



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CCB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E DO
DESENVOLVIMENTO

Bruno Costa Coelho

**COVID-19 E A TEMPESTADE DE CITOCINAS: INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS EM GENES DA *IL-1 β* NO PROGNÓSTICO DA INFECÇÃO**

Florianópolis

2022

Bruno Costa Coelho

**COVID-19 E A TEMPESTADE DE CITOCINAS: INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS EM GENES DA *IL-1β* NO PROGNÓSTICO DA INFECÇÃO**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-
Graduação de Biologia Celular e do Desenvolvimento da
Universidade Federal de Santa Catarina.
Orientadora: Prof^a. Dra. Juliana Dal-Ri Lindenau

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Costa Coelho, Bruno
COVID-19 E A TEMPESTADE DE CITOCINAS: INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS EM GENES DA IL-1? NO PROGNÓSTICO DA INFECÇÃO /
Bruno Costa Coelho ; orientador, Juliana Dal-Ri Lindenau,
2022.

77 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento,
Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Biologia Celular e do Desenvolvimento. 2. Biologia
Celular e do Desenvolvimento. 3. COVID-19. 4. Polimorfismo
de Nucleotídeo Único. 5. IL-1?. I. Dal-Ri Lindenau, Juliana .
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento. III.
Título.

Bruno Costa Coelho

**COVID-19 e a tempestade de citocinas: influência de polimorfismos em genes da IL-1 β
no prognóstico da infecção**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Dr.^a Ândrea Kely Campos Ribeiro dos Santos
Universidade Federal do Pará - UFPA

Prof.^a Dr. Ricardo Castilho Garcez
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia Celular e Desenvolvimento

Prof.^a Dr.^a Evelise Maria Nazari
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof.^a Dr.^a Juliana Dal-Ri Lindenau
Orientadora Florianópolis, 2022

Florianópolis, 2023

Este trabalho é dedicado aos meus queridos pais e irmão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, e incontestavelmente, agradeço aos meus pais e irmão, por desde sempre me influenciarem e darem o aporte necessário para que eu pudesse trilhar meus sonhos e conquistar meus objetivos.

Ao Gabriel, aquele que está sempre ao meu lado, me incentivando, acalmando e auxiliando quando necessário.

À minha orientadora, Prof^ª Dr^ª Juliana Dal-Ri Lindenau, pela oportunidade de estar realizando este trabalho, além de todo conhecimento transmitido, paciência, orientação e empatia, dado o modelo de ensino e dificuldades que a pandemia nos proporcionou.

Ao Laboratório de Polimorfismos Genéticos Humanos (LAPOGE) e ao Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB-UFSC) por toda disposição e apoio de infraestrutura laboratorial que permitiram a execução deste trabalho.

Aos meus amigos, por sempre acreditarem em mim e me incentivaram a trilhar mais essa jornada.

À Gisleine, exemplo de pessoa, profissional e líder, obrigado por todas às oportunidades a mim concedidas, por sempre acreditar em meu potencial e flexibilizar minha rotina para que eu pudesse encerrar esta etapa tão importante em minha carreira.

Aos meus colegas de trabalho, pela rotineira ampla troca de conhecimento e experiências, além de todo apoio necessário.

Agradeço a todos os alunos, professores e demais funcionários da Universidade Federal de Santa Catarina, por toda a troca de experiência realizada durante o mestrado e suporte quando era preciso.

Por fim, a todos aqueles que, com maior ou menor intensidade, contribuíram de alguma forma para que eu pudesse concluir mais um ciclo em minha vida.

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém, leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos.” (Paulo Baleki)

RESUMO

A COVID-19, infecção causada pelo vírus Sars-CoV-2, é uma doença respiratória que pode facilmente disseminar-se a outros órgãos e sistemas devido à sua complexa fisiopatologia e participação de inúmeras moléculas inflamatórias, as quais originam sua principal característica, a tempestade de citocinas. Dentre estas moléculas, destaca-se a IL-1 β , uma proteína pró inflamatória, cujos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nos genes que à expressam já foram associadas ao pior prognóstico de diversas enfermidades, incluindo a COVID-19. Neste estudo, verificamos qual o papel de polimorfismos localizados na região promotora do gene da IL-1 β na gravidade da infecção. A população do estudo foi composta por 205 indivíduos, sendo 138 pacientes internados no Hospital Universitário (HU), enquanto os outros 67 são pacientes aleatórios de Santa Catarina. Os SNP -511 A/G (rs1143627), -31 A/G (rs16944) e Intron 2 (rs1143629) foram genotipados por discriminação alélica através da técnica de PCR em tempo real. Os ensaios foram realizados por conjuntos de genotipagem TaqMan® SNP da Applied Biosystem, segundo a orientação do fabricante. Logo após, foi verificado que as amostras, nos polimorfismos analisados, não se encontravam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Das três variantes genéticas avaliadas, ao se tratar de gravidade da infecção, tanto a rs1143629 e rs16944 não apresentaram valores estatísticos com significância ao realizar a comparação entre o grupo dos hospitalizados e não hospitalizados. Entretanto, ao se tratar do polimorfismo rs1143627, portadores do alelo G têm duas vezes mais risco de desenvolver a forma grave da doença, e conseqüentemente, necessitar de intervenção hospitalar [OR = 2,045, IC 95% (1,063; 3,980), valor de p = 0,032]. Com relação à expressão da IL-1 β , foi observado que indivíduos hospitalizados apresentam haplótipos associados ao baixo nível expresso desta citocina. As análises do presente estudo demonstraram pela primeira vez associam entre os polimorfismos da região promotora do gene da *IL-1 β* e um pior prognóstico da infecção em uma população miscigenada, como a brasileira.

Palavras-chave: Região promotora. IL-1 β . Polimorfismos. COVID-19.

ABSTRACT

COVID-19, an infection caused by the Sars-CoV-2 virus, is a respiratory disease that can easily spread to other organs and systems due to its complex pathophysiology and the participation of numerous inflammatory molecules, which give rise to its main characteristic, the cytokine storm. Among these molecules, IL-1B stands out, a pro-inflammatory protein, whose single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the genes that express it have already been associated with a worse prognosis for several diseases, including COVID-19. In this study, we verified the role of polymorphisms located in the promoter region of the IL-1 β gene in the severity of infection. The study population consisted of 205 individuals, 138 of whom were hospitalized at the University Hospital (HU), while the other 67 were random patients from Santa Catarina. The -511 A/G (rs1143627), -31 A/G (rs16944) and Intron 2 (rs1143629) SNPs were genotyped by allelic discrimination using the real-time PCR technique. Assays were performed by Applied Biosystem's TaqMan® SNP Genotyping Kits as per the manufacturer's directions. Soon after, it was verified that the samples, in the analyzed polymorphisms, were not in Hardy-Weinberg equilibrium. Of the three genetic variants evaluated, when dealing with the severity of the infection, both rs1143629 and rs16944 did not present statistically significant values when comparing the group of hospitalized and non-hospitalized patients. However, when dealing with the rs1143627 polymorphism, carriers of the G allele are twice as likely to develop the severe form of the disease and, consequently, require hospital intervention [OR = 2.045, 95% CI (1.063; 3.980), value of $p = 0.032$]. Regarding the expression of IL-1 β , it was observed that hospitalized individuals have haplotypes associated with the low expressed level of this cytokine. The analyzes of the present study demonstrate for the first time an association between polymorphisms in the promoter region of the *IL-1 β* gene and a worse prognosis of infection in a mixed-race population, such as the Brazilian one.

Keywords: Promoter region. IL-1 β . Polymorphisms. COVID-19.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Complicações extrapulmonares associadas a COVID-19.....	211
Figura 2 Vias de sinalização inflamatória da COVID-19.....	222
Figura 3 Vias de sinalização para a liberação controlada de IL-1 β	255

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Sequências das sondas específicas referentes aos polimorfismos rs1143627, rs16944 e rs1143629 e, em colchetes, o local onde ocorre a troca de um único nucleotídeo.	30
Tabela 2 Componentes utilizados para a reação de qPCR.	31
Tabela 3 Programa de ciclagem da qPCR.	31
Tabela 4 Classificação dos haplótipos de acordo com o nível de expressão de IL-1 β	33
Tabela 5 Caracterização das amostras de acordo com as variáveis sociodemográficas e epidemiológicas entre casos leve e grave de COVID-19.	34
Tabela 6 Caracterização clínica de acordo com sintomas e fatores de riscos.	36
Tabela 7 Relação entre os polimorfismos e as variáveis clínicas dentro da categoria dos Não hospitalizados.	38
Tabela 8 Relação entre os polimorfismos e as variáveis clínicas dentro da categoria dos Hospitalizados.	39
Tabela 9 Comparação entre quadros leve e grave em relação às variantes analisadas.	40
Tabela 10 Relação entre os prováveis níveis de expressão de IL-1 β e as variáveis avaliadas.	40
Tabela 11 Análise das variáveis clínicas dos pacientes hospitalizados de acordo com o nível de expressão de IL-1 β	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL microlitro

μm micrometro

A alelo A

AVC acidente vascular cerebral

BCG Bacilo de Calmette e Guérin

CHIKV chikungunya

CIVD Coagulação Intravascular Disseminada

COVID-19 Doença por coronavírus 2019 do inglês, *corona virus disease-19*

CoVs coronavírus

DAMPs Padrões Moleculares Associados a Danos, do inglês *Damage-associated molecular pattern*

DNA Ácido desoxirribonucleico, do inglês *desoxiribonucleic acid*

dsRNA do inglês, *double - stranded RNA*

ECA2 enzima conversora de angiotensina 2

EDTA ácido etilendiamino tetra-acético, do inglês *ethylenediaminetetraacetic acid*
et al. “e outros”, do latim, et alii

FRET do Inglês, *Förster (or fluorescence) resonance energy transfer*

g aceleração da gravidade

G alelo G

GRS escore de risco genético

HAS hipertensão arterial sistêmica

HCoVs coronavírus humanos

HMBG1 proteína da caixa 1, do inglês *High mobility group box 1*

HPV papilomavírus humano

HU Hospital Universitário

IgG imunoglobulina G

IgM imunoglobulina M

IL interleucinas

IL-1 interleucina 1

IL-1 interleucina 6

IL-10 interleucina 10
IL-17 interleucina 17
IL-18 interleucina 18
IL-1Ra antagonista de receptor de interleucina 1
IL-1 α interleucina 1 alfa
IL-1 β gene da interleucina 1 beta
IL-1 β interleucina 1 beta
IL-2 interleucina 2
IL-33 interleucina 33
IL-36Ra antagonista do receptor da interleucina 36
IL-36 α interleucina 36 alfa
IL-36 β interleucina 36 beta
IL-36 γ interleucina 36 gama
IL-37 interleucina 37
IL-38 interleucina 38
IL-4 interleucina 4
IL-5 interleucina 5
IMC índice de massa corporal
INF interferons
IST infecção sexualmente transmissível
kb quilobase
LAPOGE Laboratório de Polimorfismos Genéticos
Mers-CoV Síndrome Respiratória do Oriente Médio-CoV
min minutos
MIS-C Síndrome Inflamatória Multissistêmica em Crianças, do inglês *Paediatric inflammatory multisystem syndrome*
ng nanograma
NLR receptores intracitoplasmáticos do tipo NOD, do inglês *NOD Like Receptors*
NLRP3 domínio pirina da família NLR contendo 3, do inglês *NLR family pyrin domain containing 3*
nm nanômetros
nM nanomolar
OMS Organização Mundial da Saúde
OR odds ratio

p probabilidade

PAMPs Padrões Moleculares Associados a Patógenos, do inglês *Pathogen Associated Molecular Patterns*

PRRs receptores de reconhecimento de padrões , do inglês *Pattern recognition receptor*

qPCR reação em cadeia da polimerase quantitativa

RAS sistema renina-angiotensina

RLR receptores do tipo RIG, do inglês *Rig-I-like receptor*

RNA Ácido Ribonucleico, do inglês *ribonucleic acid*

ROS espécie reativa de oxigênio, do inglês *reactive oxygen species*

RT-Qpcr reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa em tempo real

Sars-CoV Síndrome Respiratória Aguda Grave-CoV

Sars-CoV-2 coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave

SD desvio padrão da média

SDRA Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

seg segundos

SNPs polimorfismo de nucleotídeo único

ssRNA do inglês, *single-stranded RNA*

TB tuberculose

TEV tromboembolismo venoso

Th1 do inglês, *T helper 1*

TLRs receptores do tipo Toll, do inglês *Toll-like receptors*

TMPRSS2 Protease Transmembranar, a serina 2, do inglês *Transmembrane protease, serine 2*

TNF fator de necrose tumoral

U unidade

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	A FAMÍLIA CORONAVIRIDAE E O NOVO SARS-COV-2	17
1.2	INTERLEUCINAS E A COVID-19	24
2	JUSTIFICATIVA	27
3	OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	ASPECTOS ÉTICOS	28
4.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	29
4.3	EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO	29
4.4	GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS	29
4.5	VARIÁVEIS CLÍNICAS	32
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
5	RESULTADOS	34
6	DISCUSSÃO	43
7	CONCLUSÃO	51
8	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

1.1 A FAMÍLIA *CORONAVIRIDAE* E O NOVO SARS-COV-2

O sistema imune é composto por diversas células e moléculas cuja principal função é defender o organismo contra agentes estranhos. A resposta conjunta e coordenada desses elementos a fim de manter a homeostasia do corpo é chamada de resposta imunológica (ABBAS, 2015).

A resposta imune é dividida em duas categorias: resposta imune inata e resposta imune adaptativa. Ao passo que a resposta inata envolve barreiras físicas, químicas e a participação de algumas células de defesa, a resposta adaptativa envolve principalmente os produtos produzidos pelos linfócitos T: as citocinas e anticorpos (TERRA et al., 2012).

Dentre as diversas doenças em que o sistema imunológico participa ativamente, destacam-se as infecções, enfermidades que são causadas por um agente infeccioso, sejam vírus, bactérias, protozoários ou fungos (MACHADO et al., 2004).

É reconhecido que a capacidade do sistema imunológico de ter sucesso ou insucesso em permitir que uma infecção se multiplique pelo hospedeiro ou em combatê-la depende de fatores intrínsecos do indivíduo, como fatores genéticos, imunidade preexistente, idade, infecções prévias ou em curso e o microbioma do hospedeiro, como também extrínsecos relacionados à fatores de virulência virais, que envolvem capacidade de replicação, codificação de mecanismos de evasão imune, e o potencial de estabelecer a infecção. Além disso, fatores ambientais também são potentes influenciadores da modulação genotípica e fenotípica de indivíduos e microrganismos (CALEGARO, 2001; SANTOS; VARAVALLO, 2011; OXENIUS; ZAJAC, 2022).

As infecções podem acometer os mais variados sistemas do corpo humano, porém nos últimos anos percebeu-se um aumento notável de casos de infecções respiratórias devido ao crescimento da população de indivíduos imunocomprometidos e ao surgimento de novas cepas virais (MAEDA; NORONHA, 2010). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2015), definem-se como doenças respiratórias, as doenças ou infecções que ocorrem no trato respiratório, tanto superior como inferior, nas quais há a obstrução da passagem do ar, tanto a nível nasal quanto a nível bronquiolar e pulmonar. Elas variam desde infecções agudas, como pneumonias e resfriados comuns, a infecções mais graves, como a tuberculose (FILHO et al., 2017).

Em se tratando de viroses respiratórias, estas podem ser divididas em dois grandes grupos de acordo com o ácido nucléico presente no vírus: grupo RNA (do inglês, *ribonucleic acid*) (mixoviroses, picornaviroses, reoviroses, arenaviroses, coronaviroses e togaviroses) e o grupo DNA (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*) (poxviroses, papovaviroses, adenoviroses e herpesviroses) (MAEDA; NORONHA, 2010).

No final do ano de 2019, um surto de pneumonia sem etiologia conhecida atingiu diversas pessoas na cidade de Wuhan, na China. Com isso, um novo patógeno da grande família do coronavírus (CoVs) capaz de infectar humanos é descoberto, o coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (da sigla em inglês, *SARS-CoV-2*) (HSU; CHIA; LIM, 2020).

Sabe-se que a família do CoV é dividida em quatro gêneros: alfa-coronavírus, beta-coronavírus, gama-coronavírus e delta-coronavírus (YANG; LEIBOWITZ, 2015). Até a chegada do novo SARS-CoV-2, haviam sido identificados seis coronavírus humanos (HCoVs), incluindo os alfa-CoVs HCoVs-NL63 e HCoVs-229E e os beta-CoVs HCoVs-OC43, HCoVs-HKU1, Síndrome Respiratória Aguda Grave-CoV (SARS-CoV) e Síndrome Respiratória do Oriente Médio-CoV (MERS-CoV) (WU et al., 2020).

Os CoVs podem causar doenças respiratórias, entéricas, hepáticas e neurológicas em uma ampla gama de espécies de vertebrados (WEISS; LEIBOWITZ, 2007). Embora mais comumente as principais infecções causadas por estes vírus sejam de âmbito respiratório leve, as espécies MERS-CoV e SARS-CoV estão associados a um desfecho mais grave da infecção, podendo evoluir para quadros mais sérios e, até mesmo, levar indivíduos infectados à óbito (ROTA et al., 2003; ZAKI et al., 2012).

