciliar diferentes informações sobre a COVID-19. Como perspectivas, o elenco de genes e de proteínas, bem como os resultados da análise de ontologia genética via enriquecimento funcional, podem direcionar novos estudos visando por potenciais alvos para diagnósticos e desenvolvimento de fármacos para o tratamento e controle da COVID-19. A abordagem que utilizamos ajuda a identificar as assinaturas moleculares da infecção e pode ser ampliada na medida em que mais dados em larga escala forem gerados e publicados. Apesar de ter atingido um patamar relativamente estável no número de mortes, a COVID-19 segue causando números alarmantes de casos e vitimando muitas pessoas por todo o mundo, sobretudo se considerarmos a existência de vacinas eficazes (embora mal distribuídas entre os países) e métodos de prevenção já bem definidos. As taxas de letalidade maiores em idosos em relação aos mais jovens nos leva a destacar a regulação da resposta imune como um processo biológico que demanda atenção, especialmente porque pode ser alvo para o desenvolvimento de fármacos imunomoduladores: nossos resultados sugerem que a vulnerabilidade à COVID-19 não depende de uma resposta imune mais ou menos desenvolvida, mas sim de uma resposta funcional, balanceada e regulada.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro, 2019. 9a ed.
- ACHARYA, D.; LIU, G.; GACK, M. U. Dysregulation of type I interferon responses in COVID-19. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, p. 397–398, 2020.
- ACKERMANN, M. *et al.* Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. **The New England Journal of Medicine**, v. 383, p. 120-128, 2020.
- AKBAR, A. N.; GILROY, D. W. Aging immunity may exacerbate COVID-19. **Science**, v. 369, n. 6501, p. 256-257, 2020.
- AL-ALY, Z.; XIE, Y.; BOWE, B. High-dimensional characterization of post-acute sequelae of COVID-19. **Nature**, v. 594, p. 259–264, 2021.
- AL-SAMKARI, H. *et al.* COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. **Blood**, v. 136, n. 4, p. 489-500, 2020.
- ALGHAMDI, I. G. *et al.* The pattern of Middle East respiratory syndrome coronavirus in Saudi Arabia: a descriptive epidemiological analysis of data from the Saudi Ministry of Health. **International Journal of General Medicine**, v. 7, p. 417-423, 2014.
- AMOR, S.; BLANCO, L. F.; BAKER, D. Innate immunity during SARS-CoV-2: evasion strategies and activation trigger hypoxia and vascular damage. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 202, n. 2, p. 193-209, 2020.
- ANGELINI, S. *et al.* The “Elderly” Lesson in a “Stressful” Life: Italian Holistic Approach to Increase COVID-19 Prevention and Awareness. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, n. 579401, 2020.
- ARCANJO, A. *et al.* The emerging role of neutrophil extracellular traps in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (COVID-19). **Scientific Reports**, v. 10, n. 19630, 2020.
- ASHBURNER, M. *et al.* Gene ontology: tool for the unification of biology. **Nature Genetics**, v. 5, n. 1, p. 25-29, 2000.
- AUSTAD, S. N. Why women live longer than men: Sex differences in longevity. **Gender Medicine**, v. 3, n. 2, p. 79–92, 2006.

- AVANZATO, V. A. *et al.* Case Study: Prolonged Infectious SARS-CoV-2 Shedding from an Asymptomatic Immunocompromised Individual with Cancer. **Cell**, v. 183, n. 7, p. 1901-1912, 2020.
- AYDILLO, T. *et al.* Shedding of Viable SARS-CoV-2 after Immunosuppressive Therapy for Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 383, p. 2586-2588, 2020.
- BAANG, J. H. *et al.* Prolonged Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Replication in an Immunocompromised Patient. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 223, n. 1, p. 23-27, 2021.
- BARNES, B. J. *et al.* Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 6, 2020.
- BECKER, R. C. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 50, n. 1, p. 54-67, 2020.
- BELENGUER-VAREA, Á. *et al.* Oxidative stress and exceptional human longevity: Systematic review. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 149, p. 51-63, 2020.
- BERGHÖFER, B. *et al.* TLR7 ligands induce higher IFN-alpha production in females. **Journal of Immunology**, v. 177, n. 4, p. 2088-2096, 2006.
- BERNSTEIN, K. E. *et al.* Angiotensin-converting enzyme in innate and adaptive immunity. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, n. 5, p. 325–336, 2018.
- BHOPAL, S. S. *et al.* Children and young people remain at low risk of COVID-19 mortality. **The Lancet Child & Adolescent Health**, v. 5, n. 5, p. 12-13, 2021.
- biomarkers and therapeutic targets. **medRxiv**, 2021. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.26.20248855>
- BLAGOSKLONNY, M. V. From causes of aging to death from COVID-19. **Aging**, v. 12, n. 11, p.10004-10021, 2020.
- BLAGOSKLONNY, M. V. Why men age faster but reproduce longer than women: mTOR and evolutionary perspectives. **Aging**, v. 2, n. 5, p. 265–273, 2010.
- BLANCO-MELO, D. *et al.* Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. **Cell**, v. 181, n. 5, p. 1036-1045, 2020.
- BOJKOVA, D. *et al.* Proteomics of SARS-CoV-2-infected host cells reveals therapy targets. **Nature**, v. 583, p. 469–472, 2020.
- BONAFÈ, F. *et al.* A gender-dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. **European Journal of Immunology**, v. 31, n. 8, p. 2357-2361, 2001.