Os vírus da família *Coronaviridae* são envelopados e possuem um genoma de RNA fita simples, de sentido positivo, variando de 26 a 32 kb de comprimento, sendo esta família a que têm o maior genoma considerando os vírus de RNA (MALIK, 2020; ZHU et al., 2020). Após o sequenciamento, descobriu-se que o novo SARS-CoV-2, causador da COVID-19 (do inglês, *corona virus disease*, enquanto 19 refere-se ao ano de 2019 que começaram a surgir casos), assim como o SARS-CoV e MERS-CoV, também pertence ao gênero beta-coronavírus, possuindo 79,5% e 50% de homologia entre eles, respectivamente (KOYAMA; PLATT; PARIDA, 2020).

Além disso, os coronavírus são esféricos, possuem em torno de 125nm de diâmetro e seu genoma encontra-se dentro de uma cápside rodeada exteriormente por um invólucro essencialmente lipídico. Este invólucro é composto de quatro proteínas estruturais: Membrana (M), Nucleocapsídeo (N), Envelope (E) e Spike (S); a qual se destaca por formar projeções no exterior do vírus, dando o aspecto semelhante a uma coroa solar, do qual deriva o nome

coronavírus (do Latim, *corona*) (BARCENA et al., 2009; ESTEVES, 2020; MALIK, 2020).

Ao passo que os alfas e beta-coronavírus parecem ser originários de mamíferos, principalmente de morcegos, os gamas e delta-coronavírus são originários de suínos e aves (LIMA; SOUSA; LIMA, 2020). Uma vez que a replicação viral ocorre de forma intracelular no hospedeiro através da RNA polimerase, uma proteína sintetizada pelo próprio vírus e que possui como características a alta taxa de erro durante a síntese das cópias do genoma e a incapacidade de corrigir erros de incorporação de nucleotídeos durante a geração da nova partícula viral, as consequentes mutações na proteína responsável por ligar o vírion na célula do hospedeiro podem conferir ao vírus a capacidade de infectar uma nova espécie animal (KREUTZ et al., 2021).

Os CoVs humanos são transmitidos principalmente por gotículas respiratórias ($>5 \mu\text{m}$) e aerossóis ($\leq 5 \mu\text{m}$), seja por contato direto com pessoas infectadas ou superfícies contaminadas (HARRISON; LIN; WANG, 2020; PRATHER; WANG; SCHOOLEY, 2020). Vale ressaltar que estudos demonstram que o tamanho das gotículas respiratórias pode afetar o curso da doença. Por exemplo, em se tratando de SARS-CoV-2, uma vez que este vírus se replica três vezes mais rápido que o SARS-CoV, pesquisas demonstram que aerossóis contendo vírus submícrons são transferidos para a região alveolar dos pulmões, podendo se espalhar rapidamente para a faringe, de onde poderá ser transmitido antes que a resposta imune inata seja ativada e o indivíduo se torne sintomático (PRATHER; WANG; SCHOOLEY, 2020).

Ainda sobre sua disseminação, segundo Lauer et al (2020), o período de incubação do vírus tem um intervalo de dois a 14 dias, porém o período médio é de cinco dias. Após o início dos sintomas, a detecção viral pode estar presente em até duas semanas em casos mais graves, o que solidifica a necessidade do isolamento de sete a 14 dias a partir do início dos sintomas (CEVIK; BAMFORD; HO, 2020).

Devido a sua alta transmissibilidade e por inúmeros países terem relatado casos de COVID-19, em março de 2020 a OMS torna oficial que uma nova pandemia se abateu sobre o mundo (OLIVEIRA; MORAIS, 2020).

Assim como nas demais infecções virais, a primeira etapa para que um indivíduo venha a contrair a infecção é a ligação do vírus a uma célula hospedeira através de seu receptor alvo (CEVIK et al., 2020). Em relação ao SARS-CoV-2, a proteína Spike é a principal responsável pela mediação durante essa ligação, pois o domínio de ligação ao receptor está contido na subunidade S1 desta proteína, que irá se ligar ao domínio peptidase da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) (CEVIK; BAMFORD; HO, 2020). Simultaneamente, a proteína S ainda se liga a uma proteína celular transmembrana, a protease serina 2 (TMPRSS2), que é expressa,

assim como a ECA2, principalmente nas células epiteliais do trato respiratório e possui um papel fundamental da clivagem da proteína S (HOFFMANN et al., 2020).

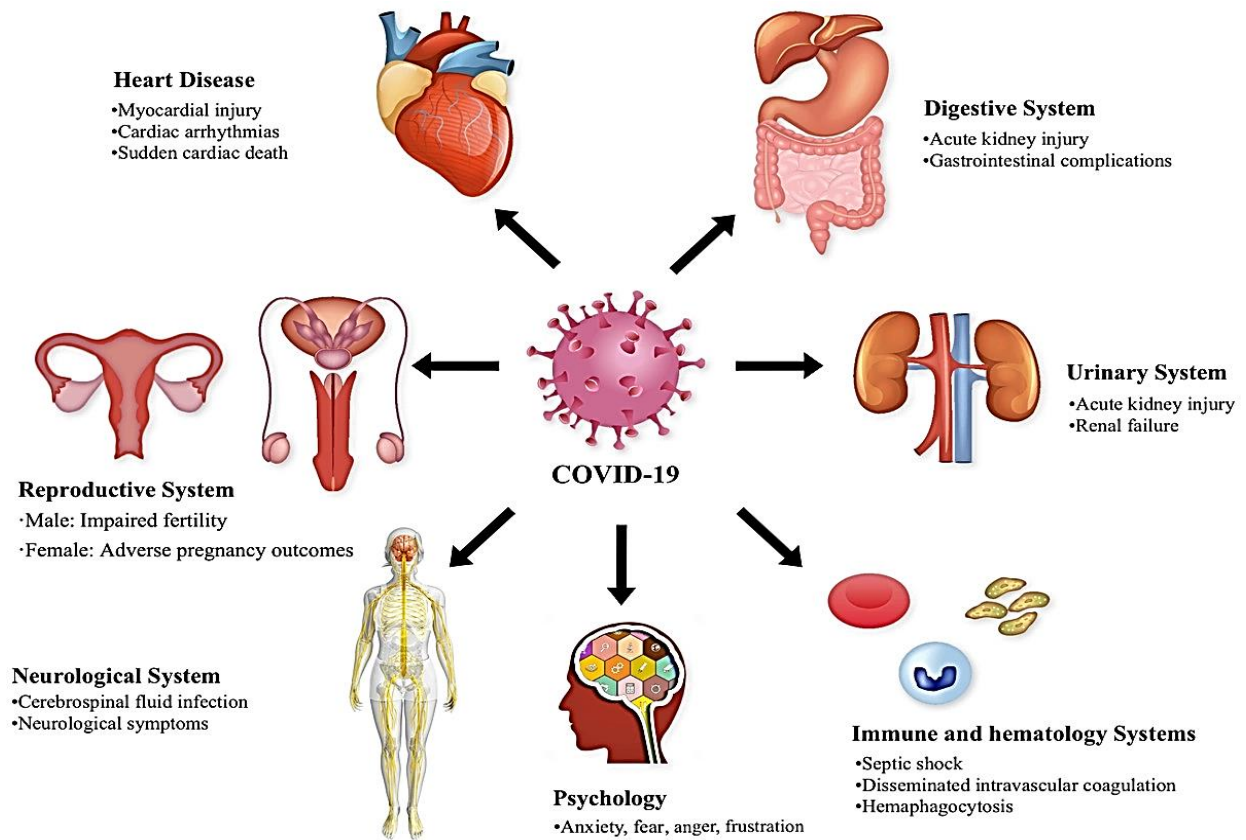
Além disso, a resposta imune silenciada após a infecção é outro fator relacionado diretamente ao alto potencial de transmissão do SARS-CoV-2 (O'BRIEN et al., 2020). Sabe-se que são necessários receptores para identificação da infecção viral, como receptores do tipo Toll (TLRs), RIG Like Receptors (RLR) e NOD Like Receptors (NLR), estes que quando ativados iniciam um processo no organismo de síntese de citocinas que modulam a resposta imunológica e inflamatória, como interferons (INF) tipo I, II e III, e as interleucinas (IL) 1, 6 e 18, maturadas após à montagem do inflamassoma NLRP3 (MORRIS et al., 2020; TAKAHASHI et al., 2020).

Após a replicação e a liberação do vírus no tecido pulmonar, os primeiros sintomas a aparecerem podem ser: febre, mialgia, cefaleia e sintomas respiratórios (KLUYTMANS et al., 2020). No entanto, sintomas gastrointestinais e complicações cardiovasculares também podem estar presentes durante a infecção, pois como citado anteriormente, os receptores ECA2 são encontrados mais abundantemente nas células do trato respiratório, porém, também estão presentes em outros tecidos e órgãos, como intestino, células endoteliais nos rins e vasos sanguíneos, o que pode explicar a correlação com o aparecimento de sintomas extrapulmonares, conforme demonstrado na Figura 1. Para mais, outros mecanismos podem estarem associados ao desenvolvimento destes fenótipos, como danos e morte mitocondrial, os quais estão associados a processos apoptóticos, necrose e desenvolvimento de outros sintomas (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007; MONTEIL et al., 2020).

A presença de um grande distúrbio imunológico e inflamatório em indivíduos que contraíram a COVID-19 é irrefutável (WEN et al., 2020). Vale ressaltar ainda que em casos mais graves, 20% dos pacientes que necessitam de internação podem desenvolver posteriormente pneumonia e Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), uma doença em que os achados mais frequentes envolvem dano alveolar difuso, membranas hialinas ricas em fibrina, aumento da permeabilidade das células epiteliais e endoteliais, extravasamento de líquido para o interstício pulmonar, hipóxia e insuficiência respiratória (CARSANA et al., 2020; FOX et al., 2020; XU et al., 2020).

Embora pacientes adultos, quando diagnosticados com COVID-19, possam evoluir para quadros mais graves do que crianças, um pior desfecho clínico também pode aparecer na população juvenil decorrente dessa infecção, denominado Síndrome Inflamatória Multissistêmica em Crianças (MIS-C) (DUFORT et al., 2020; LI et al., 2020; RAWAT et al., 2020).

Figura 1 Complicações extrapulmonares associadas a COVID-19



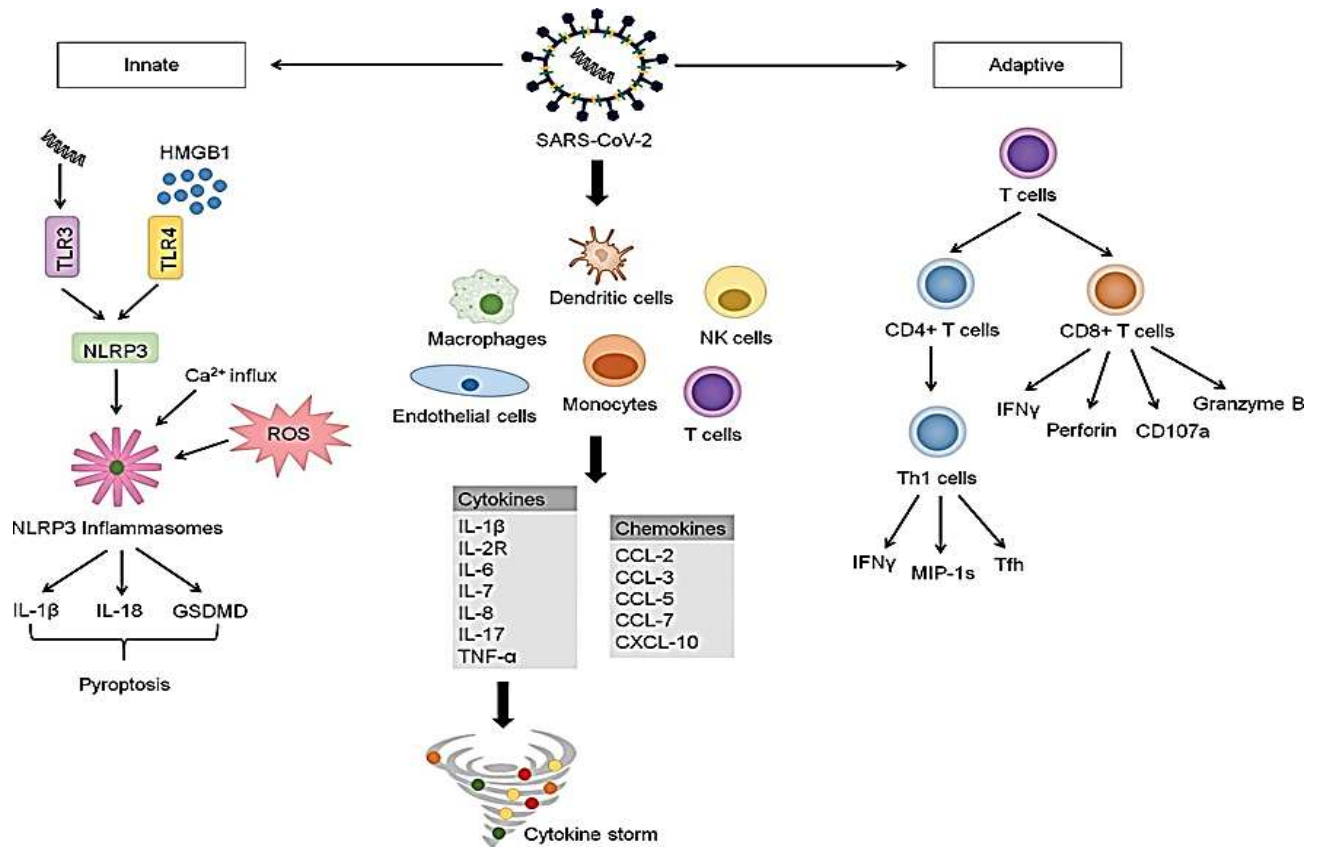
Pelo fato de ECA2 estar presente em diversos órgãos e sistemas humanos, a infecção pelo Sars-CoV-2 pode estender-se para além do trato respiratório, culminando em sintomas e sequelas por todo o organismo. FONTE (ZHENG et al., 2021)

No entanto, segundo Morris et al (2020), a SDRA oriunda de pacientes com COVID-19 difere da SDRA associada a outros vírus respiratórios. Isso se deve principalmente a presença de coagulopatias adjacentes, como Coagulação Intravascular Disseminada (CIVD), Tromboembolismo Venoso (TEV) e uma fibrinólise limitada (RANUCCI et al., 2020; ROSSI, 2020).

Além disso, alguns fenômenos que ocorrem durante a infecção conferem a COVID-19 uma de suas principais características, a tempestade de citocinas. Alguns desses fenômenos são: (I) a presença de histonas extracelulares, (II) participação da proteína da caixa 1 (do inglês *High mobility group box 1* - HMGB1), (III) envolvimento da HMGB1 na ativação de receptores TLR-4, TLR-2 e RAGE, que resultam em uma maior produção de Citocinas Pró Inflamatórias (do inglês, PIC) e Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês, ROS), (IV) participação de células

T auxiliares do tipo 1 (Th1) e a ativação de monócitos e neutrófilos com consequente infiltração pulmonar. Essas vias relacionadas com a sinalização para a tempestade de citocinas podem ser visualizadas na Figura 2 (MORRIS et al., 2020; HU; HUANG; YIN, 2021).

Figura 2 Vias de sinalização inflamatória da COVID-19.



Durante a infecção, o sistema imune inato é caracterizado por sua resposta intracelular, associada à expressão de moléculas pró-inflamatórias e facilitadoras da replicação viral. Ao mesmo tempo, o Sars-CoV-2 é capaz de ativar diferentes glóbulos brancos, os quais através de diferentes vias estimulam uma cascata de sinalização para produção de agentes inflamatórios. Além disso, após ativação do sistema inato, o sistema adaptativo auxilia na eliminação viral através das células T, produtoras de anticorpos, sendo que as CD4⁺ estão envolvidas na supressão viral, às CD8⁺ são interligadas a proteção do organismo a partir da produção de diversas citocinas. **Fonte:** (TAN; KOMARASAMY; BALASUBRAMANIAM, 2021)

Pelo fato de ser um vírus com alto teor de transmissibilidade e que, em alguns casos, leva ao desenvolvimento de uma forma assintomática da doença, foi definido como padrão ouro para diagnóstico a reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR), uma técnica rápida, sensível, precisa e específica que é capaz de conferir a atividade viral em indivíduos infectados através de materiais como fluidos da nasofaringe (KEVADIYA et al., 2021). Todavia, testes baseados em uma amplificação isotérmica que detectam diversas regiões do genoma deste vírus também já estão disponíveis no mercado, também apresentando boa sensibilidade e especificidade e tendo a vantagem de serem mais rápidos e acessíveis em termos metodológicos (CORMAN et al., 2020; ZHU et al., 2020).

Outra metodologia desenvolvida para diagnóstico é através da detecção de anticorpos Imunoglobulina M (IgM) e Imunoglobulina G (IgG). Contudo, considerando que a soroconversão ocorre aproximadamente 18 a 20 dias após a exposição ao SARS-CoV-2, este tipo de teste não é capaz de detectar a infecção de forma precoce, sendo mais utilizado para identificação de infecções passadas (DIAO et al., 2021; INFANTINO et al., 2021).

Por fim, um teste elaborado para um diagnóstico rápido é através da detecção de antígenos virais por imunodiagnóstico (KEVADIYA et al., 2020). Contudo, uma das limitações deste teste, segundo a OMS, é que os antígenos somente são detectados se o vírus estiver se replicando ativamente, sendo, portanto, esse teste utilizado principalmente para identificação de infecção precoce ou aguda.

Sabe-se que assim como outros vírus, o SARS-CoV-2 sofre mutações rotineiramente através de inclusões, deleções e recombinações de nucleotídeos (DARBY; HISCOX, 2021). Embora este sofra mutações de forma mais lenta quando comparado a outros vírus (aproximadamente 1×10^{-3} substituições de nucleotídeos por ano), novas variantes já surgiram desde o início da pandemia e outras continuam surgindo, fazendo com que seja de suma importância identificá-las. Isso se deve principalmente ao fato de que essas variantes podem alterar o curso da doença e o potencial de transmissibilidade, além de também interferirem na eficácia das vacinas (DUCHENE et al., 2020; YOUNG et al., 2020).

Além da vacina, alguns fármacos são utilizados a fim amenizar os sintomas em pessoas infectadas, como antirretrovirais, análogos de nucleosídeos e imunomoduladores (FELSENSTEIN et al., 2020). Além destes, corticosteroides e bloqueadores de citocinas também são utilizados visando minimizar a tempestade de citocinas e seus efeitos catastróficos em tecidos e órgãos (USMANI; WODA; NEWBURGER, 2013; CALABRESE; WINTHROP, 2021). Tendo em vista a importância destas moléculas durante o percurso da COVID-19 e o seu impacto na sociedade, torna-se necessária a condução de estudos avaliando os genes

codificantes dessas citocinas para melhor compreender esta doença e sua evolução em pacientes acometidos pela infecção viral.

1.2 INTERLEUCINAS E A COVID-19

Como citado anteriormente, um dos principais marcos da COVID-19, que inclusive é um alvo terapêutico, é a grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias liberadas durante a infecção pelo SARS-CoV-2, sendo as interleucinas um dos principais mediadores da inflamação presente (PEDERSON; HO, 2020).

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular, cuja função está associada ao combate a antígenos, que são expressas durante a resposta imune desencadeada pelos Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) e Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs) (CAMPOS et al., 2016; YU et al., 2021). Dentre as citocinas, destacam-se as interleucinas, as quais são produzidas pelas células envolvidas na apresentação do antígeno e na resposta imunológica, principalmente os linfócitos T auxiliares (*T helper*), atuando na regulação do sistema imunológico como mensageiras químicas (PEREIRA et al., 2009).

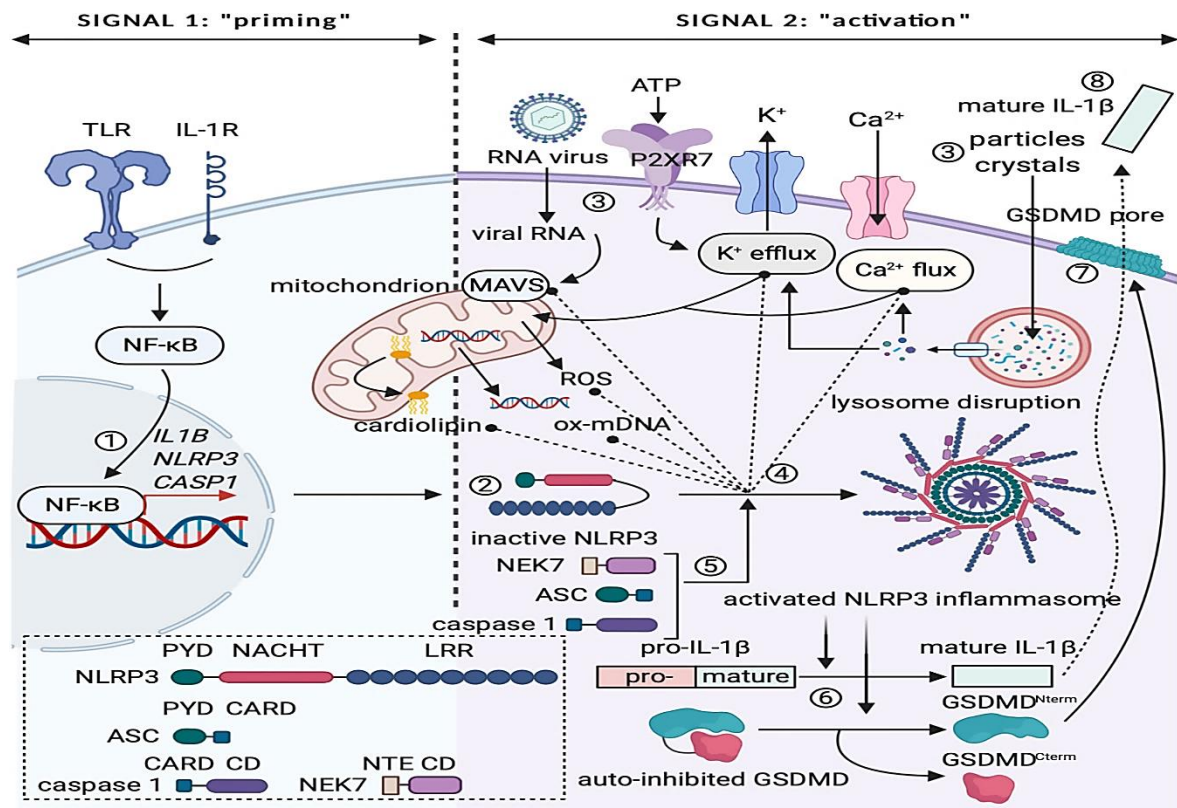
As interleucinas podem ser classificadas de duas formas: interleucinas anti-inflamatórias, como IL-4, IL-5, IL-10 e IL-33; e interleucinas pró inflamatórias, como IL-1, IL-2, IL-6, IL-17, entre outros. Todavia, essa classificação não é uma regra, tendo em vista que a ação das citocinas pode variar conforme o microambiente em que elas estão e em que vão atuar (PRAZATELLI, 2018).

A família da IL-1 consiste em 11 membros, são eles: IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-36Ra IL-37 e IL-38. No entanto, há três subtipos mais comumente estudados, sendo dois agonistas (IL-1 α e IL-1 β) e um antagonista (IL-1Ra), o qual é responsável por bloquear a ação inflamatória dos agonistas. Estudos comprovam que os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do Inglês Single Nucleotide Polymorphisms) e o número variável de repetições em tandem (VNTR, do Inglês Variable Number of Tandem Repeats) encontrados nos genes IL-1RN e IL-1B exercem influência sobre a expressão gênica, além de serem amplamente associados a diversos tipos de doenças, inclusive inflamatórias (ARMAN et al., 2008; CHEN et al., 2020; KLÜCK; LIU; JOOSTEN, 2021).

IL-1 α e IL-1 β são codificadas por dois genes diferentes e possuem ampla expressão, estando presentes em diversas células, como macrófagos em órgãos linfoides e não linfoides, neutrófilos, fibroblastos, linfócitos, além dos mais variados tecidos do corpo (GONZAGA; VIEIRA, 2013; KHAZIM et al., 2018).

Sabe-se que a maturação da IL-1 β ocorre através da clivagem da proteína caspase-1, e quando ativada, IL-1 desempenha um papel importante na resposta Th1 e, conseqüentemente, na imunidade adaptativa. Ela também tem a capacidade de induzir a síntese de outras citocinas pró-inflamatórias, muitas delas inclusive já foram encontradas em níveis elevados em pacientes portadores da COVID-19, como a IL-6 e Fator de Necrose Tumoral (TNF) (CONTI et al., 2020). Alguns dos mecanismos previamente citados, como clivagem, liberação e maturação da IL-1 β podem ser observados conforme figura 3.

Figura 3 Vias de sinalização para a liberação controlada de IL-1 β .



A IL-1 β madura pode ser ativada através de duas etapas de liberação. Ao passo que a primeira etapa envolve a expressão pró-IL-1 β e caspase 1, além da ativação do inflamassoma NLRP3 mediado pelo fator de transcrição NF- κ B desencadeados perante receptores celulares pró-inflamatórios, a segunda etapa está associada à ativação da IL-1 β a partir da participação de moléculas de sinalização antiviral, como PAMPs e DAMPs, além de ATP extracelular, partículas extracelulares e complexos de cristal que ativarão o complexo NLRP3 e a caspase 1, a qual é responsável por clivar a pró-IL-1 β em uma molécula biologicamente funcional. **Fonte:** (ECKHOUT; TAVERNIER; GERLO, 2021).

Algumas pesquisas que vêm sendo produzidas relatam a associação entre os polimorfismos em genes da IL-1 com algumas doenças autoimunes, inflamatórias e infecciosas, inclusive deixando indivíduos mais susceptíveis a infecções virais (NEMETS et al., 1999; MINTON et al., 2005; MIGITA et al., 2007; HARRISON et al., 2008;). Por exemplo, Borekci et al (2014) sugerem que pacientes com o polimorfismo +3954T no gene *IL-1β* estão mais propensos a contrair Hepatite B, causada pelo vírus HBV, quando comparados aos pacientes controles. Corroborando com o estudo citado anteriormente, Tripathy et al (2019) também revelaram relação entre o número variável de repetição em tandem (VNTR) no gene *IL-1RN* e a suscetibilidade ao desenvolvimento de uma infecção também causada por vírus, o chikungunya (CHIKV), causador da Chikungunya.

Além disso, polimorfismos no gene do *IL-1Ra*, o *IL1RN*, vêm sendo estudados e foram associados à progressão de pneumonia e choque séptico, além de estarem vinculados ao desenvolvimento de lesão pulmonar aguda e SDRA, sendo estas as principais complicações em pacientes que desenvolveram a forma grave da COVID-19 (KERNAN; CANNA, 2020; REKIMIAN; FRERE; COLLECT, 2020).

Wang (2021) relatou não ter achado associação entre polimorfismos nos genes das *IL-1a*, *IL-1β*, *IL-1R1*, *IL-1Ra* e *IL-1Racp* com a suscetibilidade à COVID-19. No entanto, nessa mesma pesquisa, foi identificado que esses mesmos SNPs possuem relação direta com a gravidade da doença, estando associados a um pior quadro clínico.

Fricke-Galindo e Falfán-Valência (2021), pesquisaram polimorfismos nos genes de citocinas e sua relação com a COVID-19. Elas relataram que os alelos -174C (rs1800795) e -572C (rs1800796) das variantes presentes na região promotora do gene da *IL-6* estão associados à níveis plasmáticos aumentados da citocina e um pior prognóstico da infecção por Sars-CoV-2. Além disso, uma terceira variante (rs1800797) no promotor deste mesmo gene está relacionada à tempestade de citocinas. As autoras também citam SNPs nos genes da *IL-1B* (rs1143633), *IL1R1* (rs3917332) e *IL1RN* (rs2232354), que estão intimamente ligados a um risco aumentado de eventos trombóticos, sendo estes uma das principais sequelas desta grave infecção.

Na SARS, já havia sido relatado por Meyer e colaboradores (2013), que o alelo C na variante rs315952 no gene *IL-1RN* relacionava-se com um menor risco de adquirir a infecção. Isso se deve a um aumento de IL-1Ra no plasma em indivíduos com este alelo. Adicionalmente, Paim et al (2021) concluíram que polimorfismos em genes que codificam citocinas como IFNAR2, TNF, INF-a/b, IL-4 e IL-1Ra podem interferir no curso da doença durante a infecção pelo SARS-CoV-2.

2 JUSTIFICATIVA

A COVID-19 é uma doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, infecção a qual em 2020 foi declarada como uma pandemia pela OMS e que nos atinge até os dias atuais, tendo como característica uma alta taxa de morbidade desde o início (PAIM et al., 2021). Desde então, estudos vêm sendo desenvolvidos visando entender fatores associados à suscetibilidade de contrair esta enfermidade e seu prognóstico (DARBEHESHTI; REZAEI, 2020; WYNANTS et al., 2020).

A infecção pelo SARS-CoV-2 pode aparecer com um fenótipo mais leve, exibindo sintomas respiratórios parecidos com os de um resfriado, como também tem potencial de evoluir para uma forma mais grave da doença, acometendo o sistema cardiovascular, neurológico, gastrointestinal, além do sistema imune, ocasionando uma inflamação exacerbada (LOUREIRO et al., 2020; PEDERSON; HO, 2020; WONG; LUI; SUNG, 2020; ZHENG et al., 2020).

Tendo em vista que a inflamação é uma das principais características da COVID-19, as citocinas que medeiam esse processo participam ativamente durante o curso da doença (CONTI et al., 2020). Durante o percurso desta infecção, há um alto estímulo do sistema imune na liberação de citocinas inflamatórias, como a IL-1, que além de participar do processo inflamatório, também estimula a produção de outras citocinas (CRAYNE et al., 2019; SOY et al., 2020). Pesquisas comprovam que níveis plasmáticos de interleucinas, mais especificamente a IL-1Ra e IL-6, estão aumentados em pacientes com COVID-19 (CRON; CARICCHIO; CHATHAM, 2020; FRICKE-GALINDO; FALFÁN-VALÊNCIA, 2021).

A IL-1 desempenha um papel importante como alvo ora em intervenções terapêuticas, visto que pesquisas mostram uma maior sobrevida quando administrados fármacos envolvendo esta proteína, ora em estudos genéticos a fim de avaliar se há correlação entre essas moléculas inflamatórias com o início e curso da COVID-19, (UCCIFERRI; VECCHIET; FALASCA, 2020; CRON, 2021; WANG, 2021).

Levando em consideração a heterogeneidade das manifestações clínicas e a variabilidade da resposta terapêutica do distúrbio em questão, e que além de mediar o processo inflamatório, a IL-1 também participa ativamente na indução de outras citocinas e está associada ao desenvolvimento de consequentes patologias, faz-se necessário mais estudos relacionados a presença de variantes nos genes que expressam as diferentes interleucinas da família da IL-1, para esclarecer o papel destas moléculas na suscetibilidade e prognóstico da COVID-19. As associações genéticas citadas anteriormente apoiam a hipótese de que

polimorfismos nos genes da família da IL-1 participam ativamente no prognóstico da COVID-19, corroborando com o intuito da atual pesquisa.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a frequência dos polimorfismos rs1143627, rs16944 e rs1143629 presentes na região promotora do gene da *IL-β* e suas influências na patogenicidade da COVID-19.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar os genótipos dos polimorfismos rs1143627, rs16944 e rs1143629 no gene da *IL-β* para cada indivíduo diagnosticado com COVID-19 e averiguar se há existência de associações entre os polimorfismos e/ou haplótipos com a patogenicidade desta infecção;
2. Calcular a frequência alélica e genotípica para cada polimorfismo;
3. Verificar a aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg;
4. Calcular o desequilíbrio de ligação e derivar os haplótipos, caso necessário;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este trabalho faz parte de um projeto maior em vigência no Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE/CCB/UFSC) intitulado “Busca de marcadores genéticos e epigenéticos em pacientes com COVID-19: formação de um biorepositório.” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH-UFSC) com CAAE 32858820.0.0000.0121 (ANEXO A). Todos os indivíduos incluídos neste biorepositório assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) concordando em participar da pesquisa.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

O biorepositório utilizado nesta pesquisa conta com 205 pacientes com diagnóstico de COVID-19 classificados em dois grupos distintos, sendo: 138 pacientes pertencentes ao grupo dos hospitalizados e 67 pacientes pertencentes ao grupo dos não hospitalizados.

Todos os integrantes do grupo denominado hospitalizados foram diagnosticados com COVID-19 através das metodologias RT-qPCR e/ou Teste Rápido Imunocromatográfico, pelo Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago – Universidade Federal de Santa Catarina (HU–UFSC). Todos apresentaram quadros graves da doença e consequentemente, necessitaram de intervenção e/ou internação hospitalar. As amostras biológicas deste grupo foram coletadas através de punção venosa/arterial e inseridas em tubos BD Vacutainer® contendo o anticoagulante EDTA (do inglês, *ethylenediaminetetraacetic acid*).

Já o grupo dos não hospitalizados abrange indivíduos que também tiveram o diagnóstico de COVID-19, porém não evoluíram para o pior cenário da infecção, seguindo o tratamento em domicílio. Para estes foi aplicado um questionário, o qual está anexado neste trabalho (ANEXO B), e tiveram como material biológico coletado a saliva em tubo Salivette®, seguindo as recomendações do fabricante.

4.3 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO

A extração do DNA genômico das células sanguíneas e salivares foi realizada utilizando o método Salting Out, descrito por Miller e colaboradores (1988) e modificado por Lahiri & Nurnberger (1991). Após a extração, foi verificada a densidade óptica do DNA, identificando a concentração e pureza das amostras.

4.4 GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS

A genotipagem dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) rs1143627, rs16944 e rs1143629 foi realizada através da metodologia conhecida como Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (Real-time PCR, do inglês Real-Time Polymerase Chain Reaction), também conhecida como Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (qPCR). A metodologia utiliza sondas de hidrólise, utilizando os ensaios TaqMan® SNP Genotyping

Assays: rs1143627, C__1839944_10; rs16944, C__1839943_10 e rs1143629, C__1839945_1_.

O ensaio TaqMan® é baseado na utilização de iniciadores de PCR senso e antisenso, atividade exonuclease 5'-3' da enzima DNA Polimerase e duas sondas em um sistema bi-alélico, onde cada uma é marcada com um corante *reporter* fluorescente (FAM® ou VIC®) na extremidade 5' do SNP de interesse (Tabela 1), ao passo que na extremidade 3' é inserido um corante supressor (Tetrametilrodamina), também conhecido como *Quencher*, responsável por inibir a fluorescência do *reporter* quando próximo à ele através da tecnologia FRET (do Inglês, *Förster (or fluorescence) resonance energy transfer*) (SHEN; ABDULLAH; WANG, 2009; ZANDRAN et al., 2012).

Tabela 1 Sequências das sondas específicas referentes aos polimorfismos rs1143627, rs16944 e rs1143629 e, em colchetes, o local onde ocorre a troca de um único nucleotídeo.