- BONAFÈ, M. *et al.* Inflamm-aging: why older men are the most susceptible to SARS-CoV-2 complicated outcomes. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 53, p. 33-37, 2020.
- BONIFÁCIO, L. P. *et al.* Are SARS-CoV-2 reinfection and Covid-19 recurrence possible? a case report from Brazil. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v. 53, 2020.
- BORDT, E. A. *et al.* Maternal SARS-CoV-2 infection elicits sexually dimorphic placental immune responses. **Science Translational Medicine**, v. 13, n. 617, 2021.
- BOSSÙ, P. *et al.* Implication of Aging Related Chronic Neuroinflammation on COVID-19 Pandemic. **Journal of Personalized Medicine**, v. 10, 2020.
- BOST, P. *et al.* Host-Viral Infection Maps Reveal Signatures of Severe COVID-19 Patients. **Cell**, v. 181, n. 7, p. 1475-1488, 2020.
- BOYLE, E. I. *et al.* GO::TermFinder--open source software for accessing Gene Ontology information and finding significantly enriched Gene Ontology terms associated with a list of genes - <https://go.princeton.edu/cgi-bin/GOTermFinder>. **Bioinformatics**, v. 20, n. 18, p. 3710-3715, 2004.
- BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. **The Journal of Pathology**, v. 214, n. 2, p. 149-160, 2008.
- BRINKMANN, V. *et al.* Neutrophil extracellular traps kill bacteria. **Science**, v. 303, p. 1532-1535, 2004.
- BUONSENSO, D. *et al.* Preliminary evidence on long COVID in children. **Acta Paediatrica**, v. 110, n. 7, p. 2208-2211, 2021.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J. *et al.* Cardiovascular effects of angiotensin-(1-7) injected into the dorsal medulla of rats. **American Journal of Physiology**, v. 257, p. 324-329, 1989.
- CANDIDO, D. S. *et al.* Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. **Science**, v. 369, n. 6508, p. 1255-1260, 2020.
- CANTUTI-CASTELVETRI, L. *et al.* Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. **Science**, v. 370, n. 6518, p. 856-860, 2020.
- CARACENI, P.; TUFONI, M.; BONAVIDA, M. E. Clinical use of albumin. **Blood transfusion**, v. 11, n. 4, p. 18-25, 2013.

- CARFI, A.; BERNABEI, R.; LANDI, F. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. **Journal of the American Medical Association**, v. 324, n. 6, p. 603-605, 2020.
- CARUSO, C. *et al.* Mechanisms of immunosenescence. **Immunity & ageing**, v. 6, n. 10, 2009.
- CARUSO, F. P. *et al.* A review of COVID-19 biomarkers and drug targets: resources and tools. **Briefings in Bioinformatics**, v. 22, n. 2, p. 701-713, 2021.
- CASTRO, M. C. *et al.* Spatiotemporal pattern of COVID-19 spread in Brazil. **Science**, 2021. doi: 10.1126/science.abh1558.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **COVID-19 Data Tracker: Demographic Trends of COVID-19 cases and deaths in the US reported to CDC**. 2021c. Disponível em: <https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/#demographics>. Acesso em 14 dez. 2021.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **COVID-19 Vaccinations in the United States**. 2021d. Disponível em: <https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/#vaccinations>. Acesso em 16 mai. 2021.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Hospitalization and Death by Age**. 2020. Disponível em <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/covid-data/investigations-discovery/hospitalization-death-by-age.html>>. Acesso em 23 dez. 2020.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Interim Guidance on Duration of Isolation and Precautions for Adults with COVID-19**. 2021a. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.html>. Acesso em 20 abr. 2021.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Laboratory-Confirmed COVID-19 Associated Hospitalizations**. 2021b. Disponível em: https://gis.cdc.gov/grasp/COVIDNet/COVID19_5.html. Acesso em 16 mai. 2021.
- CHAMEKH, M.; CASIMIR, G. Understanding Gender-Bias in Critically Ill Patients With COVID-19. **Frontiers in Medicine**, v. 7, n. 564117, 2020.
- CHAN-YEUNG, M.; RUI-HENG, X. SARS: epidemiology. **Respirology**, v. 8, p. 9-14, 2003.
- CHEN, G. *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.

- CHERIAN, S. *et al.* Convergent evolution of SARS-CoV-2 spike mutations, L452R, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India. **Microorganisms**, v. 9, n. 7, 2021.
- CHERUIYOT, I. *et al.* Intracranial hemorrhage in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. **Neurological Sciences**, v. 42, n. 1, p. 25-33, 2021.
- CHIRICO, F. *et al.* Can Air-Conditioning Systems Contribute to the Spread of SARS/MERS/COVID-19 Infection? Insights from a Rapid Review of the Literature. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 6052, 2020.
- CHIRINOS, J. A. Clinical and Proteomic Correlates of Plasma ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2) in Human Heart Failure. **Hypertension**, v. 76, p. 1526–1536, 2020.
- CHOI, B. *et al.* Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. **Journal of the American Medical Association**, v. 383, n. 23, p. 2291-2293, 2020.
- CHOU, S. H.-Y. *et al.* Global Incidence of Neurological Manifestations Among Patients Hospitalized With COVID-19—A Report for the GCS-NeuroCOVID Consortium and the ENERGY Consortium. **Journal of the American Medical Association Network Open**, v. 4, n. 5, 2021.
- CHOUGAR, L. *et al.* Atypical Deep Cerebral Vein Thrombosis with Hemorrhagic Venous Infarction in a Patient Positive for COVID-19. **American Journal of Neuroradiology**, v. 41, n. 8, p. 1377-1379, 2020.
- CLARKE, C. *et al.* Regulation of cardiovascular remodeling by the counter-regulatory axis of the renin–angiotensin system. **Future Cardiology**, v. 9, n. 1, p. 23–38, 2013.
- CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nature Microbiology**, v. 5, p. 536–544, 2020.
- COSTA, L. B. *et al.* Insights on SARS-CoV-2 Molecular Interactions With the Renin-Angiotensin System. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, n. 559841, 2020.
- CUKER, A. *et al.* American Society of Hematology 2021 guidelines on the use of anticoagulation for thromboprophylaxis in patients with COVID-19. **Blood Advances**, v. 5, n. 3, p. 872-888, 2021.