SNP	Sequência Alvo
IL-1β - rs1143627 (G>A)	5'CCAGTTTCTCCCTCGCTGTTTTTAT[G/A]GCTTTCAA AAGCAGAAGTAGGAGGC-3'
IL-1β - rs16944 (G>A)	5'TACCTTGGGTGCTGTTCTCTGCCTC[G/A]GGAGCTC TCTGTCAATTGCAGGAGC-3'
IL-1β - rs1143629 (A>G)	5'GGATTCCTTGTATTGTGGGCTTGGA[A/G]TCTTTTC TCCCCATTTGCCTCTGCA-3'

Fonte: Thermo Fisher Scientific®

À medida que a fita complementar é incorporada pela ação da DNA polimerase, a atividade exonuclease 5'-3' cliva os nucleotídeos adicionados, incluindo a molécula *reporter*, que, separada da molécula supressora, irá emitir sua fluorescência a qual será medida pelo equipamento em uso. Vale ressaltar que, a intensidade da fluorescência está diretamente relacionada à cada ciclo de amplificação. Contudo, ao passo que o aumento da fluorescência de um dos corantes FAM® ou VIC® indica homozigossidade para o alelo específico, o aumento da fluorescência de ambos os corantes indica heterozigossidade dos mesmos (MCGUIGAN; RALSTON, 2002; SHEN; ABDULLAH; WANG, 2009).

Para realização da qPCR foram adicionados em microtubos do tipo *eppendorf*: 2,375 μ L de água Milli-Q; 2,5 μ L de TaqMan® *Genotyping Master Mix*; 0,125 μ L de TaqMan® *SNP Genotyping Assays*, os quais então descritos na tabela 2. Em uma placa MicroAmp™ *Optical* de 384 poços, foi adicionado 5 μ L destes reagentes e 1 μ L de DNA, totalizando um volume final de 6 μ L.

Tabela 2 Componentes utilizados para a reação de qPCR.

	Reagentes	[]	Volume
TaqMan® Genotyping Master Mix (2X)	AmpliTaq Gold® DNA <i>Polymerase</i> , Ultra Pure (UP)	1 U	2,325 µL
	Desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dNTPs)	200 nM	
	ROX™ <i>Passive Reference Dye</i>	500 nM	
	Tampão para enzimas	10 nM	
TaqMan® SNP Genotyping Assays (40X)	Iniciador senso	900 nM	0,125 µL
	Iniciador antissenso	900 nM	
	Sonda VIC®	200 nM	
	Sonda FAM™	200 nM	
Água Milli-Q			2,5 µL
DNA		5 ng	1 µL
Volume Total			5 µL

[]: Concentração dos reagentes; U: unidade; nM: nanomolar; ng: nanograma; µL: microlitro.

Fonte: Thermo Fisher Scientific®

A reação de amplificação foi realizada no equipamento 7900HT PCR quantitativa em tempo real (Thermo Fisher Scientific®), o qual realizou a discriminação alélica ao captar as diferentes fluorescências emitidas pelas sondas, como citado anteriormente. O programa de ciclagem utilizado na amplificação está descrito na tabela 3.

Tabela 3 Programa de ciclagem da qPCR.

Etapa	T(°C)	Duração	Ciclos
Ativação da Enzima AmpliTaq Gold®	95	10 min	HOLD
Desnaturação	92	15 seg	40
Anelamento/Aalongamento	60	1:30 min	
Estabilização	60	30 s	

Fonte: Thermo Fisher Scientific®

4.5 VARIÁVEIS CLÍNICAS

Como vivemos em um país miscigenado, a fim de ter um n considerável para proceder às análises, etnia foi separada em dois grupos: etnia branca e não branca. As informações disponibilizadas no questionário aplicado aos participantes sobre a autoclassificação da alimentação foram utilizadas para criar uma variável dicotômica caracterizada como saudável e não saudável. A categoria saudável contempla os indivíduos que classificaram suas alimentações como saudável e muito saudável, enquanto que as respostas de nada saudável, pouquíssimo saudável e pouco saudável foram classificadas como não saudável.

Indivíduos que responderam ser ex-fumantes ou fumantes foram colocados na categoria fumantes, independentemente da quantidade de cigarros consumidos, enquanto que os demais foram considerados não fumantes. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo o peso pela altura ao quadrado e foi classificado de acordo com as recomendações da OMS. Indivíduos considerados obesos foram aqueles com IMC maior do que 30.

Comorbidades pré-existentes foram acessadas de acordo com o auto reportado no questionário aplicado e/ou dos dados disponíveis no prontuário médico. A presença das seguintes comorbidades foram questionadas: colesterol ou triglicerídeos alterado; aneurisma, derrame ou acidente vascular cerebral (AVC); coagulopatias (trombose, hemofilia, anemia falciforme, dentre outras); hipertensão arterial; doença pulmonar (asma, enfisema, doença pulmonar obstrutiva crônica, dentre outras); infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) (AIDS, sífilis, clamídia, gonorreia, HPV, herpes genital, tricomoníase, dentre outras); doença causada por parasita (amebíase, giardíase, leishmaniose, malária, toxoplasmose, chagas, tricomoníase, esquistossomose, ascaridíase, teníase, dentre outras) e doença respiratória viral (gripe, resfriado comum, faringite, laringite, bronquite, bronquiolite, pneumonia).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A frequência alélica foi calculada por contagem direta. Foram calculadas as frequências genotípicas para verificar se os polimorfismos se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW), através do programa Arlequin (GOURRAUD et al., 2005).

Foi realizada uma análise de distribuição normal para as variáveis e a decisão dos testes a serem aplicados foram tomadas com base no resultado da estatística de Shapiro-Wilk. Variáveis com distribuição normal foram analisadas por teste t para amostras independentes,

enquanto as variáveis de distribuição assimétrica foram analisadas por teste de Mann-Whitney. Variáveis categóricas foram analisadas por teste de qui-quadrado de homogeneidade. Variáveis contínuas de distribuição normal foram apresentadas por média e desvio padrão e as variáveis de distribuição assimétrica foram apresentadas por mediana e intervalo interquartil. Já as variáveis categóricas foram apresentadas por proporção.

Adicionalmente, foram conduzidas análises de regressão logística para determinar as relações entre as variantes escolhidas e a suscetibilidade à doença. Foi utilizado um valor de $p < 0,05$ como o valor limite de significância. As análises foram conduzidas no software SPSS versão 18 (SPSS Inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.).

Também foi verificado se os polimorfismos se encontram em desequilíbrio de ligação, e quais as combinações haplotípicas mais prováveis, utilizando o programa MLocus (LONG, 1999). Os haplótipos obtidos foram classificados de acordo com informações disponíveis na literatura sobre o provável nível de expressão da IL-1 β , conforme os alelos contidos no haplótipo, como pode ser visto na Tabela 4. Ao passo em que o alelo G na posição -511 está relacionado a uma maior expressão desta citocina, na posição -31 quem caracteriza esse papel é o alelo A (LIU et al., 2013; DHIFALLAH et al., 2020). Com relação ao SNP no Íntron 2, não foi localizado nenhuma literatura referente a qual alelo está correlacionado a um maior nível de expressão da IL-1 β , por isso foi referido na tabela como “0”.

Tabela 4 Classificação dos haplótipos de acordo com o nível de expressão de IL-1 β .

Haplótipo (-511, -31, Íntron 2/-511, - 31/ Íntron 2)		Provável nível de expressão de IL-1β
AGG/AGA	--0/--0	Baixa
AAA/AAG	-+0/-+0	Intermediária
GGA/GGG	+0/+0	Intermediária
GAA/GAG	++0/++0	Alta

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

5 RESULTADOS

As características sociodemográficas e epidemiológicas das populações analisadas podem ser vistas na Tabela 5, na qual pode-se observar que variáveis como idade e IMC tem relevância clínica em se tratando de gravidade da infecção. Percebemos que o grupo de pacientes hospitalizados tem maiores valores de IMC e de idade, em média, do que o grupo de pacientes não hospitalizados ($p=0,0001$). Não foi observada nenhuma diferença significativa entre os dois grupos em relação a sexo, etnia, uso de cigarro e tipo de alimentação.

Tabela 5 Caracterização das amostras de acordo com as variáveis sociodemográficas e epidemiológicas entre casos leve e grave de COVID-19.

	Não Hospitalizados n (%)	Hospitalizados n (%)	P-valor
Idade (<i>média ± SD</i>)	35,3 (9,4)	54,1 (15,2)	0,0001
IMC (<i>média ± SD</i>)	26,9 (4,9)	30,5 (6,1)	0,0001
Sexo (<i>Feminino</i>)	29 (44,6)	43 (41,0)	0,581
Etnia (<i>Branca</i>)	56 (87,5)	76 (87,4)	0,999
Fumo (<i>Sim</i>)	12 (18,5)	22 (21,4)	0,614
Alimentação (<i>saudável</i>)	24 (36,9)	23 (43,4)	0,381

(%): frequência percentual; SD: desvio padrão da média. Os valores de p em negrito são significantes a 0,05.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Os grupos também foram comparados para alguns sintomas mais frequentes em casos positivos e para alguns fatores de riscos envolvidos no desenvolvimento da doença, conforme informações disponíveis na literatura (Tabela 6). Com relação às manifestações clínicas, observou-se que apenas tosse seca esteve mais presente nos indivíduos que compõe o grupo dos hospitalizados, ao passo que os indivíduos que fazem parte do grupo de não hospitalizados apresentaram com mais frequência cansaço, perda do olfato e/ou paladar, dor de garganta e cefaleia. Não observamos diferenças em relação a febre e diarreia entre os grupos.

Considerando as comorbidades, notou-se que pacientes que relataram anteriormente quadros de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST), parasitose, gripe ou resfriado, além de alterações bioquímicas, como dislipidemias, em sua maioria não necessitaram de internação

hospitalar decorrente da COVID-19. Em contrapartida e corroborando com outras pesquisas, diagnóstico de Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e enfermidades neurológicas estão associados a um pior desfecho clínico, se associando àqueles que precisaram ser internados. Tal relação pode estar associada ao Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA), sistema o qual é responsável por regularizar os níveis pressóricos de cada indivíduo. Dado que para este sistema atue de forma íntegra, são necessárias diversas moléculas atuando sobre seus processos, dentre elas destaca-se a principal fonte de ligação do Sars-CoV-2: a ECA2. Além de ter seus níveis aumentados para a regularização da pressão arterial, há uma maior disponibilidade de receptores viral no organismo e todo este conjunto se torna como um forte fator de risco para o desenvolvimento de patologias cerebrais, como o AVC (GAGLIARDI, 2009; OLIVEIRA; FERREIRA, 2020; VIEIRA et al., 2021).

Tabela 6 Caracterização clínica de acordo com sintomas e fatores de riscos.

	Não Hospitalizados n (%)	Hospitalizados n (%)	P-valor
<i>SINTOMATOLOGIA</i>			
Tosse seca	32 (52,5)	65 (66,3)	0,019
Febre	29 (47,5)	58 (58,6)	0,07
Cansaço	42 (68,9)	37 (37,4)	0,0001
Perda de olfato ou paladar	37 (60,7)	18 (18,2)	0,0001
Dor de Garganta	16 (26,2)	12 (12,1)	0,002
Dor de cabeça	35 (57,4)	24 (24,2)	0,0001
Diarreia	15 (24,6)	25 (25,3)	0,999
<i>COMORBIDADES</i>			
Colesterol ou Triglicerídeos alto	19 (29,2)	7 (6,7)	0,0001
Aneurisma, Derrame ou AVC	0 (0,0)	14 (13,6)	0,0001
Coagulopatias	4 (6,2)	3 (2,9)	0,251
HAS	9 (13,8)	48 (46,2)	0,0001
Obesidade	19 (29,2)	30 (44,8)	0,013
Doença Pulmonar	7 (10,8)	8 (7,7)	0,441
ISTs	5 (7,7)	2 (2,0)	0,023
Parasitose	5 (7,7)	0 (0)	0,0001
Gripe ou Resfriado	54 (83,1)	8 (7,7)	0,0001

(%): frequência porcentual. Os valores de p em negrito são significantes a 0,05.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Aprofundando a análise das variáveis clínicas acima citadas, cada grupo foi analisado de acordo com os alelos em cada polimorfismo isoladamente, a fim de avaliar se algum alelo estaria associado a sintomatologia ou à presença de comorbidades. A Tabela 7 mostra os resultados para os indivíduos não hospitalizados, onde percebemos que dislipidemia e histórico

de gripe ou resfriado tiveram significância clínica. Ao passo que para aqueles que apresentaram níveis elevados de colesterol ou triglicérides houve prevalência do alelo G na posição -31 da região promotora (rs1143627), aqueles que já tiveram quadros de gripe e/ou resfriado apresentaram em maior número presença do alelo A na mesma posição. Já nos outros SNPs, todas as variáveis apresentaram $p > 0,05$, não havendo uma diferença significativa entre eles.

Em contrapartida, ao analisar aqueles que necessitaram de internação (Tabela 8), não observamos nenhuma diferença significativa para as variáveis ao olhar para as variantes rs1143627 e rs16944. A única variável clínica que diferiu significativamente neste grupo foi a tosse seca ($p=0,016$), com maior prevalência do alelo G no íntron 2 do gene da *IL-1 β* (rs1143629).

Tabela 7 Relação entre os polimorfismos e as variáveis clínicas dentro da categoria dos Não hospitalizados.

	rs1143627			rs1143629			rs16944		
	A n (%)	G n (%)	P-valor	G n (%)	A n (%)	P-valor	A n (%)	G n (%)	P-valor
IMC (<i>média ± SD</i>)	26,6 (4,2)	27,0 (5,1)	0,646	26,9 (4,5)	26,4 (4,7)	0,561	26,9 (4,6)	27,2 (5,1)	0,789
Tosse seca	32 (52,5)	30 (63,8)	0,323	25 (54,3)	39 (59,1)	0,760	27 (54,0)	35 (51,5)	0,932
Febre	26 (42,6)	30 (63,8)	0,046	23 (50,0)	33 (50,0)	0,999	25 (50,0)	33 (48,5)	0,999
Cansaço	38 (62,3)	36 (76,6)	0,168	32 (69,6)	46 (69,7)	0,999	33 (66,0)	47 (69,1)	0,874
Perda de olfato ou paladar	42 (68,9)	28 (59,6)	0,425	29 (63,0)	41 (62,1)	0,999	34 (68,0)	40 (58,8)	0,409
Dor de Garganta	12 (19,7)	16 (34,0)	0,142	14 (30,4)	18 (27,3)	0,879	14 (28,0)	14 (20,6)	0,474
Dor de cabeça	38 (62,3)	28 (59,6)	0,930	25 (54,3)	41 (62,1)	0,530	26 (52,0)	44 (64,7)	0,231
Diarreia	14 (23,0)	12 (25,5)	0,933	10 (21,7)	18 (27,3)	0,657	11 (22,0)	17 (25,0)	0,873
Colesterol ou Triglicérides alto	13 (19,4)	21 (42,9)	0,011	16 (32,7)	18 (25,4)	0,505	15 (28,3)	23 (31,5)	0,849
Coagulopatias	3 (4,5)	3 (6,1)	0,999	4 (8,2)	4 (5,6)	0,862	2 (3,8)	4 (5,5)	0,999
Hipertensão	7 (10,4)	9 (18,4)	0,342	7 (14,3)	9 (12,7)	0,999	6 (11,3)	12 (16,4)	0,581
Obesidade	10 (14,9)	10 (20,4)	0,601	8 (16,3)	12 (16,9)	0,999	10 (18,9)	14 (19,2)	0,999
Doença Pulmonar	11 (16,4)	3 (6,1)	0,164	5 (10,2)	9 (12,7)	0,900	5 (9,4)	9 (12,3)	0,823
ISTs	5 (7,5)	3 (6,1)	0,999	6 (12,2)	4 (5,6)	0,341	3 (5,7)	5 (6,8)	0,999
Parasitose	8 (11,9)	2 (4,1)	0,248	4 (8,2)	6 (8,5)	0,999	2 (3,8)	8 (11,0)	0,255
Gripe ou Resfriado	60 (89,6)	36 (73,5)	0,044	37 (75,5)	61 (85,9)	0,227	42 (79,2)	64 (87,7)	0,303

(%): frequência porcentual. Os valores de p em negrito são significantes a 0,05.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Tabela 8 Relação entre os polimorfismos e as variáveis clínicas dentro da categoria dos Hospitalizados.

	rs1143627			rs1143629			rs16944		
	A n (%)	G n (%)	P-valor	G n (%)	A n (%)	P-valor	A n (%)	G n (%)	P-valor
IMC (<i>média ± SD</i>)	30,7 (5,6)	30,4 (6,5)	0,790	29,8 (6,3)	31,2 (6,1)	0,221	29,9 (6,3)	31,1 (6,0)	0,257
Tosse seca	51 (58,6)	79 (72,5)	0,059	68 (76,4)	62 (59,0)	0,016	67 (74,4)	63 (60,6)	0,058
Febre	46 (52,3)	70 (63,6)	0,142	53 (58,9)	61 (57,5)	0,965	54 (59,3)	60 (57,1)	0,868
Cansaço	33 (37,5)	41 (37,3)	0,999	39 (43,3)	35 (33,0)	0,181	35 (38,5)	39 (37,1)	0,966
Perda de olfato ou paladar	13 (14,8)	23 (20,9)	0,354	19 (21,1)	17 (16,0)	0,466	18 (19,8)	18 (17,1)	0,771
Dor de Garganta	10 (11,4)	14 (12,7)	0,942	10 (11,1)	14 (13,2)	0,820	11 (12,1)	13 (12,4)	0,999
Dor de cabeça	18 (20,5)	30 (27,3)	0,344	24 (26,7)	24 (22,6)	0,627	23 (25,3)	25 (23,8)	0,943
Diarreia	24 (27,3)	26 (23,6)	0,674	26 (28,9)	24 (22,6)	0,403	24 (26,4)	26 (24,8)	0,925
Colesterol ou Triglicerídeos alto	5 (5,7)	9 (7,8)	0,763	6 (6,3)	8 (7,3)	0,991	6 (6,3)	8 (7,5)	0,963
Aneurisma, Derrame ou AVC	12 (14,0)	16 (13,8)	0,999	12 (12,6)	16 (15,0)	0,785	15 (15,8)	13 (12,4)	0,624
Coagulopatias	0 (0)	6 (5,2)	0,085	5 (5,3)	1 (0,9)	0,101	5 (5,3)	1 (1,0)	0,104
Hipertensão	43 (48,9)	53 (45,7)	0,758	44 (46,3)	52 (47,7)	0,954	45 (47,4)	51 (47,7)	0,999
Obesidade	21 (22,8)	37 (31,9)	0,196	26 (27,4)	32 (28,3)	0,999	26 (27,4)	32 (28,8)	0,939
Doença Pulmonar	8 (8,9)	8 (6,9)	0,789	9 (9,5)	7 (6,3)	0,558	8 (8,4)	8 (7,3)	0,980
ISTs	2 (2,3)	2 (1,7)	0,999	2 (2,1)	2 (1,9)	0,999	2 (2,1)	2 (1,9)	0,999
Gripe ou Resfriado	7 (8,0)	9 (7,8)	0,999	8 (8,4)	8 (7,3)	0,980	8 (8,4)	8 (7,5)	0,999

(%): frequência porcentual. Os valores de p em negrito são significantes a 0,05.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Estes resultados são complementados com os da Tabela 9, na qual foi possível verificar que, dos três polimorfismos estudados, apenas o rs1143627 possui relevância ao se tratar de gravidade da infecção. Ao realizar a comparação entre o grupo dos não hospitalizados e o grupo dos hospitalizados, foi constatado que aqueles que possuem o alelo G nesse SNP apresentaram um risco maior (praticamente o dobro) de evoluir para um pior desfecho clínico comparado àqueles que possuem o alelo A, após correção para idade e IMC na análise de regressão logística.

Tabela 9 Comparação entre quadros leve e grave em relação às variantes analisadas.

Polimorfismo	Não Hospitalizados	Hospitalizados	P Valor	OR (G)	IC 95%	P Valor
<i>rs16944 (G)</i>	77 (57,5)	160 (58,0)	0,999			
<i>rs1143627 (G)</i>	49 (40,2)	147 (52,9)	0,026	2,045	1,063 – 3,980	0,032
<i>rs1143629 (A)</i>	76 (60,3)	163 (58,2)	0,772			

OR = odds ratio (razão de chances); IC95% = intervalo de 95% de confiança; Os valores de p em negrito são significantes ($p < 0,05$). A análise de regressão foi corrigida por idade e IMC.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Dado que os polimorfismos se encontravam em desequilíbrio de ligação, com valores de p significantes e coeficientes normalizados de Lewontin próximos a 0,8 para os três marcadores, os haplótipos foram inferidos e classificados conforme o provável nível de expressão gênica (Tabela 4). Essas classes de provável baixa, intermediária ou alta expressão foram relacionadas com a gravidade, conforme demonstrado na Tabela 10. Percebeu-se uma associação entre gravidade do quadro clínico e expressão de IL-1 β , onde haplótipos de baixa expressão são mais prevalentes no grupo de indivíduos hospitalizados do que no de não hospitalizados.

Tabela 10 Relação entre os prováveis níveis de expressão de IL-1 β e as variáveis avaliadas.

	Baixa	Média	Alta	P-valor
Não hospitalizados	36 (29,5)	29 (23,8)	57 (46,7)	0,003
Hospitalizados	115 (41,7)	32 (11,6)	129 (46,7)	

Variáveis categóricas estão apresentadas como n e frequência porcentual; variáveis contínuas estão apresentadas como média e desvio padrão da média. Os valores de p em negrito são significantes a 0,05.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Ao avaliarmos esses haplótipos e suas prováveis expressões relacionadas dentro dos grupos de não hospitalizados e hospitalizados (Tabelas 11 e 12, respectivamente), foi observado que a única diferença significativa se encontra nos pacientes que não sofreram internação hospitalar e se trata daqueles que relataram quadro anterior de gripe e/ou resfriado, com ($p < 0,05$).

Tabela 11 Análise das variáveis clínicas dos pacientes não hospitalizados de acordo com o provável nível de expressão de IL-1 β .

	Não Hospitalizados			P-valor
	Baixa n (%)	Média n (%)	Alta n (%)	
IMC (<i>média</i> \pm <i>SD</i>)	26,6 (4,8)	27,9 (5,1)	26,4 (4,2)	0,379
Tosse seca	21 (61,8)	15 (60,0)	26 (53,1)	0,701
Febre	21 (61,8)	12 (48,0)	23 (46,9)	0,375
Cansaço	25 (73,5)	16 (64,0)	33 (67,3)	0,718
Perda de olfato ou paladar	22 (64,7)	16 (64,0)	32 (65,3)	0,994
Dor de Garganta	11 (32,4)	8 (32,0)	9 (18,4)	0,263
Dor de cabeça	18 (52,9)	16 (64,0)	32 (65,3)	0,495
Diarreia	7 (20,6)	8 (32,0)	11 (22,4)	0,561
Colesterol ou Triglicerídeos alto	13 (36,1)	9 (34,6)	12 (22,2)	0,291
Coagulopatias	2 (5,6)	1 (3,8)	3 (5,6)	0,942
Hipertensão	4 (11,1)	7 (26,9)	5 (9,3)	0,085
Obesidade	6 (16,7)	7 (26,9)	7 (13,0)	0,300
Doença Pulmonar	2 (5,6)	4 (15,4)	8 (14,8)	0,351
ISTs	3 (8,3)	0 (0)	5 (9,3)	0,285
Parasitose	1 (2,8)	2 (7,7)	7 (13,0)	0,237
Gripe ou Resfriado	25 (69,4)	24 (92,3)	47 (87,0)	0,033

Variáveis categóricas estão apresentadas como n e frequência porcentual; variáveis contínuas estão apresentadas como média e desvio padrão da média. Os valores de p em negrito são significantes a 0,05.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Tabela 11 Análise das variáveis clínicas dos pacientes hospitalizados de acordo com o nível de expressão de IL-1 β .

	Hospitalizados			P-valor
	Baixa n (%)	Média n (%)	Alta n (%)	
IMC (<i>média</i> \pm <i>SD</i>)	29,9 (6,3)	32,9 (7,2)	30,6 (5,7)	0,261
Tosse seca	66 (74,2)	15 (75,0)	49 (57,6)	0,050
Febre	54 (60,0)	15 (75,0)	45 (52,3)	0,160
Cansaço	35 (38,9)	6 (30,0)	33 (38,4)	0,750
Perda de olfato ou paladar	18 (20,0)	5 (25,0)	13 (15,1)	0,508
Dor de Garganta	11 (12,2)	3 (15,0)	10 (11,6)	0,918
Dor de cabeça	23 (25,6)	7 (35,0)	18 (20,9)	0,399
Diarreia	23 (25,6)	5 (25,0)	22 (25,6)	0,998
Colesterol ou Triglicerídeos alto	6 (6,4)	3 (13,6)	5 (5,8)	0,418
Aneurisma, Derrame ou AVC	14 (14,9)	3 (13,6)	11 (13,1)	0,941
Coagulopatias	5 (5,3)	1 (4,5)	0 (0)	0,105
Hipertensão	44 (46,8)	11 (50,0)	41 (47,7)	0,964
Obesidade	26 (27,7)	11 (50,0)	21 (23,3)	0,044
Doença Pulmonar	8 (8,5)	0 (0)	8 (9,1)	0,346
ISTs	2 (2,1)	0 (0)	2 (2,4)	0,771
Gripe ou Resfriado	8 (8,5)	1 (4,5)	7 (8,1)	0,821

Variáveis categóricas estão apresentadas como n e frequência porcentual; variáveis contínuas estão apresentadas como média e desvio padrão da média.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

6 DISCUSSÃO

A COVID-19, infecção causada pelo Sars-CoV-2, é uma enfermidade descoberta em 2019 que desde então vêm sendo tratada como um caso de calamidade pública. Trata-se de uma doença de caráter respiratório, mas que devido à sua complexa fisiopatologia pode estender-se aos sistemas cardíaco, neurológico, gastrointestinal, entre outros. Tal fenômeno ocorre pelo fato desse vírus ter como receptor o ECA2, principal proteína do Sistema Renina Angiotensina (RAS) e que é amplamente encontrada nos sistemas acima citados e alguns outros, incluindo o trato respiratório. Além de sua complicada patogenicidade, o Sars-CoV-2 possui alto teor de transmissibilidade, o que levou a OMS a declarar a COVID-19 como uma doença pandêmica (CIOTTI et al., 2020; SONG; KOH, 2022).

Sabe-se que esta doença é caracterizada pela heterogeneidade nos sintomas, sendo que para alguns a infecção pode ocorrer de forma imperceptível ou desencadear sintomas leves, semelhantes aos causados por outros vírus respiratórios, enquanto que em outros, quadros graves com presença de sequelas, senão a fatalidade, são comumente vistos (LIU et al., 2021). Para mais, corroborando com Almeida-Pititto e colaboradores (2020); Li e colaboradores (2020) e Wang e colaboradores (2020), é notável neste estudo que comorbidades como doenças cardiovasculares, neurológicas e metabólicas, além de características fisiológicas, como idade, estão associadas a um pior desfecho clínico da infecção.

Uma vez que o vírus esteja ligado ao seu receptor, ECA2, ele irá adentrar e tornar a célula infectada, podendo dar início em seu processo de replicação. Antes disso, já há a ação do sistema imune inato através do envolvimento de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) de ssRNA e dsRNA por meio de receptores citosólicos, extracelulares e endossomais como os RLRs e TLRs, a fim de evitar o processo de replicação viral. Após a ativação dessa via, sinalizações subsequentes estimulam a liberação de citocinas, como IL-1 e TNF, que auxiliam o sistema imune inato a exercer a ação antiviral de células alvo e potencializam o sistema imune adaptativo (VABRET et al., 2020; ZHONG et al., 2020).

Por mais que a fase viral inicial seja caracterizada pela presença de replicação viral com consequente dano tecidual oriunda diretamente desse ciclo, o recrutamento de células imunes tem papel ativo na proliferação de sintomas sistêmicos através da inflamação exacerbada, tanto que estes sintomas podem permanecer e agravar mesmo após a eliminação do vírus. Por mais fundamental que seja a ação do sistema imune durante a interação patógeno-hospedeiro, a sua desregulação com uma intensa produção de moléculas pró inflamatórias está vinculada como

causa de sérias complicações pós infecção (MATHESON et al., 2020; TAY et al., 2020; MERAD et al., 2022)

Alinhado com outros estudos, os sintomas comumente vistos tanto em casos leves quanto graves envolvem tosse, fadiga, dor de cabeça e perda do olfato e/ou paladar, além de febre, que, em outros estudos, foi constatado que elevação da temperatura corporal é mais visualizada em pacientes que tiveram um pior desfecho e necessitam de internação. (BURKE et al., 2020; TIAN et al., 2020; VAN KESSEL et al., 2022). Observamos uma tendência ($p=0,07$) de maior prevalência de febre no grupo de pacientes hospitalizados (58,6%) do que no de não hospitalizados (47,5%), o que vai ao encontro do observado em outras populações.

Ao relacionar idade como fator de risco para um pior prognóstico da doença foi constatado neste estudo que indivíduos com idade avançada possuem um pior desfecho clínico, corroborando com Gao e colaboradores (2021). Vale ressaltar que pessoas com uma idade avançada não estão somente associadas a quadros mais graves, mas também possuem uma maior taxa de mortalidade (SILVA; JARDIM; LOTUFO, 2021). Em contrapartida, ao realizar a comparação dos grupos por estirpe familiar, este mesmo autor relata que pessoas de etnia não branca são mais propensas a evoluir para quadros graves e fatais, resultado este que vai de encontro ao obtido na atual pesquisa, a qual não foi observado uma diferença significativa entre etnias brancas e não brancas. Contudo, o número de indivíduos classificados como não brancos em nosso trabalho é pequeno, o que pode ter dificultado observar essa associação entre gravidade e etnia. Seria essencial conduzir pesquisas com outras populações brasileiras que apresentam maiores taxas de autoclassificação não branca para fins de esclarecimento sobre este ponto.

Embora, no que diz respeito ao sexo, não tenha sido realizado neste trabalho uma comparação sobre qual é mais propenso a contrair a infecção pelo Sars-CoV-2, vale ressaltar que em outros estudos com esse foco o resultado ainda é contraditório. Ao passo que Gao e colaboradores (2011) e Teich et al., (2021) relataram uma maior prevalência da doença em homens, Almeida et al., (2020) e Valim et al., (2021) tiveram um resultado contrário, sendo mulheres o gênero mais frequente. Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato de historicamente, homens serem mais negligenciadores do que mulheres no que tange acompanhamento médico e procura à serviços de saúde, o que pode acarretar subnotificações dessa população. Seguindo este raciocínio, seria esperado maior prevalência de homens no grupo de pacientes hospitalizados do que no de não hospitalizados, contudo, não observamos uma diferença significativa nas prevalências em nosso estudo.

Outro aspecto importante que pode levar ao agravamento da infecção é a obesidade. Dado que, segundo a OMS, obesidade é definida pelo elevado acúmulo de gordura corporal, uma pessoa é considerada obesa quando possui seu IMC superior a 30 kg/m². Foi notável nesta pesquisa que quadros graves de COVID-19 foram mais prevalentes em indivíduos obesos ($p=0,0001$), corroborando com outros estudos. Pelo fato de ser considerado um distúrbio metabólico, pacientes obesos possuem uma inflamação crônica, o que pode desregular tanto o sistema imune inato quanto o adaptativo, além de afetar o parênquima pulmonar ocasionando uma debilidade no sistema respiratório. Vale destacar que, como algumas citocinas pró-inflamatórias são produzidas inclusive no tecido adiposo, e nesses indivíduos existe um desequilíbrio entre moléculas pró e anti-inflamatórias, ou seja, citocinas anti-inflamatórias são menos expressas ao passo que as proteínas pró-inflamatórias têm suas atividades aumentadas, é comum serem encontrados níveis elevados destas proteínas nesses pacientes, como IL-6 e TNF (WISSE, 2004; HONCE; SCHULTZ-CHERRY, 2019; CAI et al., 2020; FRESÁN et al., 2021). Salienta-se que nessa pesquisa há duas categorizações que foram avaliadas envolvendo esta comorbidade: uma sendo o IMC, o qual foi calculado através dos dados clínicos obtidos dos prontuários e questionários aplicados, e obesidade, classificada através do ponto de corte de 30 no IMC. Contudo, ambas as variáveis apresentaram resultados similares, se relacionando com o grupo de pacientes hospitalizados, ou seja, aqueles que teoricamente apresentam quadros clínicos mais graves da doença.

Como citado anteriormente, a COVID-19 é uma infecção respiratória que pode estender-se a outros órgãos e sistemas, o que pode gerar diferentes sintomas em diferentes indivíduos. A forma como o organismo irá responder a essa infecção depende de diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, como a influência genética, que definem como será a imunomodulação e conseqüentemente, o desfecho clínico final. Ao realizar a comparação entre o grupo dos não hospitalizados com hospitalizados, foi observado que a distribuição dos sintomas em que há valor significativo foi heterogêneo, dado que tosse teve mais prevalência em indivíduos internados ($p=0,019$) e cansaço, perda do olfato e/ou paladar, dor de garganta e mialgia pôde ser observado com maior frequência naquelas pessoas seguiram com a infecção e tratamento em domicílio ($p=0,0001$; $p=0,0001$; $p=0,002$ e $p=0,0001$, respectivamente), assim como para Liu et al. (2020), o qual também relatou que tosse foi mais prevalente naquelas que foram internados. Já para Teich e colaboradores (2020), embora a tosse tenha sido notada mais frequentemente em casos de internação, esse sintoma não foi o único, pois cefaleia e congestão nasal também foram associados a esses pacientes. Para Marcolino et al. (2021), foi averiguado que tosse, dispnéia e febre foram os sintomas mais relatados durante a apresentação

hospitalar. No entanto, vale ressaltar manifestações clínicas são oriundas de fatores como: faixa etária, morbidades e cuidados de saúde (DEER et al., 2021; GOULART; SANTOS; SILVA, 2021; MONTOYA et al., 2021; ZHANG et al., 2022).

Cada vez mais está explícito que além de ter influência no sistema imune, a genética também está associada ao desenvolvimento e progressão de doenças infecciosas, sejam parasitárias, fúngicas, microbianas ou virais (ROCHA et al., 2007; SABETI et al., 2012; MANGANO; MODIANO, 2014). Além disso, novos estudos têm mostrado que moléculas inflamatórias, como a IL-1 β , medeiam o processo inflamatório não somente na COVID-19, mas também em outras infecções virais, como a Gripe H1N1, desencadeada pelo vírus Influenza A (H1N1) (LIU et al., 2013; BORECKI et al., 2014; AUSCHULER et al. 2020). Para mais, este gene também foi associado a outras infecções causadas por vírus de caráter não respiratório, como em mulheres portadoras do papilomavírus humano (HPV), pertencente à família Papillomaviridae, cuja carga viral pode estar associada ao SNP rs16944, localizado na região promotora do gene da IL-1 β . Assim como o vírus causador da Hepatite B, o HBV, pertencente à família Hepadnaviridae, que igualmente está associado a variantes genéticas e ao aumento significativo da carga viral, incluindo o SNP rs16944 (DHIFALLAH et al., 2020; ALBOSALE; MASHKINA, 2021).