- CUNNINGHAM, J. W. *et al.* Clinical Outcomes in Young US Adults Hospitalized With COVID-19. **Journal of the American Medical Association Internal Medicine**, v. 181, n. 3, p. 379-381, 2020.
- DA SILVEIRA, K. D. *et al.* Anti-inflammatory effects of the activation of the angiotensin-(1-7) receptor, MAS, in experimental models of arthritis. **Journal of Immunology**, v. 185, n. 9, p. 5569-5576, 2010.
- DALY, J. L. *et al.* Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. **Science**, v. 370, n. 6518, p. 861-865, 2020.
- DAN, J. M. *et al.* Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. **Science**, v. 371, n. 6528, 2021.
- DANILOSKI, Z. *et al.* Identification of Required Host Factors for SARSCoV-2 Infection in Human Cells. **Cell**, v. 184, n. 1, p. 92-105, 2021.
- DAVANZO, G. G. *et al.* SARS-CoV-2 Uses CD4 to Infect T Helper Lymphocytes. **medRxiv**, 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.25.20200329>
- DAVIDO, B. *et al.* Post-COVID-19 chronic symptoms: a post-infectious entity? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, n. 11, p. 1448-1449, 2020.
- DE FELICE, F. G. *et al.* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the Central Nervous System. **Trends in Neurosciences**, 2020. doi:10.1016/j.tins.2020.04.004
- DELIKHOON, M. *et al.* Modes of Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and Factors Influencing on the Airborne Transmission: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 2, 2021.
- DENG, X. *et al.* Transmission, infectivity, and neutralization of a spike L452R SARS-CoV-2 variant. **Cell**, 2021.
- DHINDSA, S. *et al.* Association of Circulating Sex Hormones With Inflammation and Disease Severity in Patients With COVID-19. **Journal of the American Medical Association Network Open**, v. 4, n. 5, 2021.
- DI, B. *et al.* Identification and validation of predictive factors for progression to severe COVID-19 pneumonia by proteomics. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, n. 5, v. 217, 2020.
- DIAO, B. *et al.* Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2020.

- DOGRA, S. *et al.* Hemorrhagic stroke and anticoagulation in COVID-19. **Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases**, v. 29, n. 8, 2020.
- DOLAN, M. E. *et al.* Investigation of COVID-19 comorbidities reveals genes and pathways coincident with the SARS-CoV-2 viral disease. **Scientific Reports**, v. 10, n. 20848, 2020.
- DOLHNIKOFF, M. *et al.* Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 6, p. 1517–1519, 2020.
- DONNELLY, C. A. *et al.* Epidemiological and genetic analysis of severe acute respiratory syndrome. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 11, p. 672–683, 2004.
- DONOGHUE, M. *et al.* A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. **Circulation Research**, v. 87, n. 5, p. 1-9, 2000.
- DROSTEN, C. *et al.* Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 20, p. 1967–1976, 2003.
- DUCHENE, S. *et al.* Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. **Virus Evolution**, v. 6, n. 2, 2020.
- EJAZ, H. *et al.* COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 12, p. 1833-1839, 2020.
- ESPINOSA, O. A. *et al.* Prevalence of comorbidities in patients and mortality cases affected by SARS-COV2: a systematic review and meta-analysis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, n. 43, 2020.
- FARIA, N. R. *et al.* Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings. **Virological**, 2021. Disponível em: <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586>. Acesso em 20 abr. 2021.
- FERNANDES, P. A. *et al.* Melatonin-Index as a biomarker for predicting the distribution of presymptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 carriers. **Melatonin Research**, v. 4, n. 1, p. 189-205, 2021.
- FERRARI, A. *et al.* Prolonged SARS-CoV-2-RNA Detection from Nasopharyngeal Swabs in an Oncologic Patient: What Impact on Cancer Treatment? **Current Oncology**, v. 28, n. 1, p. 847-852, 2021.

- FERREIRA, A. J.; SANTOS, R. A.; ALMEIDA, A. P. Angiotensin-(1-7): cardioprotective effect in myocardial ischemia/reperfusion. **Hypertension**, v. 38, p. 665-668, 2001.
- FLORA, D. C. *et al.* Quantitative plasma proteomics of survivor and non-survivor COVID19 patients admitted to hospital unravels potential prognostic
- FRAIMAN, P. *et al.* Hemorrhagic stroke and COVID-19 infection: Coincidence or causality? **eNeurologicalSci**, v. 21, 2020.
- FRAISSÉ, M. *et al.* Thrombotic and hemorrhagic events in critically ill COVID-19 patients: a French monocenter retrospective study. **Critical Care**, v. 24, n. 275, 2020.
- FRANCESCHI, C. *et al.* Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 908, p. 244-254, 2000.
- FRANCESCHI, C. *et al.* Inflammaging and 'Garb-aging'. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 28, n. 3, p. 199-212, 2017.
- GAEBLER, C. *et al.* Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. **Nature**, v. 591, p. 639-644, 2021.
- GE, S. X.; JUNG, D.; YAO, R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. **Bioinformatics**, v. 36, n. 8, p. 2628-2629, 2020.
- GLOBAL HEALTH 5050. **The COVID-19 Sex-Disaggregated Data Tracker**. 2021. Disponível em: <https://globalhealth5050.org/the-sex-gender-and-covid-19-project/the-data-tracker/>. Acesso em 14 dez. 2021.
- GOERTZ, Y. M. J. *et al.* Persistent symptoms 3 months after a SARS-CoV-2 infection: the post-COVID-19 syndrome? **European Respiratory Society Open Research**, v. 6, n. 4, 2020.
- GOH, K. T. *et al.* Epidemiology and control of SARS in Singapore. **Annals of the Academy of Medicine of Singapore**, v. 35, n. 5, p. 301-316, 2006.
- GORDON, D. E. *et al.* A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. **Nature**, v. 583, p. 459-468, 2020.
- GRAHAM, M. S. *et al.* Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: an ecological study. **The Lancet Public Health**, v. 6, n. 5, 2021.