Por sua vez, Liu e colaboradores (2013), realizaram um estudo avaliando a influência de SNP nos genes da IL-1 β e IL-1 α na progressão da Gripe H1N1. Foi constatado que, indivíduos com alelo T no polimorfismo rs1143627 possuem uma maior propensão a adquirirem a doença. Entretanto, na atual pesquisa, é possível observar que portadores do alelo G, ou seja, o equivalente de C nesse mesmo polimorfismo, estão relacionados com um pior desfecho (OR 2,045; 95% CI 1,063 - 3,980). Embora os resultados sejam contraditórios, vale destacar que, ao passo que ambas as infecções virais acima mencionadas apresentam inúmeras semelhanças, cada uma carrega particularidades que as fazem apresentar estes resultados não concordante entre si, como receptores e fisiopatologia a elas associadas. Além disso, o resultado observado por Liu quando avaliou H1N1 foi relacionado com suscetibilidade e nosso resultado diz respeito à gravidade clínica da doença, ou seja, todos os nossos pacientes foram infectados. Pode-se supor que existam diferenças em termos de resposta imune que justifiquem cenários diferentes para maior risco de ser infectado e maior risco de desenvolver um quadro clínico grave após ser infectado e, neste contexto, variantes que levem a um perfil mais ou menos inflamatório podem atuar de formas antagônicas.

Outras pesquisas realizadas corroboram com o resultado anterior, onde é possível notar que polimorfismos tanto da *IL-6* como da *IL-1 β* foram associados significativamente à

gravidade clínica da infecção pelo H1N1. A presença do alelo G no SNP rs19644 é responsável por desempenhar uma função protetora contra a infecção. Essas diferenças observadas entre estudos em relação a qual marcador da IL-1 β encontra-se associado com a patologia pode ser explicado pelas diferenças no desequilíbrio de ligação destes marcadores em diferentes populações. Considerando que estes marcadores podem ou não estar em haplótipo, apesar de normalmente estarem, podemos ter a sinalização da associação através de um efeito carona. Estudos tem demonstrado que o alelo C da variante rs1143627 teria menor afinidade de ligação com seu fator de transcrição, c/EBP β , e conseqüentemente levaria a uma menor produção desta citocina. Ainda não está claro se os efeitos observados nos diferentes estudos se devem a diferenças de funcionalidade entre os alelos ou efeito carona de alguma variante não avaliada. Contudo, a ação putativa dessa proteína para um pior desfecho não somente na H1N1, mas também na COVID-19 está cada vez mais ganhando credibilidade, dado que, como citado previamente, polimorfismos em genes da *IL-1 β* já foram associados à um papel funcional contra diferentes agentes infecciosos, como o vírus da Hepatite C (HCV), HBV, H1N1 e *Helicobacter Pylori* (TANAKA et al., 2003; HIRANKARN et al., 2006; YOO et al., 2010; RAMÍREZ et al., 2015; ALSCHULER et al., 2020).

Como a inflamação não é mediada exclusivamente pela IL-1, SNPs em genes codificantes de outras citocinas pró inflamatórias estão ganhando um papel putativo tanto no prognóstico quanto na suscetibilidade à infecção. A IL-6, por exemplo, também está presente em níveis elevados durante o período em que o paciente se encontra enfermo pelo Sars-CoV-2 (XU et al., 2020; LIU et al., 2021; SMIESZEK et al., 2021). Neste intuito, Giannitrapani e colaboradores (2022), observaram em seu trabalho através de um escore de risco genético (GRS) envolvendo diferentes polimorfismos do gene da *IL-6* que, assim como a *IL-1 β* , predisposições genéticas em ambos os genes estão interligadas com a resposta a infecção. Ivanski et al. (2022), por sua vez, relacionou através de sua pesquisa comparando indivíduos recuperados da infecção e aqueles que foram à óbito, que o SNP rs549908, variante no gene da *IL-18*, também está associado com um pior desfecho clínico ($p=0,01$).

Em contrapartida, algumas infecções bacterianas, como a Tuberculose (TB), desencadeada pela micobactéria *Mycobacterium tuberculosis*, igualmente vêm sendo associada a alguns polimorfismos, inclusive no gene da *IL-1 β* (GOMEZ et al., 2006; HALL et al., 2015). A TB é uma infecção de âmbito respiratório considerada a muito tempo umas das principais causas de mortalidade, sendo a principal via de infecção a infiltração em células fagocíticas pulmonares, podendo evoluir para quadros extrapulmonares ou, em alguns indivíduos, entrar em um estado latente. Estudos observaram que variantes como o rs16944 e rs1143634 estão

associados a suscetibilidade e curso da doença, como por exemplo, a presença do alelo C na posição -511 da *IL-1 β* , que parece fornecer um papel protetor contra a infecção (GOMEZ et al., 2006; NASLEDNIKOVA et al., 2009; WU et al., 2018). Além disso, outras enfermidades cujo agente infeccioso é bacteriano, como a *Helicobacter pylori*, da mesma forma são confrontados com essas variantes genéticas, que são cruciais em potencializar a resposta à infecção pelos microrganismos acima citados (RAD et al., 2003).

Desde a década de 90, pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de entender o papel da genética e de alterações no DNA/RNA e sua relação entre patógeno-hospedeiro (POCIOT et al., 1992). Porventura, um estudo executado por Ben e colaboradores (2020), constataram que SNP na posição -511 do gene da *IL-1 β* estão amplamente associados à evolução de infecções virais, uma vez que polimorfismos na região promotora desta interleucina podem ter uma importância funcional na regulação e na sua expressão, função essa que têm impacto direto na resposta imune do hospedeiro (GIEDRAITIS et al., 2001; BEN-ARI et al., 2003). Para mais, ao tratar-se exclusivamente da COVID-19, Feng et al. (2022) relataram influência de SNP não somente em genes da *IL-1 β* , mas também em genes de outras citocinas pró inflamatórias e genes de receptores virais tanto na suscetibilidade quanto no percurso que a infecção irá tomar.

Com relação aos níveis plasmáticos de citocinas pró inflamatórias, estudos complementares comprovaram que, de fato, há o aumento destas proteínas durante a infecção. Somado a isto, trabalhos demonstram que um pior prognóstico da COVID-19 está correlacionado com alelos que influenciam nos níveis de expressão dessas moléculas, como a presença do alelo C no SNP -174 IL-6, do alelo G -1082 IL-10, alelo C na -592 IL-10 e -819 também da IL-10, que aumentam a expressão de seus níveis, respectivamente (DECLERCQ; LEEUW; LAMBRECHT, 2022; LEITE et al., 2021; LIU et al., 2022; MARQUES et al., 2022).

Além disso, algumas destas mesmas alterações genéticas acima citadas foram associadas a enfermidades que são caracterizadas como fatores de risco para o desenvolvimento da infecção causada pelo Sars-CoV-2, como obesidade, diabetes e HAS. Por consequência, esses polimorfismos podem estar indiretamente correlacionados à prevalência dessas comorbidades com o pior prognóstico da doença (GOYENECHEA; PARRA; MARTÍNEZ, 2007; BAI et al., 2014)

Ao realizar a abordagem de gene candidato, Tanimine e demais autores (2021) constaram alguns fenótipos e genótipos independentes que poderiam estar associados ao Sars-CoV-2. As amostras por eles utilizadas contemplam um *n* de 230 pacientes, oriundos de três hospitais localizados em Hiroshima, Japão, os quais foram diagnosticados com COVID-19 por RT-qPCR, sendo considerados graves aqueles que precisaram de ventilação mecânica e não

graves os que não precisaram. Dentre os SNPs analisados, assim como para Wang et al. (2020), corroborando com o presente estudo, aqueles com o alelo G no SNP rs1143627, tiveram um risco aumentado de quatro a sete vezes do desenvolvimento da forma grave da COVID-19 (OR ajustado [aOR], 7,1; IC 95%, 1,8– 27,6 e OR, 4,6; IC 95%, 1,3-17,0).

Ao relacionar o nível de expressão da IL-1 β , foi verificado que, ao realizar a comparação entre os dois grupos, aqueles que necessitaram de internação hospitalar estão associados a uma baixa expressão desta citocina. No entanto, Boumaza et al. (2021), relatou que o Sars-CoV-2 vivos, ao infectarem monócitos, estimula uma maior síntese de citocinas pró inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6 e TNF. Diante disso, é notável que em indivíduos infectados pelo Sars-CoV-2, o predomínio da população leucocitária se dá por células de origem mieloide, como monócitos, mas em sua grande parte por neutrófilos, os quais não expressam o mRNA para a IL-1 β , mas os transcritos para esta citocina são rapidamente induzidos após a exposição ao fator recombinante estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (rGM-CSF), o que pode indicar uma fonte potencial de expressão de IL-1 β nestes pacientes (QUAYLE et al., 1994; QUAYLE et al., 1995; SILVA et al., 2021). Por sua vez, ZIENOLDDINY e colaboradores (2004), relatam que o alelo T confere o caráter pró inflamatório da citocina, além de estar associado a um aumento em seu nível de expressão (LIND; HAUGEN; ZIENOLDDINY, 2007). Já o alelo C foi associado a uma baixa expressão, levando a uma pior resposta imune (LIU et al., 2013). Contudo, vale destacar que em outras infecções, como naquelas causadas pela *H. pylori*, variantes genéticas, incluindo a -31 na região promotora da *IL-1 β* possuem influência no nível de síntese destas moléculas (IDRIS et al, 2021)

Como a grande família da IL-1 é bastante ampla e possui citocinas com diferentes funções, outros genes dentro desta gama de membros também já foram estudados. Meyer et al. (2014), observou que variantes no gene da *IL-IRN*, que tem papel crucial na expressão do receptor antagonista da IL-1 (IL-1Ra), cuja função é inibir o potencial inflamatório da IL-1, estão relacionadas ao baixo risco de desenvolvimento de SDRA e choque séptico, estando estas entre as principais consequências do quadro grave de COVID-19. Em contrapartida, pesquisas mostram que polimorfismos no gene da IL-1 α tem possível relação com uma maior disseminação viral nasofaríngea (CHEN et al., 2006; ABOBAKER; NAGIB; ALSOUFI, 2021).

Concluindo, há evidências suficientes que a inflamação exacerbada é uma das principais características da COVID-19. Dentre as diversas moléculas que participam desse processo, a IL-1 β tem papel crucial na proliferação dela, visto que desempenha diferentes funções ao longo desse mecanismo, como: participar de vias de ativação inflamatória, assim como estimular a síntese de outros membros que compõe o processo inflamatório, processo o qual está

amplamente associado a um pior desfecho clínico da doença. Para mais, variantes genéticas estão ganhando um papel putativo na imunomodulação do hospedeiro, e conseqüentemente, a forma como o corpo responde à invasão de um patógeno.

Vale destacar que, no presente estudo, o público utilizado é composto integralmente por indivíduos não vacinados, ou seja, quando a coleta de amostras destes foi realizada, a vacinação para o público em geral ainda era escassa. Contudo, é importante ressaltar que algumas vacinas tendem a influenciar a imunomodulação do hospedeiro, como é o caso da BCG, que em algumas infecções, pode estimular leucócitos a sintetizar uma maior concentração de IL-1 β a fim de diminuir a viremia (ARTS et al., 2018; DELSHAD et al., 2022).

Entretanto, apesar de a vacina ser um possível interferente válido, que como citado anteriormente, se fosse realizado o mesmo estudo atualmente com os mesmos indivíduos talvez o resultado obtido não fosse o mesmo, uma vez que esta pode influenciar diretamente o sistema imunológico e a interação patógeno-hospedeiro, avaliar uma população homogênea, ou seja, integralmente não vacinada, possibilita a visualização da grave extensão que a COVID-19 pode percorrer, uma vez que a ausência da anticorpos contra o Sars-CoV-2 se faz presente. Desta forma, podemos conhecer o real papel das variantes genéticas nesta condição e estarmos melhores preparados em eventuais ressurgimentos da infecção. Além disso, como citado em outras pesquisas, é possível também notar como a vacina é uma ferramenta poderosa no combate às infecções, seja na COVID-19, H1N1, Poliomielite, dentre outras (BECHINI et al., 2022; BEE et al., 2022; GOMES et al., 2022; OLIVEIRA et al., 2022).

Parte dos dados clínicos obtidos aqui foram coletados diretamente dos prontuários clínicos dos pacientes, enquanto os indivíduos do grupo não hospitalizado puderam responder a um questionário. Isso acabou influenciando na completude das informações, uma vez que nem sempre os dados estavam inseridos no prontuário e acabamos por não conseguir ter todas as informações para todos os participantes. Contudo, há relatos na literatura que demonstram que a utilização de dados médicos autorrelatados é válida e que os resultados são consistentes com aqueles obtidos através do uso de dados extraídos do prontuário médico (TUNG et al., 2011; ROBERTS et al., 2022). Portanto, mesmo utilizando fontes diferentes nossos resultados são coerentes e robustos.

Por fim, é conhecido que este estudo apresenta particularidades que podem divergir de outras pesquisas, como o tamanho do grupo amostral. Contudo, vale frisar que vivemos em um país diversificado, ou seja, a população estudada é considerada altamente miscigenada, não sendo possível aplicar fidedignamente, achados genéticos oriundos de outras populações. Por se tratar de uma doença recente, estudos envolvendo a associação destes polimorfismos com

uma população tão diversa são escassos, sendo necessários mais estudos que avaliem, como a atual pesquisa, a correlação desses SNP com o pior prognóstico da infecção, uma vez que ainda há indivíduos acometidos pelo vírus e alguns mecanismos ainda não são totalmente conhecidos.

7 CONCLUSÃO

A infecção pelo Sars-CoV-2 pode evoluir de diferentes formas em diferentes indivíduos. A forma como a doença irá progredir depende de vários fatores, incluindo a genética tanto do hospedeiro como do patógeno. Nesse sentido, foi verificado que pessoas portadoras do alelo G no polimorfismo -31 região promotora do gene da IL-1 β (rs1143627) apresentam um risco de duas vezes mais do que aqueles portadores do alelo A de desenvolver quadros graves da COVID-19, e conseqüentemente, necessitar de internação hospitalar. No entanto, igualmente neste gene, para as variantes em -511 (G/A) e no Íntron 2 (G/A), não foi obtido um valor significativo predizendo associação a um pior prognóstico.

Outro ponto a se destacar foi a presença de valores significativos associados a fatores de riscos que contribuem para o agravamento da enfermidade em questão, como idade e IMC, além de hipertensão, todos com valores significativos de $p=0,0001$. Vale destacar que estes fatores já foram descritos em outras pesquisas, que corroboram com o atual resultado. Trazendo à tona os sintomas avaliados é possível notar que alguns também possuem valores significativos ao realizar a comparação entre os grupos categóricos.

Ao analisar as variáveis com o nível de expressão da citocina IL-1 β , apenas dentro do grupo dos não hospitalizados foi observado valores com significância, sendo que aqueles com infecção prévia pelo Influenza ou resfriado apresentaram haplótipos relacionados a maior expressão desta proteína, que está intimamente ligada a resposta antiviral nos organismos.

Com base em nosso estudo e em outros previamente realizados, é notável que a IL-1 β participa ativamente na resposta imune e inflamatória contra uma gama de infecções, incluindo a proveniente do Sars-CoV-2, e que variações genéticas em genes que expressam estas proteínas podem interferir diretamente na forma como o organismo irá responder a estímulos patogênicos. Desta forma, há necessidade de mais estudos avaliando essa associação com prognóstico, dado que estes resultados são importantes ferramentas para melhor compreender mecanismos associados a COVID-19.

8 REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K; LICHTMAN, A; POBER, J.S. **Imunologia celular e molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2015.

ABOBAKER, Anis; NAGIB, Taha; ALSOUFI, Ahmed. The impact of certain genetic variants (single nucleotide polymorphisms) on incidence and severity of COVID-19. **The Journal of Gene Medicine**, v. 23, n. 2, 2021.

ALBOSALE, Abbas Hadi; MASHKINA, Elena Vladimirovna. Association Between Promoter Polymorphisms of IL-1B, IL-4 and IL-6 Genes and a Viral Load Infected Women with Human Papillomavirus. **Journal of Reproduction & Infertility**, v. 22, n. 2, p. 92, 2021..

JDS, Almeida et al. CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS DE COVID-19 NO MARANHÃO: Uma breve análise. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**. 2020.

ALSCHULER, Lise et al. Integrative considerations during the COVID-19 pandemic. **Explore (New York, NY)**, v. 16, n. 6, p. 354, 2020.

ALSCHULER, Lise et al. Integrative considerations during the COVID-19 pandemic. **Explore (New York, NY)**, v. 16, n. 6, p. 354, 2020.

ARMAN, Ahmet et al. O polimorfismo VNTR no gene codificador do antagonista do receptor da interleucina-1 está associado com a doença arterial coronariana. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, n. 5, p. 293-298, 2008.

ARTS, Rob JW et al. BCG vaccination protects against experimental viral infection in humans through the induction of cytokines associated with trained immunity. **Cell host & microbe**, v. 23, n. 1, p. 89-100. e5, 2018.

BAI, Hua et al. Association between interleukin 10 gene polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus in a Chinese population. **Journal of International Medical Research**, v. 42, n. 3, p. 702-710, 2014.

BÁRCENA, Montserrat et al. Tomografia crioelétrica do vírus da hepatite de camundongo: insights sobre a estrutura do coronavírus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 2, pág. 582-587, 2009.