- GRASSELLI, G. *et al.* Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 16, p. 1574-1581, 2020.
- GROFF, D. *et al.* Short-term and Long-term Rates of Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection: A Systematic Review. **Journal of the American Medical Association Network Open**, v. 4, n. 10, 2021.
- GU, H. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 inhibits lung injury induced by respiratory syncytial virus. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.
- GUPTA, A.; CHIANG, K. C. Prostaglandin D2 as a mediator of lymphopenia and a therapeutic target in COVID-19 disease. **Medical Hypotheses**, v. 143, n. 110122, 2020.
- GUPTA, K. *et al.* The Cellular basis of loss of smell in 2019-nCoV-infected individuals. **Briefings in Bioinformatics**, v. 22, n. 2, p. 873-881, 2021.
- HADJADJ, J. *et al.* Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. **Science**, v. 369, n. 6504, p. 718-724, 2020.
- HAMMING, I. *et al.* Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **The Journal of Pathology**, v. 203, n. 2, p. 631–637, 2004.
- HARRINGTON, D. *et al.* Confirmed Reinfection with SARS-CoV-2 Variant VOC-202012/01. **Clinical Infectious Diseases**, v. 73, n. 10, 2021.
- HASHIZUME, M. *et al.* Overproduced interleukin 6 decreases blood lipid levels via upregulation of very-low-density lipoprotein receptor. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 69, n. 4, p. 741-746, 2010.
- HAUSMAN, D. B.; FISCHER, J. G.; JOHNSON, M. A. Protein, lipid, and hematological biomarkers in centenarians: Definitions, interpretation and relationships with health. **Maturitas**, v. 71, n. 3, p. 205–212, 2012.
- HECKSHER, M. Mortalidade por COVID-19 e queda do emprego no Brasil e no mundo. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada**, 2021. Disponível em: https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/pubpreliminar/210514_nt_mortalidade_emprego_marcos_hecksher_public_preliminar.pdf. Acesso em 29 mai. 2021.
- HELMS, J. *et al.* Neurologic Features in Severe SARS-CoV-2 Infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 23, p. 2268-2270, 2020.
- HEWAGAMA, A. *et al.* Stronger inflammatory/cytotoxic T-cell response in women identified by microarray analysis. **Genes & Immunity**, v. 10, n. 5, p. 509-516, 2009.

- HIRATA, T. *et al.* Associations of cardiovascular biomarkers and plasma albumin with exceptional survival to the highest ages. **Nature Communications**, v. 11, n. 3820, 2020.
- HOFFMANN, H. H. *et al.* Functional interrogation of a SARS-CoV-2 host protein interactome identifies unique and shared coronavirus host factors. **Cell Host & Microbe**, v. 29, n. 2, p. 267-280, 2021.
- HOFFMANN, M. *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, 2020.
- HOLMES, E. C. *et al.* The origins of SARS-CoV-2: A critical review. **Cell**, v. 184, n. 19, p. 4848-4856, 2021.
- HOTCHIN, N. A. *et al.* Active Epstein-Barr virus infection in post-viral fatigue syndrome. **Journal of Infection**, v. 18, n. 2, p. 143–150, 1989.
- HU, D. *et al.* Genomic characterization and infectivity of a novel SARS-like coronavirus in Chinese bats. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2018.
- HU, X. *et al.* Declined serum high density lipoprotein cholesterol is associated with the severity of COVID-19 infection. **Clinica Chimica Acta**, v. 510, p. 105-110, 2020.
- HUANG, C. *et al.* 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. **The Lancet**, v. 397, n. 10270, 2021.
- HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.
- IMAI, Y. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. **Nature**, v. 436, p. 112-116, 2005.
- ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ. **Characteristics of COVID-19 Patients Dying in Italy Report Based on Available Data on March 24th, 2020**. 2020. Disponível em: <https://www.epicentro.iss.it/en/coronavirus/bollettino/Report-COVID-2019_16_december_2020.pdf>. Acesso em 25 dez. 2020.
- JAIN, R. *et al.* Host transcriptomic profiling of COVID-19 patients with mild, moderate, and severe clinical outcomes. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 153-160, 2021.
- JIN, J-M. *et al.* Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. **Frontiers in Public Health**, v. 8, n. 152, 2020.

JOHANSSON, M. A. *et al.* SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. **Journal of the American Medical Association Network Open**, v. 4, n. 1, 2021.

KARATHANASIS, S. K. *et al.* The Changing Face of HDL and the Best Way to Measure It. **Clinical Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 196-210, 2017.

KARIM, S. S. A.; OLIVEIRA, T. New SARS-CoV-2 Variants — Clinical, Public Health, and Vaccine Implications. **The New England Journal of Medicine**, 2021. DOI: 10.1056/NEJMc2100362

KARLBERG, J.; CHONG, D. S. Y.; LAI, W. Y. Y. Do Men Have a Higher Case Fatality Rate of Severe Acute Respiratory Syndrome than Women Do? **American Journal of Epidemiology**, v. 159, n. 3, p. 229-231, 2004.

KERMALI, M. *et al.* The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19 – A systematic review. **Life Sciences**, v. 254, n. 117788, 2020.

KHATEEB, J.; LI, Y.; ZHANG, H. Emerging SARS-CoV-2 variants of concern and potential intervention approaches. **Critical Care**, v. 25, n. 244, 2021.

KIDD, M. *et al.* S-Variant SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 Is Associated With Significantly Higher Viral Load in Samples Tested by TaqPath Polymerase Chain Reaction. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 223, n. 10, 2021.

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626-638, 2016.

KLOK, F. A. *et al.* Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: An updated analysis. **Thrombosis Research**, v. 191, p. 148-150, 2020.

KOLACKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 3, p. 159–175, 2013.

KONNO, Y. *et al.* SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is increased by a naturally occurring elongation variant. **Cell Reports**, v. 32, n. 12, 2020.

KORAKAS, E. *et al.* Obesity and COVID-19: immune and metabolic derangement as a possible link to adverse clinical outcomes. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 319, n. 1, p. 105-109, 2020.

KORBER, B. *et al.* Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. **Cell**, v. 182, n. 4, p. 812-827, 2020.

- KOVACS, E. J. *et al.* Inflammaging and the lung. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 33, n. 4, p. 459-471, 2017.
- KRONBICHLER, A. *et al.* Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 98, p. 180-186, 2020.
- KUBA, K. *et al.* A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus–induced lung injury. **Nature Medicine**, v. 11, n. 8, p. 875–879, 2005.
- KUMAR, M.; THAKUR, A. K. Neurological manifestations and comorbidity associated with COVID-19: an overview. **Neurological Sciences**, v. 41, p. 3409–3418, 2020.
- LAUC, G.; SINCLAIR, D. Biomarkers of biological age as predictors of COVID-19 disease severity. **Ageing**, v. 12, n. 8, p. 6490–6491, 2020.
- LAM, W. K.; ZHONG, N. S.; TAN, W. C. Overview on SARS in Asia and the world. **Respirology**, v. 8, p. 2-5, 2003.
- LAN, L. *et al.* Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 15, p. 1502-1503, 2020.
- LEHRSKOV, L. L.; CHRISTENSEN, R. H. The role of interleukin-6 in glucose homeostasis and lipid metabolism. **Seminars in Immunopathology**, v. 41, n. 4, p. 491-499, 2019.
- LEI, X. *et al.* Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. **Nature Communications**, v. 11, n. 3810, 2020.
- LEONG, H. N. *et al.* SARS in Singapore--predictors of disease severity. **Annals of the Academy of Medicine of Singapore**, v. 35, n. 5, p. 326-331, 2006.
- LEWIS, D. Long COVID and kids: scientists race to find answers. **Nature**, v. 595, p. 482-483, 2021.
- LI, B. *et al.* Viral infection and transmission in a large, well-traced outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta variant. **medRxiv**, 2021. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.07.07.21260122>.
- LI, N.; WANG, W.; LV, T. Prolonged SARS-CoV-2 RNA Shedding: Not a Rare Phenomenon. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 11, p. 2286-2287, 2020.
- LI, Q. *et al.* The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity. **Cell**, v. 182, n. 5, p. 1284–1294, 2020.

- LI, X. *et al.* Clinical laboratory characteristics of severe patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. **Clinical Epidemiology and Global Health**, v. 9, p. 184-190, 2021.
- LIAO, M. *et al.* Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. **Nature Medicine**, v. 26, p. 842-844, 2020.
- LIO, D. *et al.* SARS CoV2 infection _The longevity study perspectives. **Ageing Research Reviews**, v. 67, 2021.
- LIPPI, G.; PLEBANI, M.; HENRY, B. M. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. **Clinica Chimica Acta**, v. 506, p. 145-148, 2020.
- LIU, W. D. *et al.* Prolonged Virus Shedding Even After Seroconversion in a Patient With COVID-19. **Journal of Infection**, v. 81, n. 2, p. 318-356, 2020.
- LOPES, R. D. *et al.* Therapeutic versus prophylactic anticoagulation for patients admitted to hospital with COVID-19 and elevated D-dimer concentration (ACTION): an open-label, multicentre, randomised, controlled trial. **The Lancet**, v. 397, n. 10291, 2021.
- LÓPEZ-OTÍN, C. *et al.* The hallmarks of aging. **Cell**, v. 153, n. 6, p. 1194–1217, 2013.
- LOWENSTEIN, C. J.; SOLOMON, S. D. Severe COVID-19 Is a Microvascular Disease. **Circulation**, v. 142, n. 17, p. 1609-1611, 2020.
- LU, L. *et al.* A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. **Trends in Immunology**, v. 42, n. 1, p. 3-5, 2021.
- LU, R. *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.
- LUCAS, C. *et al.* Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. **Nature**, v. 584, p. 463–469, 2020.
- MA, J. **Coronavirus: China's first confirmed Covid-19 case traced back to November 17.** 2020. Disponível em:
<<https://www.scmp.com/news/china/society/article/3074991/coronavirus-chinas-first-confirmed-covid-19-case-traced-back>>. Acesso em 22 dez. 2020.
- MARCON, G. *et al.* COVID-19 mortality in Lombardy: the vulnerability of the oldest old and the resilience of male centenarians. **Ageing**, v. 12, n. 15, p. 15186-15195, 2020.

- MARTIN, M. A.; VANISBERGHE, D.; KOELLE, K. Insights from SARS-CoV-2 sequences. **Science**, v. 371, n. 6528, p. 466-467, 2021.
- MASCOLA, J. R.; GRAHAM, B. S.; FAUCI, A. S. SARS-CoV-2 Viral Variants—Tackling a Moving Target. **Journal of the American Medical Association**, v. 325, n. 13, p. 1261-1262, 2021.
- MATSCHKE, J. *et al.* Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. **The Lancet Neurology**, 2020.
- MAUVAIS-JARVIS, F. Aging, Male Sex, Obesity, and Metabolic Inflammation Create the Perfect Storm for COVID-19. **Diabetes**, v. 69, n. 9, p. 1857-1863, 2020.
- MEINHARDT, J. *et al.* Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. **Nature Neuroscience**, v. 24, p. 168-175, 2021.
- MENG, Y. *et al.* Sex-specific clinical characteristics and prognosis of coronavirus disease-19 infection in Wuhan, China: A retrospective study of 168 severe patients. **PLoS Pathogens**, v. 16, n. 4, 2020.
- MERKLER, A. E. *et al.* Risk of Ischemic Stroke in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) vs Patients With Influenza. **Journal of the American Medical Association Neurology**, v. 77, n. 11, p. 1366-1372, 2020.
- MESSNER, C. B. *et al.* Ultra-high-throughput clinical proteomics reveals classifiers of COVID-19 infection. **Cell Systems**, v. 11, p. 11-24, 2020.
- MEYEROWITZ, E. A. *et al.* Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. **Annals of internal medicine**, v. 20, 2020.
- MINCIULLO, P. L. *et al.* Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 64, n. 2, p. 111-126, 2016.
- MIURA, Y. *et al.* Change in N-Glycosylation of Plasma Proteins in Japanese Semisupercentenarians. **PloS one**, v. 10, n. 11, 2015.
- MIURA, Y. *et al.* Proteomic analysis of plasma proteins in Japanese semisupercentenarians. **Experimental Gerontology**, v. 46, n. 1, p. 81-85, 2011.
- MONTESANTO, A. *et al.* Demographic, genetic and phenotypic characteristics of centenarians in Italy: Focus on gender differences. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 165, p. 68–74, 2017.
- MONTGOMERY, R. R. Age-related alterations in immune responses to West Nile virus infection. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 187, n. 1, p. 26-34, 2017.