BECHINI, Ângela et al. Revisão das evidências científicas para apoiar as recomendações da vacinação de dose completa DTaP-IPV em crianças em idade pré-escolar na Itália. **Revisão de Peritos de Vacinas**, n. recém-aceito, 2022.

BEE, Grega Rúbia et al. Vacinas contra COVID-19 disponíveis no Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 6246-6263, 2022.

BEN-ARI, Ziv et al. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. **The American journal of gastroenterology**, v. 98, n. 1, p. 144-150, 2003.

BÖREKÇI, Gülay et al. Kronik hepatit B ve C hastalarında IL-1 Beta, IL-1 reseptör antagonisti ve IL-8 gen polimorfizmlerinin araştırılması. **Mikrobiyol Bul**, v. 48, n. 2, p. 271-282, 2014.

BOUMAZA, Asma et al. Monocytes and macrophages, targets of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: the clue for coronavirus disease 2019 immunoparalysis. **The Journal of infectious diseases**, v. 224, n. 3, p. 395-406, 2021.

BURKE, Rachel M. et al. Symptom profiles of a convenience sample of patients with COVID-19—United States, January–April 2020. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 69, n. 28, p. 904, 2020.

CAI, Qingxian et al. Obesity and COVID-19 severity in a designated hospital in Shenzhen, China. **Diabetes care**, v. 43, n. 7, p. 1392-1398, 2020.

CALABRESE, Leonard; WINTHROP, Kevin L. Rheumatology and COVID-19 at 1 year: facing the unknowns. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 80, n. 6, p. 679-681, 2021.

CALEGARO, Marco Montarroyos. Psicologia e Genética: O Que Causa o Comportamento?. Brien & Mind: **revista eletrônica de divulgação científica**, 2001.

CAMPOS, Diego et al. Uma abordagem sobre a inter-relação de citocinas na artrite reumatóide. *Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente*, v. 7, n. 1, p. 93-102, 2016.

CARSANA, Luca et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. **The Lancet infectious diseases**, v. 20, n. 10, p. 1135-1140, 2020.

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

CEVIK, Muge; BAMFORD, C. G. G.; HO, Antonia. COVID-19 pandemic—a focused review for clinicians. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, n. 7, p. 842-847, 2020.

CHEN, Wei-Ju et al. Nasopharyngeal shedding of severe acute respiratory syndrome—associated coronavirus is associated with genetic polymorphisms. **Clinical infectious diseases**, v. 42, n. 11, p. 1561-1569, 2006.

CHEN, Xiaohua et al. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients. **Clinical infectious diseases**, 2020.

CIOTTI, Marco et al. The COVID-19 pandemic. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 57, n. 6, p. 365-388, 2020.

CONTI, P. et al. Coronavirus-19 (SARS-CoV-2) induces acute severe lung inflammation via IL-1 causing cytokine storm in COVID-19: a promising inhibitory strategy. **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 34, n. 6, p. 1971-1975, 2020.

CORMAN, Victor M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 3, p. 2000045, 2020.

CRAYNE, Courtney B. et al. The immunology of macrophage activation syndrome. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 119, 2019.

CRON, Randy Q. COVID-19 cytokine storm: targeting the appropriate cytokine. **The Lancet Rheumatology**, v. 3, n. 4, p. e236-e237, 2021.

CRON, Randy Q.; CARICCHIO, Roberto; CHATHAM, W. Winn. Calming the cytokine storm in COVID-19. **Nature Medicine**, v. 27, n. 10, p. 1674-1675, 2021.

DARBEHESHTI, Farzaneh; REZAEI, Nima. Genetic predisposition models to COVID-19 infection. **Medical hypotheses**, v. 142, p. 109818, 2020.

DARBY, Alistair C.; HISCOX, Julian A. Covid-19: variants and vaccination. **bmj**, v. 372, 2021.

ALMEIDA-PITITTO, Bianca et al. Severity and mortality of COVID 19 in patients with diabetes, hypertension and cardiovascular disease: a meta-analysis. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2020.

DECLERCQ, Jozefien; DE LEEUW, Elisabeth; LAMBRECHT, Bart N. Inflammasomes and IL-1 family cytokines in SARS-CoV-2 infection: From prognostic marker to therapeutic agent. **Cytokine**, p. 155934, 2022.

DEER, Rachel R. et al. Characterizing long COVID: deep phenotype of a complex condition. **EBioMedicine**, v. 74, p. 103722, 2021.

DELSHAD, Mahda et al. Host genetic diversity and genetic variations of SARS-CoV-2 in COVID-19 pathogenesis and the effectiveness of vaccination. **International Immunopharmacology**, p. 109128, 2022.

DHIFALLAH, Imen Ben et al. Interleukin IL-1B gene polymorphism in Tunisian patients with chronic hepatitis B infection: Association with replication levels. **Microbiology and Immunology**, v. 64, n. 7, p. 512-519, 2020.

DIAO, Bo et al. Accuracy of a nucleocapsid protein antigen rapid test in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 2, p. 289. e1-289. e4, 2021.

DRIGGIN, Elissa et al. Cardiovascular considerations for patients, health care workers, and health systems during the COVID-19 pandemic. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 18, p. 2352-2371, 2020.

DUCHENE, Sebastian et al. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. **Virus evolution**, v. 6, n. 2, p. veaa061, 2020.

DUFORT, Elizabeth M. et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 4, p. 347-358, 2020.

ESTEVES, Pedro José. Coronavírus. **Revista de Ciência Elementar**, v. 8, n. 3, 2020.

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

FENG, Shanshan et al. Potential genes associated with COVID-19 and comorbidity. **International journal of medical sciences**, v. 19, n. 2, p. 402, 2022.

FOX, Sharon E. et al. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 7, p. 681-686, 2020.

FRESÁN, Ujué et al. Independent Role of Severe Obesity as a Risk Factor for COVID-19 Hospitalization: A Spanish Population-Based Cohort Study. **Obesity**, v. 29, n. 1, p. 29-37, 2021.

FRICKE-GALINDO, Ingrid; FALFÁN-VALENCIA, Ramcés. Genetics Insight for COVID-19 Susceptibility and Severity: A Review. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 1057, 2021.

GAGLIARDI, Rubens José. Hipertensão arterial e AVC. **ComCiência**, n. 109, p. 0-0, 2009.

GAO, Ya-dong et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: a review. **Allergy**, v. 76, n. 2, p. 428-455, 2021.

GARCÍA-RAMÍREZ, Román Alejandro et al. TNF, IL6, and IL-1B polymorphisms are associated with severe influenza A (H1N1) virus infection in the Mexican population. **PloS one**, v. 10, n. 12, p. e0144832, 2015.

GIANNITRAPANI, Lydia et al. Outcome predictors in SARS-CoV-2 disease (COVID-19): The prominent role of IL-6 levels and an IL-6 gene polymorphism in a western Sicilian population. **Journal of Infection**, 2022.

GIEDRAITIS, Vilmantas et al. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. **Journal of neuroimmunology**, v. 112, n. 1-2, p. 146-152, 2001.

GOMES, Luana Rigo et al. Avaliação da prevalência de H1N1 no Brasil entre 2016 e 2020 e a importância da vacinação como estratégia na redução dos casos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e235111335409-e235111335409, 2022.

GOMEZ, L. M. et al. Analysis of IL-1B, TAP1, TAP2 and IKBL polymorphisms on susceptibility to tuberculosis. **Tissue antigens**, v. 67, n. 4, p. 290-296, 2006.

GONZAGA, Daniel Vinícius Barbosa. Interleucina-1: Revisão de literatura das funções biológicas dos membros da família IL-1. **Acervo da Iniciação Científica**, n. 1, 2013.

GOULART, Letícia Silveira; SANTOS, Kassila Conceição Ferreira; DA SILVA, Débora Aparecida. Características clínicas e laboratoriais da covid-19: uma análise na internação hospitalar. **Rev Enferm Atual In Derme** v. 95, n. 36, 2021.

GOURRAUD, Pierre-Antoine et al. Introduction to statistical analysis of population data in immunogenetics. **Transplant Immunology**, v. 14, n. 3-4, p. 245-253, 2005.

GOYENECHEA, Estibaliz; PARRA, Dolores; MARTÍNEZ, J. Alfredo. Impact of interleukin 6- 174G> C polymorphism on obesity-related metabolic disorders in people with excess in body weight. **Metabolism**, v. 56, n. 12, p. 1643-1648, 2007.

GRIVICICH, Ivana; REGNER, Andréa; DA ROCHA, Adriana Brondani. Morte celular por apoptose. **Revista brasileira de cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 335-343, 2007.

HALL, Noémi Borsay et al. Polymorphisms in TICAM2 and IL-1B are associated with TB. **Genes & Immunity**, v. 16, n. 2, p. 127-133, 2015.

HIRANKARN, Nattiya et al. Interleukin-1 β gene polymorphism associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus infection. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 12, n. 5, p. 776, 2006.

HARRISON, Andrew G.; LIN, Tao; WANG, Penghua. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. **Trends in immunology**, 2020.

HARRISON, P. et al. Interleukin-1 promoter region polymorphism role in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of IL-1B-511A/G variant reveals association with rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, v. 47, n. 12, p. 1768-1770, 2008.

HEKIMIAN, Guillaume; FRERE, Corinne; COLLET, J.-P. COVID-19 et assistance circulatoire. In: **Annales de Cardiologie et d'Angéiologie**. Elsevier Masson, 2020. p. 360-364.

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

HONCE, Rebekah; SCHULTZ-CHERRY, Stacey. Impact of obesity on influenza A virus pathogenesis, immune response, and evolution. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1071, 2019.

HSU, Li Yang; CHIA, Po Ying; LIM, JF The novel coronavirus (SARS-CoV-2) pandemic. *Ann Acad Med Singapore* , v. 49, n. 3, pág. 105-7, 2020.

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

IDRIS, Abeer Babiker et al. Primeiros insights sobre a associação de bases moleculares entre polimorfismos promotores do gene IL1B e infecção por Helicobacter pylori na população sudanesa: abordagem computacional. **BMC microbiology** , v. 21, n. 1, pág. 1-15, 2021.

INFANTINO, Maria et al. Closing the serological gap in the diagnostic testing for COVID-19: The value of anti-SARS-CoV-2 IgA antibodies. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 3, p. 1436-1442, 2021.

IVANSKI, Fernanda et al. Estudo da associação de polimorfismos genéticos da il-18 na covid-19. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 102593, 2022.

KEVADIYA, Bhavesh D. et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. **Nature materials**, v. 20, n. 5, p. 593-605, 2021.

KHAZIM, Khaled et al. Interleukin 1 gene polymorphism and susceptibility to disease. **Immunological reviews**, v. 281, n. 1, p. 40-56, 2018.

KLÜCK, Viola; LIU, Ruiqi; JOOSTEN, Leo AB. The role of interleukin-1 family members in hyperuricemia and gout. **Joint Bone Spine**, p. 105092, 2020.

KLUYTMANS, Marjolein et al. SARS-CoV-2 infection in 86 healthcare workers in two Dutch hospitals in March 2020. **MedRxiv**, 2020.

KREUTZ, Luiz C. et al. SARS-cov-2/COVID/19 em animais de companhia. **Ars Veterinaria**, v. 37, n. 1, p. 01-02, 2021.

LAHIRI, Debomoy K.; NURNBERGER JR, John I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic acids research**, v. 19, n. 19, p. 5444, 1991.

LEITE, Mauro Meira. et al. Predictive immunogenetic markers in COVID-19. **Human Immunology**, v. 82, n. 4, p. 247-254, 2021.

LI, Bo et al. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. **Clinical research in cardiology**, v. 109, n. 5, p. 531-538, 2020.

LI, Qun et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. **New England journal of medicine**, 2020.

LIMA, Luana Nepomuceno Gondim Costa; DE SOUSA, Maisa Silva; LIMA, Karla Valéria Batista. As descobertas genômicas do SARS-CoV-2 e suas implicações na pandemia de COVID-19. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2020.

LIND, Helge; HAUGEN, Aage; ZIENOLDDINY, Shanbeh. Differential binding of proteins to the IL1B- 31 T/C polymorphism in lung epithelial cells. **Cytokine**, v. 38, n. 1, p. 43-48, 2007.

LIU, Benjamin M. et al. Clinical significance of measuring serum cytokine levels as inflammatory biomarkers in adult and pediatric COVID-19 cases: A review. **Cytokine**, v. 142, p. 155478, 2021.

LIU, Yang et al. Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 5, 2020.

LIU, Can et al. Time-resolved systems immunology reveals a late juncture linked to fatal COVID-19. **Cell**, v. 184, n. 7, p. 1836-1857. e22, 2021.

LIU, Yingxia et al. Genetic variants in IL1A and IL-1B contribute to the susceptibility to 2009 pandemic H1N1 influenza A virus. **BMC immunology**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2013.

LIU, Xue-qing et al. Clinical characteristics and related risk factors of disease severity in 101 COVID-19 patients hospitalized in Wuhan, China. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 43, n. 1, p. 64-75, 2022.

LONG, JC. Multiple Locus Haplotype Analysis. Software and documentation distributed by the author. Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, **National Institutes of Health**, Bethesda, 1999.

LOUREIRO, Camila Melo Coelho et al. Alterações pulmonares na COVID-19. **Revista Científica Hospital Santa Izabel**, v. 4, n. 2, p. 89-99, 2020.

MACHADO, Paulo RL et al. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 79, p. 647-662, 2004.

MAEDA, Teresinha; NORONHA, Arnaldo José. O pulmão e as infecções virais. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto (TÍTULO NÃO-CORRENTE)**, v. 9, n. 2, 2010.

MALIK, Yasmin A. Properties of coronavirus and SARS-CoV-2. **The Malaysian journal of pathology**, v. 42, n. 1, p. 3-11, 2020.

MANGANO, V. D.; MODIANO, D. Host genetics and parasitic infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 12, p. 1265-1275, 2014.

MANOLIO, Teri A. "Genomewide association studies and assessment of the risk of disease." **New England journal of medicine** v. 363, no. 2, p. 166-176, 2010.

MARCOLINO, Milena S. et al. Clinical characteristics and outcomes of patients hospitalized with COVID-19 in Brazil: Results from the Brazilian COVID-19 registry. **International Journal of infectious diseases**, v. 107, p. 300-310, 2021.

MARQUES, M. O. et al. A tempestade de citocinas e o desbalanço imune no COVID-19 grave. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 44, p. S656-S657, 2022.

MATHESON, Nicholas J.; LEHNER, Paul J. How does SARS-CoV-2 cause COVID-19?. **Science**, v. 369, n. 6503, p. 510-511, 2020.

MCGUIGAN, Fiona EA; RALSTON, Stuart H. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. **Psychiatric genetics**, v. 12, n. 3, p. 133-136, 2002.

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

MERAD, Miriam et al. The immunology and immunopathology of COVID-19. **Science**, v. 375, n. 6585, p. 1122-1127, 2022.

MEYER, Nuala J. et al. A functional synonymous coding variant in the IL1RN gene is associated with survival in septic shock. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 190, n. 6, p. 656-664, 2014.

MEYER, Nuala J. et al. IL1RN coding variant is associated with lower risk of acute respiratory distress syndrome and increased plasma IL-1 receptor antagonist. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 187, n. 9, p. 950-959, 2013.

MIGITA, Kiyoshi et al. Polymorphisms of interleukin-1 β in Japanese patients with hepatitis B virus infection. **Journal of hepatology**, v. 46, n. 3, p. 381-386, 2007.

MINTON, Elizabeth J. et al. Clearance of hepatitis C virus is not associated with single nucleotide polymorphisms in the IL-1,-6, or-10 genes. **Human immunology**, v. 66, n. 2, p. 127-132, 2005.

MONTEIL, Vanessa et al. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. **Cell**, v. 181, n. 4, p. 905-913. e7, 2020.

MONTOYA, María et al. Immune responses against African swine fever virus infection. 2021.

MORRIS, Gerwyn et al. The pathophysiology of SARS-CoV-2: A suggested model and therapeutic approach. **Life sciences**, p. 118166, 2020.

NASLEDNIKOVA, I. O. et al. Allelic polymorphism of cytokine genes during pulmonary tuberculosis. **Bulletin of experimental biology and medicine**, v. 148, n. 2, p. 175-180, 2009.

NEMETZ, Andrea et al. IL1B gene polymorphisms influence the course and severity of inflammatory bowel disease. **Immunogenetics**, v. 49, n. 6, p. 527-531, 1999.

O'BRIEN, Thomas R. et al. Weak induction of interferon expression by SARS-CoV-2 supports clinical trials of interferon lambda to treat early COVID-19. **Clin Infect Dis**, v. 71, n. 6, p. 1410-1412, 2020.

OLIVEIRA, Erivan de Souza; MORAIS, Arlandia Cristina Lima Nobre de. Covid-19: uma pandemia que alerta à população. **InterAmerican Journal of Medicine and Health**, v. 3, p. 1-7, 2020.

OLIVEIRA, Vinicius Faustino Lima; FERREIRA, Elane de Nazaré Magno. Complicações Neurológicas oriundas da infecção por SARS-CoV-2: uma revisão da literatura. **Revista Neurociências**, v. 28, p. 1-14, 2020.

OLIVEIRA, Lucas Nóbrega de et al. Avaliação da eficácia e segurança das principais vacinas utilizadas contra COVID-19 no Brasil Evaluation of the efficacy and safety of the main vaccines used against COVID-19 in Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 31753-31767, 2022.

OXENIUS, Annette; ZAJAC, Allan J. Editorial overview: Viral immunology before COVID-19. **Current opinion in virology**, v. 52, p. 217, 2022.