- MUELLER, A. L.; MCNAMARA, M. S.; SINCLAIR, D. A. Why does COVID-19 disproportionately affect older people? **Aging**, v. 12, n. 10, p. 9959-9981, 2020.
- NASSAR, M. S. *et al.* Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) infection: epidemiology, pathogenesis and clinical characteristics. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 15, p. 4956-4961, 2018.
- NEGRI, E. M. *et al.* Heparin Therapy Improving Hypoxia in COVID-19 Patients – A Case Series. **Frontiers in Physiology**, 2020.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.573044>.
- NELSON, G. *et al.* Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBD-ACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations (501Y.V2 variant) induces conformational change greater than N501Y mutant alone, potentially resulting in an escape mutant. **bioRxiv**, 2021. doi:
<https://doi.org/10.1101/2021.01.13.426558>
- NOGRADY, B. **How kids' immune systems can evade COVID**. 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/d41586-020-03496-7>. Acesso em 21 abr. 2021.
- NONAKA, C. K. V. *et al.* Genomic Evidence of a Sars-Cov-2 Reinfection Case With E484K Spike Mutation in Brazil. **Preprints**, 2021010132, 2021. doi:
 10.20944/preprints202101.0132.v1.
- O'GRADY, C. COVID-19 affects men and women differently. So why don't clinical trials report gender data? **Science**, 2021. doi:10.1126/science.abk2837
- OFFICE FOR NATIONAL STATISTICS. **Coronavirus (COVID-19) latest insights: Infections**. 2021. Disponível em:
<https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/articles/coronaviruscovid19latestinsights/infections>. Acesso em 15 out. 2021.
- OLIVEROS, J. C. **Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams**. 2007-2015. Disponível em:
<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>. Acesso em 17 mai. 2021.
- ONDER, G.; REZZA, G.; BRUSAFERRO, S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 18, p. 1775-1776, 2020.
- ORSI, F. A. *et al.* Guidance on diagnosis, prevention and treatment of thromboembolic complications in COVID-19: a position paper of the Brazilian Society of Thrombosis and Hemostasis and the Thrombosis and Hemostasis Committee of

- the Brazilian Association of Hematology, Hemotherapy and Cellular Therapy. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 42, n. 4, p. 300-308, 2020.
- OXLEY, T. J. *et al.* Large-Vessel Stroke as a Presenting Feature of Covid-19 in the Young. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 20, 2020.
- PAL, R.; BHANSALI, A. COVID-19, diabetes mellitus and ACE2: The conundrum. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 162, 2020.
- PATEL, S. K. *et al.* From gene to protein - experimental and clinical studies of ACE2 in blood pressure control and arterial hypertension. **Frontiers in Physiology**, v. 5, n. 227, 2014.
- PAVLOV, V. *et al.* COVID-19-Related Intracerebral Hemorrhage. **Frontiers in Aging Neuroscience**, 2020. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.600172>
- PEIRIS, J. S. M. *et al.* Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. **The Lancet**, v. 361, n. 9371, p. 1767-1772, 2003.
- PEKAR, J. *et al.* Timing the SARS-CoV-2 index case in Hubei province. **Science**, v. 372, n. 6540, 2021.
- PÉREZ, M. M. *et al.* Cholinergic and lipid mediators crosstalk in Covid-19 and the impact of glucocorticoid therapy. **medRxiv**, 2021. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.01.07.20248970>
- PERRIN, R. *et al.* Into the looking glass: Post-viral syndrome post COVID-19. **Medical Hypotheses**, v. 144, 2020.
- PETRI, B.; SANZ, M.-J. Neutrophil chemotaxis. **Cell and Tissue Research**, v. 371, n. 3, p. 425–436, 2018.
- PINTO, B. G. G. *et al.* ACE2 Expression Is Increased in the Lungs of Patients With Comorbidities Associated With Severe COVID-19. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 222, n. 4, p. 556-563, 2020.
- PLANTE, J. A. *et al.* Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. **Nature**, v. 592, p. 116–121, 2021.
- POILLON, G. *et al.* Cerebral venous thrombosis associated with COVID-19 infection: Causality or coincidence? **Journal of Neuroradiology**, v. 48, n. 2, p. 121-124, 2021.
- POPKIN, B. M. *et al.* Individuals with obesity and COVID-19: A global perspective on the epidemiology and biological relationships. **Obesity Reviews**, v. 21, n. 11, 2020.
- PUBLIC HEALTH ENGLAND. **PHE investigating a novel variant of COVID-19.**

2020. Disponível em: <https://www.gov.uk/government/news/phe-investigating-a-novel-variant-of-covid-19>. Acesso em 20 abr. 2021.

QI, X.; KEITH, K. A.; HUANG, J. H. COVID-19 and stroke: A review. **Brain Hemorrhages**, v. 2, n. 1, 2021.

QIN, Chen *et al.* Alteration of lipid profile and value of lipids in the prediction of the length of hospital stay in COVID-19 pneumonia patients. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 11, p. 6144-6152, 2020.

QIN, Chuan *et al.* Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 762-768. 2020.

QUAYE, I. K. Haptoglobin, inflammation and disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 8, p. 735-742, 2008.

RAMBAUT, A. *et al.* Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. *Virological*, 2020. Disponível em: <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>. Acesso em 20 abr. 2021.

RAUDVERE, U. *et al.* g:Profiler: a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists (2019 update) - <http://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. 1, p. 191-198, 2019.

RICHARDSON, S. *et al.* Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 20, p. 2052-2059, 2020.

RITCHIE, H. *et al.* **Coronavirus Pandemic (COVID-19) - OurWorldInData.org**. 2020. Disponível em: <https://ourworldindata.org/covid-deaths/>. Acesso em 23 nov. 2021.

RIVELLESE, F.; PREDILETTO, E. ACE2 at the centre of COVID-19 from paucisymptomatic infections to severe pneumonia. **Autoimmunity reviews**, v. 19, n. 6, 2020.

RODRIGUES, T. S. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. **Journal of Experimental Medicine**, v. 218, n. 3, 2021.

- RONCON, L. *et al.* Diabetic patients with COVID-19 infection are at higher risk of ICU admission and poor short-term outcome. **Journal of Clinical Virology**, v. 127, 2020.
- ROSENTHAL, K. S. Three Properties of SARS-CoV-2 That Promote COVID-19. **Infectious Diseases in Clinical Practice**, v. 28, n. 6, p. 324–326, 2020.
- ROTHER, C. *et al.* Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 970-971, 2020.
- RUAN, Q. *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.
- SABINO, E. C. *et al.* Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence. **The Lancet**, v. 397, n. 10273, p. 452-455, 2021.
- SALONIA, A. *et al.* Severely low testosterone in males with COVID-19: A case-control study. **Andrology**, v. 9, n. 4, 2021.
- SANTOS, J. C.; PASSOS, G. A. The high infectivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 is associated with increased interaction force between Spike-ACE2 caused by the viral N501Y mutation. **bioRxiv**, 2021. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.29.424708>
- SAYED, N. *et al.* An inflammatory aging clock (iAge) based on deep learning tracks multimorbidity, immunosenescence, frailty and cardiovascular aging. **Nature Aging**, v. 1, p. 598-615, 2021.
- SCHAER, D. J. *et al.* Haptoglobin, hemopexin, and related defense pathways - basic science, clinical perspectives, and drug development. **Frontiers in Physiology**, v. 5, 2014.
- SCHNEIDER, W. M. *et al.* Genome-Scale Identification of SARS-CoV-2 and Pan-coronavirus Host Factor Networks. **Cell**, v. 184, p. 120-132, 2021.
- SHANG, J. *et al.* Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. **Nature**, v. 581, n. 7807, p. 221-224, 2020.
- SHEN, B. *et al.* Proteomic and Metabolomic Characterization of COVID-19 Patient Sera. **Cell**, v. 182, n. 1, p. 59-72, 2020.
- SMITH, R. Did we Eradicate SARS? Lessons Learned and the Way Forward. **American Journal of Biomedical Science & Research**, v. 6, n., 2, 2019.
- SOLERTE, S. B. *et al.* Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibition in COVID-19. **Acta Diabetologica**, v. 57, n. 7, p. 779-783, 2020.

- SOROKIN, A. V. *et al.* COVID-19-Associated dyslipidemia: Implications for mechanism of impaired resolution and novel therapeutic approaches. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 8, p. 9843-9853, 2020.
- SVOBODA, T. *et al.* Public health measures to control the spread of the severe acute respiratory syndrome during the outbreak in Toronto. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 23, p. 2352-2361, 2004.
- SYAHRUL, S. *et al.* Hemorrhagic and ischemic stroke in patients with coronavirus disease 2019: incidence, risk factors, and pathogenesis - a systematic review and meta-analysis. **F1000Research**, v. 10, n. 34, 2021.
- TAEFEHSHOKR, N. *et al.* Covid-19: Perspectives on Innate Immune Evasion. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. 580641, 2020.
- TAKAHASHI, T. *et al.* Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. **Nature**, 2020.
- TAN, L. *et al.* Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 33, 2020.
- TANG, N. *et al.* Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 5, p. 1094-1099, 2020.
- TAUBENBERGER, J. K.; MORENS, D. M. 1918 Influenza: the mother of all pandemics. **Emerging infectious diseases**, v. 12, n. 1, p. 15–22, 2006.
- TAYLOR, L. Covid-19: Brazil's spiralling crisis is increasingly affecting young people. **The BMJ**, v. 373, n. 879, 2021.
- THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. 1, p. 330-338, 2019.
- TIKELLIS, C. *et al.* Characterization of Renal Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Diabetic Nephropathy. **Hypertension**, v. 41, n. 3, p. 392–397, 2003.
- TIPNIS, S. R. *et al.* A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 43, p. 33238–33243, 2000.
- TOSIF, S. *et al.* Immune responses to SARS-CoV-2 in three children of parents with symptomatic COVID-19. **Nature Communications**, v. 11, n. 5703, 2020.
- TSANG, T.; LAM, T. H. SARS: public health measures in Hong Kong. **Respirology**, v. 8, p. 46-48, 2003.

- TURNER, J. S. *et al.* SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. **Nature**, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03647-4>
- VAIDYANATHAN, G. Coronavirus variants are spreading in India — what scientists know so far. **Nature News**, 2021. doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01274-7>.
- VAIRA, L. A. *et al.* Anosmia and Ageusia: Common Findings in COVID-19 Patients. **The Laryngoscope**, v. 130, n. 7, 2020.
- VAN DER LINDEN, S.; ROOZENBEEK, J.; COMPTON, J. Inoculating Against Fake News About COVID-19. **Frontiers in Psychology**, v. 11, 2020.
- VAN DER MADE, C. I. *et al.* Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19. **Journal of the American Medical Association**, v. 324, n. 7, p. 663-673, 2020.
- VARATHARAJ, A. *et al.* Neurological and neuropsychiatric complications of COVID-19 in 153 patients: a UK-wide surveillance study. **The Lancet Psychiatry**, v. 7, n. 10, p. 875-882, 2020.
- VARDHANA, S. A.; WOLCHOK, J. D. The many faces of the anti-COVID immune response. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 6, 2020.
- VERDECCHIA, P. *et al.* The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. **European Journal of Internal Medicine**, v. 76, p. 14–20, 2020.
- VOLOCH, C. M. *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Virology**, published online ahead of print, 2021.
- VOLZ, E. *et al.* Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. **Cell**, v. 184, n. 1, p. 64-75, 2021.
- WALLS, A. C. *et al.* Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 281-292, 2020.
- WANG, D. *et al.* Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 11, p. 1061-1069, 2020.
- WANG, G. *et al.* Low high-density lipoprotein level is correlated with the severity of COVID-19 patients: an observational study. **Lipids in Health and Disease**, v. 19, n. 1, 2020.
- WANG, R. *et al.* Genetic Screens Identify Host Factors for SARSCoV-2 and Common Cold Coronaviruses. **Cell**, v. 184, p. 106-119, 2021.

WEBB, K. *et al.* Sex and Pubertal Differences in the Type 1 Interferon Pathway Associate With Both X Chromosome Number and Serum Sex Hormone Concentration. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. 3167, 2019.

WEI, B. *et al.* Long-term positive severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 ribonucleic acid and therapeutic effect of antivirals in patients with coronavirus disease: Case reports. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v. 53, 2020.

WEI, X. *et al.* Hypolipidemia is associated with the severity of COVID-19. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 4, n. 3, p. 297-304, 2020.

WEISS, S. R.; LEIBOWITZ, J. L. Coronavirus Pathogenesis. **Advances in Virus Research**, v. 71, p. 85–164, 2011.

WILDER-SMITH, A.; CHIEW, C. J.; LEE, V. J. Can we contain the COVID-19 outbreak with the same measures as for SARS? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 102-107, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS)**. 2003. Disponível em: <https://www.who.int/csr/sars/en/WHOconsensus.pdf?ua=1>. Acesso em 10 jan. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Listings of WHO's response to COVID-19**. 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/29-06-2020-covidtimeline>. Acesso em 22 dez. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) - Saudi Arabia**. 2021c. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2021-DON317>. Acesso em 15 dez. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Middle East respiratory syndrome**. 2021b. Disponível em: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html>. Acesso em 15 dez. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Novel Coronavirus(2019-nCoV): Situation Report - 13**. 2020c. Disponível em: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200202-sitrep-13-ncov-v3.pdf>. Acesso em 16 mai. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO announces simple, easy-to-say labels for SARS-CoV-2 Variants of Interest and Concern**. 2021e. Disponível em:

<https://www.who.int/news/item/31-05-2021-who-announces-simple-easy-to-say-labels-for-sars-cov-2-variants-of-interest-and-concern>. Acesso em 01 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. 2021d. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em 14 dez. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020**. 2020b. Disponível em: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>>. Acesso em 23 dez. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO-convened global study of origins of SARS-CoV-2: China Part**. 2021a. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/who-convened-global-study-of-origins-of-sars-cov-2-china-part>. Acesso em 16 mai. 2021.

WOROBEY, M. Dissecting the early COVID-19 cases in Wuhan. **Science**, v. 374, n. 6572, 2021.

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

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

WUHAN MUNICIPAL HEALTH COMMISSION. **Report of clustering pneumonia of unknown etiology in Wuhan City**. 2019. Disponível em: <https://promedmail.org/promed-post/?id=6864153%20#COVID19>>. Acesso em 25 dez. 2020.

WYLER, E. *et al.* Transcriptomic profiling of SARS-CoV-2 infected human cell lines identifies HSP90 as target for COVID-19 therapy. **iScience**, v. 24, n. 3, 2021.

XIA, H. *et al.* Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. **Cell reports**, v. 33, n. 1, 2020.

XIA, H.; LAZARTIGUES, E. Angiotensin-converting enzyme 2 in the brain: properties and future directions. **Journal of Neurochemistry**, v. 107, n. 6, p. 1482–1494, 2008.

XU, P.; ZHOU, Q.; XU, J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. **Annals of Hematology**, 2020.

XU, Y. *et al.* Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. **Nature Medicine**, v. 26, p. 502–505, 2020.

- XUDONG, X. *et al.* Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung. **Life Sciences**, v. 78, n. 19, p. 2166–2171, 2006.
- YAGHI, S. *et al.* SARS-CoV-2 and Stroke in a New York Healthcare System. **Stroke**, v. 51, n. 7, p. 2002-2011, 2020.
- YAMAGATA, R. *et al.* Downregulation of spinal angiotensin converting enzyme 2 is involved in neuropathic pain associated with type 2 diabetes mellitus in mice. **Biochemical Pharmacology**, v. 174, 2020.
- YANG, X. *et al.* Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 6, p. 1469-1472, 2020.
- YANG, Y. *et al.* Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 146, n. 1, p. 119-127, 2020.
- YE, Q.; WANG, B.; MAO, J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. **Journal of Infection**, v. 80, n. 6, p. 607-613, 2020.
- YOON, H. E. *et al.* Age-Associated Changes in the Vascular Renin-Angiotensin System in Mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–14, 2016.
- YURKOVETSKIY, L. *et al.* Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. **Cell**, v. 183, n. 3, p. 739-751, 2020.
- ZAKI, A. M. *et al.* Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. **The New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 19, p. 1814-1820, 2012.
- ZHANG, B. *et al.* Immune Phenotyping Based on the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and IgG Level Predicts Disease Severity and Outcome for Patients With COVID-19. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 7, n. 157, 2020.
- ZHANG, H. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. **Intensive Care Medicine**, v. 46, p. 586–590, 2020.
- ZHENG, H-Y. *et al.* Longitudinal transcriptome analyses show robust T cell immunity during recovery from COVID-19. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 294, 2020.

- ZHONG, J. *et al.* Angiotensin-Converting Enzyme 2 Suppresses Pathological Hypertrophy, Myocardial Fibrosis, and Cardiac Dysfunction. **Circulation**, v. 122, n. 7, p. 717–728, 2010.
- ZHONG, N. *et al.* Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. **The Lancet**, v. 362, n. 9393, p. 1353–1358, 2003.
- ZHOU, F. *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **The Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1054-1062, 2020.
- ZHOU, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, p. 270–273, 2020.
- ZHU, N. *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 283, p. 727-733, 2020.
- ZIEGLER, C. G. K. *et al.* SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. **Cell**, v. 181, n. 5, p. 1016-1035, 2020.
- ZOU, Z. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 protects from lethal avian influenza A H5N1 infections. **Nature Communications**, v. 5, n. 3594, 2014.
- ZUCMAN, N. *et al.* Severe Reinfection With South African Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Variant 501Y.V2. **Clinical Infectious Diseases**, v. 73, n. 10, 2021.
- ZUIN, M. *et al.* Arterial hypertension and risk of death in patients with COVID-19 infection: Systematic review and meta-analysis. **Journal of Infection**, v. 81, n. 1, p. 84-86, 2020.
- ZUMLA, A.; HUI, D. S.; PERLMAN, S. Middle East respiratory syndrome. **The Lancet**, v. 386, n. 9997, p. 995–1007, 2015.
- ZUO, Y. *et al.* Neutrophil extracellular traps in COVID-19. **JCI Insight**, v. 5, n. 11, 2020.