PAIM, Adriana Alves Oliveira et al. Will a little change do you good? A putative role of polymorphisms in COVID-19. **Immunology Letters**, 2021.

PEDERSEN, Savannah F. et al. SARS-CoV-2: a storm is raging. **The Journal of clinical investigation**, v. 130, n. 5, p. 2202-2205, 2020.

PEREIRA, André Barreto et al. Citocinas e quimiocinas no transplante renal. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 31, n. 4, p. 286-296, 2009.

POCIOT, F. et al. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 β (IL-1 β) gene correlates with IL-1 β secretion in vitro. **European journal of clinical investigation**, v. 22, n. 6, p. 396-402, 1992.

PRANZATELLI, Michael R. Advances in biomarker-guided therapy for pediatric-and adult-onset neuroinflammatory disorders: targeting chemokines/cytokines. *Frontiers in immunology*, v. 9, p. 557, 2018.

PRATHER, Kimberly A.; WANG, Chia C.; SCHOOLEY, Robert T. Reducing transmission of SARS-CoV-2. **Science**, v. 368, n. 6498, p. 1422-1424, 2020.

QUAYLE, Julie A. et al. Cytokine expression by inflammatory neutrophils. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 233-239, 1994.

QUAYLE, Julie A. et al. Interleukin-1 expression by neutrophils in rheumatoid arthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 54, n. 11, p. 930-933, 1995.

RAD, Roland et al. Synergistic effect of Helicobacter pylori virulence factors and interleukin-1 polymorphisms for the development of severe histological changes in the gastric mucosa. **The Journal of infectious diseases**, v. 188, n. 2, p. 272-281, 2003.

RANUCCI, Marco et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 7, p. 1747-1751, 2020.

RAWAT, Munmun et al. COVID-19 in newborns and infants—low risk of severe disease: silver lining or dark cloud?. **American journal of perinatology**, v. 37, n. 08, p. 845-849, 2020.

RIBEIRO, Cátia Silene Sversuti; VISENTAINER, Jeane Eliete Lagula; MOLITERNO, Ricardo Alberto. Association of cytokine genetic polymorphism with hepatitis B infection evolution in adult patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 435-440, 2007.

ROBERTS, Genevieve HL et al. Expanded COVID-19 phenotype definitions reveal distinct patterns of genetic association and protective effects. **Nature Genetics**, v. 54, n. 4, p. 374-381, 2022.

ROCHA, Andreia Possatti da et al. Polimorfismos genéticos: implicações na patogênese do carcinoma medular de tireóide. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia**, v. 51, p. 723-730, 2007.

ROSSI, Fabio Henrique. Tromboembolismo venoso em pacientes COVID-19. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 19, 2020.

ROTA, Paul A. et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. **science**, v. 300, n. 5624, p. 1394-1399, 2003.

SABETI, Mohammad et al. Significance of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in inducing cytokine expression in periapical lesions. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 1, p. 47-50, 2012.

DOS SANTOS, Taides Tavares; VARAVALLO, Maurilio Antonio. A importância de probióticos para o controle e/ou reestruturação da microbiota intestinal. **Revista científica do ITPAC**, v. 4, n. 1, p. 40-49, 2011.

SHEN, G.-Q.; ABDULLAH, K. G.; WANG, Q. K. The TaqMan Method for SNP Genotyping. In: [s.l: s.n.]. p. 293–306.

SILVA FILHO, Edivá Basilio da et al. Infecções respiratórias de importância clínica: uma revisão sistemática. 2017.

SILVA, Luiz Henrique Agra et al. Neutrófilos e COVID-19: O caminho até agora. **Imunofarmacologia internacional**, v. 90, p. 107233, 2021.

SILVA, Gulnar Azevedo; JARDIM, Beatriz Cordeiro; LOTUFO, Paulo Andrade. Mortalidade por COVID-19 padronizada por idade nas capitais das diferentes regiões do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, p. e00039221, 2021.

SMIESZEK, Sandra P. et al. Assessing the potential correlation of polymorphisms in the IL6R with relative IL6 elevation in severely ill COVID-19 patients'. **Cytokine**, v. 148, p. 155662, 2021.

SONG, Jin-Woo; KOH, Young-Sang. Recombinant ACE2-Ig Fusion Protein Neutralizes SARS-CoV-2. **Journal of Bacteriology and Virology**, v. 52, n. 1, p. 39-40, 2022.

T. Koyama, D. Platt & L. Parida. Variant analysis of COVID-19 genomes. **Bull World Health Organ**, 2020.

TAKUTO, Takahashi et al. Pharmacogenomics of COVID-19 therapies. **NPJ Genomic Medicine**, v. 5, n. 1, 2020.

TAN, Li Yin; KOMARASAMY, Thamil Vaani; RMT BALASUBRAMANIAM, Vinod. Hyperinflammatory immune response and COVID-19: a double edged sword. **Frontiers in immunology**, p. 3981, 2021.

TANAKA, Yasuhito et al. Impact of interleukin-1 β genetic polymorphisms on the development of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma in Japan. **The Journal of infectious diseases**, v. 187, n. 11, p. 1822-1825, 2003.

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

TEICH, Vanessa Damazio et al. Características epidemiológicas e clínicas dos pacientes com COVID-19 no Brasil. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, 2020.

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

TERRA, Rodrigo et al. Efeito do exercício no sistema imune: resposta, adaptação e sinalização celular. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 18, n. 3, p. 208-214, 2012.

TIAN, Sijia et al. Characteristics of COVID-19 infection in Beijing. **Journal of infection**, v. 80, n. 4, p. 401-406, 2020.

TRIPATHY, Anuradha S. et al. Association of IL1RN VNTR polymorphism with chikungunya infection: a study from Western India. **Journal of Medical Virology**, v. 91, n. 11, p. 1901-1908, 2019.

TUNG, Joyce Y. et al. Efficient replication of over 180 genetic associations with self-reported medical data. **PloS one**, v. 6, n. 8, p. e23473, 2011.

UCCIFERRI, Claudio; VECCHIET, Jacopo; FALASCA, Katia. Role of monoclonal antibody drugs in the treatment of COVID-19. **World journal of clinical cases**, v. 8, n. 19, p. 4280, 2020.

USMANI, G. Naheed; WODA, Bruce A.; NEWBURGER, Peter E. Advances in understanding the pathogenesis of HLH. **British journal of haematology**, v. 161, n. 5, p. 609-622, 2013.

VABRET, Nicolas et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. **Immunity**, v. 52, n. 6, p. 910-941, 2020.

VALIM, Aryane Martininghe et al. Caracterização dos casos de COVID-19 entre residentes em saúde de Hospital de Ensino de Campo Grande-MS. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 3780-3797, 2021.

VAN DEN EECKHOUT, Bram; TAVERNIER, Jan; GERLO, Sarah. Interleukin-1 as innate mediator of T cell immunity. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 621931, 2021.

VAN KESSEL, Sophie AM et al. Post-acute and long-COVID-19 symptoms in patients with mild diseases: a systematic review. **Family practice**, v. 39, n. 1, p. 159-167, 2022.

VIEIRA, Mariana Soares et al. O uso de inibidores do sistema renina angiotensina aldosterona em pacientes hipertensos com COVID-19. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 10, p. e8779-e8779, 2021.

WANG, Renxi. Genetic variation of interleukin-1 receptor type 1 is associated with severity of COVID-19 disease. **Journal of Infection**, 2021.

WANG, Xinhui et al. Comorbid chronic diseases and acute organ injuries are strongly correlated with disease severity and mortality among COVID-19 patients: a systemic review and meta-analysis. **Research**, v. 2020, 2020.

WEISS, Susan R. ; LEIBOWITZ, Julian L. Patogênese da infecção por coronavírus murino. **Nidovírus** , p. 259-278, 2007.

WISSE, Brent E. A síndrome inflamatória: o papel das citocinas do tecido adiposo nos distúrbios metabólicos associados à obesidade. **Journal of the American Society of Nephrology** , v. 15, n. 11, pág. 2792-2800, 2004.

WONG, Sunny H.; LUI, Rashid NS; SUNG, Joseph JY. Covid-19 and the digestive system. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 35, n. 5, p. 744-748, 2020.

WU, Di et al. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. **International journal of infectious diseases**, v. 94, p. 44-48, 2020.

WU, Shouquan et al. Genetic polymorphisms of IL-1B, IL6, and TNF α in a Chinese Han population with pulmonary tuberculosis. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.

XU, Xiaoling et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 20, p. 10970-10975, 2020.

XU, Zhe et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet respiratory medicine**, v. 8, n. 4, p. 420-422, 2020.

YANG, Dong; LEIBOWITZ, Julian L. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' terminal. **Pesquisa de vírus**, v. 206, p. 120-133, 2015.

YOO, Eun Joo et al. Influence of IL1B polymorphism on CpG island hypermethylation in Helicobacter pylori-infected gastric cancer. **Virchows Archiv**, v. 456, n. 6, p. 647-652, 2010.

YOUNG, Barnaby E. et al. Effects of a major deletion in the SARS-CoV-2 genome on the severity of infection and the inflammatory response: an observational cohort study. **The Lancet**, v. 396, n. 10251, p. 603-611, 2020.

YU, Zhenhua et al. Modeling and simulations of CoViD-19 molecular mechanism induced by cytokines storm during SARS-CoV2 infection. **Journal of Molecular Liquids**, v. 327, p. 114863, 2021.

ZADRAN, Sohila et al. Fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based biosensors: visualizing cellular dynamics and bioenergetics. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 96, n. 4, p. 895-902, 2012.

ZAKI, Ali M. et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. **New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 19, p. 1814-1820, 2012.

ZHANG, Keshan et al. MGF360-9L Is a Major Virulence Factor Associated with the African Swine Fever Virus by Antagonizing the JAK/STAT Signaling Pathway. **Mbio**, v. 13, n. 1, p. e02330-21, 2022.

ZHENG, Kenneth I. et al. Extrapulmonary complications of COVID-19: A multisystem disease?. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 1, p. 323-335, 2021.

ZHENG, Ying-Ying et al. COVID-19 and the cardiovascular system. **Nature Reviews Cardiology**, v. 17, n. 5, p. 259-260, 2020.

ZHONG, Jixin et al. The immunology of COVID-19: is immune modulation an option for treatment?. **The Lancet Rheumatology**, v. 2, n. 7, p. e428-e436, 2020.

ZHU, Na et al. Um novo coronavírus de pacientes com pneumonia na China, 2019. **New England Journal of Medicine** , 2020.

ZHU, Xiong et al. Multiplex reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with nanoparticle-based lateral flow biosensor for the diagnosis of COVID-19. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 166, p. 112437, 2020.

ZIENOLDDINY, Shanbeh et al. Polymorphisms of the interleukin-1 β gene are associated with increased risk of non-small cell lung cancer. **International journal of cancer**, v. 109, n. 3, p. 353-356, 2004.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP)

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Busca de marcadores genéticos e epigenéticos em pacientes com COVID-19: formação de um biorepositório.

Pesquisador: JULIANA DAL RI LINDENAU

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 32858820.0.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.164.291

Apresentação do Projeto:

Trata-se de macroprojeto coordenado pela professora Juliana Dal-Ri Lindenau, do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, com participação dos pesquisadores Yara Costa Netto Muniz e Guilherme de Toledo e Silva do BEG/CCB/UFSC; Sharbel Weidner Maluf e Tânia Beatriz Creczynski-Pasa do PPGFar/UFSC. Estudo transversal do tipo caso x controle, com 2000 participantes, divididos em dois grupos de 1000 casos e 1000 controles.

Critérios de inclusão: Indivíduos maiores de 18 anos que estejam internados com diagnóstico de COVID-19 e indivíduos saudáveis sem o diagnóstico da infecção. Em carta resposta a pesquisadora informa que os participantes-controle ““Os pacientes controles serão recrutados em diferentes ambulatórios do hospital, tendo como critérios de inclusão ser maior de idade e não apresentar infecção ativa ou ter sido infectado pelo novo

coronavírus”.

Critérios de exclusão: Indivíduos menores de 18 anos. Intervenções: coleta de swab nasal, coleta de sangue, questionário.

Hipótese:

Parte-se da hipótese de que determinadas variantes genéticas relacionadas com maior expressão de genes inflamatórios e com menor produção de marcadores sanguíneos estarão relacionadas com maior suscetibilidade à COVID-19, além de se relacionarem com pior quadro clínico. Além disso, miRNAs que atuam em vias importantes para a expressão desses genes podem contribuir para estes quadros. Adicionalmente, pessoas em tratamento medicamentoso para COVID-19 podem responder de forma diferente devido à presença de variantes que aumentam ou diminuem a expressão de genes de metabolização e ou transporte de fármacos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

1. Constituir um biorepositório de amostras de pacientes com diagnóstico confirmado de COVID-19 que serão utilizadas para as análises propostas;
2. Investigar a influência de polimorfismos genéticos e marcadores epigenéticos sobre a expressão de genes relacionados à resposta imune e a suscetibilidade e/ou severidade da infecção por COVID-19;
3. Analisar polimorfismos genéticos que podem influenciar no ajuste de dose ou no desenvolvimento de efeitos adversos em pacientes tratados para COVID-19.

Objetivo Secundário:

1- Verificar se há associação entre variantes em diversos genes de HLA (classe Ia, Ib, II e III) e em genes relacionados a citocinas e a suscetibilidade à COVID-19. Avaliar a expressão desses marcadores nos pacientes e comparar estes achados com informações disponíveis em bancos de dados populacionais de indivíduos sem infecção buscando determinar marcadores genéticos de suscetibilidade. 2- Verificar se há diferença no curso clínico de pacientes infectados que possuem polimorfismos nos genes analisados. Avaliar se essas variantes influenciam na expressão dos marcadores e correlacionar esses dados com as informações clínicas disponíveis nos prontuários dos pacientes buscando determinar marcadores genéticos de gravidade da infecção. 3- Identificar variantes

genéticas associadas com a presença e com o risco de complicações induzidas por fármacos utilizados para tratamento de COVID-19. Explorar o efeito de polimorfismos em genes candidatos relacionados ao transporte e metabolização destes fármacos sobre a dose recomendada e construir um algoritmo incluindo variáveis genéticas, clínicas e ambientais para predição de dose.4- Analisar a expressão dos miRNAs em amostras de pacientes diagnosticados com a COVID-19 em comparação com amostras de indivíduos saudáveis buscando por marcadores de suscetibilidade.5- Analisar a expressão dos miRNAs em amostras de pacientes com diferentes quadros clínicos de COVID-19, além de pacientes recuperados e saudáveis buscando por marcadores de gravidade da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Análise adequada dos riscos e benefícios.

Riscos: faremos uma coleta de sangue periférico e uma coleta com swab nasal (que é parecido com um cotonete). Nenhum dos dois procedimentos acarretará em dor, entretanto, você pode sentir um leve desconforto no momento da coleta e pode ficar com um hematoma no local da coleta do sangue. Mas não se preocupe, este hematoma desaparecerá em poucos dias sem a necessidade de nenhuma intervenção de sua parte. Para minimizar estes riscos, aconselhamos que você não carregue peso com o braço onde foi realizada a coleta. Também será realizada uma entrevista através de questionário semiestruturado, onde coletaremos informações sociodemográficas e hábitos de vida (coisas como fumar, beber, fazer atividade física, entre outras). Você pode se sentir um pouco constrangido ao longo da entrevista, por incômodo em falar ou, ainda, por mobilização emocional. Desta forma, os riscos serão minimizados, pois, você não precisará responder a qualquer pergunta ou fornecer quaisquer informações durante a entrevista se sentir-se desconfortável ou achar que a resposta trata-se de algo muito particular, contudo os pesquisadores estarão dispostos a lhe ouvir, interromper a entrevista se assim você desejar, retornando a coletar os dados sob sua anuência tão logo se sinta à vontade para continuá-la. Contudo, destacamos que apesar de nossos esforços para manter os dados anônimos, sempre existe a possibilidade mesmo que remota de quebra de sigilo, ainda que involuntária e não intencional. Caso isso aconteça, serão tomadas as providências necessárias de acordo com a legislação.

Benefícios: Você não terá nenhum benefício direto ao participar desta pesquisa, mas os resultados deste

projeto permitirão compreendermos o que faz com que algumas pessoas sejam mais suscetíveis à doença do que outras e porque algumas pessoas respondem melhor aos

tratamentos medicamentosos utilizados do que outras. Essas informações podem contribuir para uma melhor triagem de indivíduos de maior risco e uma melhor personalização de tratamentos em caso de novas infecções.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Destacamos que o projeto informa que “Este macroprojeto pretende constituir um biorrepositório de amostras de pacientes com diagnóstico confirmado de COVID-19 que serão utilizadas para as análises propostas” específicos posteriormente informando a ligação com o presente macroprojeto, quando da realização efetivamente das propostas apresentadas”.

Em carta resposta a pesquisadora informa que “Todas as amostras serão armazenadas em um freezer - 80°C no Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) localizado no Centro de Ciências Biológicas, Campus João David Ferreira Lima, Setor F – Blocos B – 3º andar - Sala 306 sob responsabilidade da pesquisadora principal”.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto assinada pelo pesquisador responsável e pelo Chefe do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, professor Márcio Ferreira Dutra.

Consta autorização institucional, nos termos da resolução 466/12, assinada pela Gerente de Ensino e Pesquisa/HU/UFSC/EBSERH.

TCLE atende as exigências da resolução 466/12, no entanto apresenta muitos termos técnicos ou expressões que dificultam a compreensão por todos os grupos de pacientes atendidos no HU/UFSC/EBSERH.

Consta TCLE específico para o biorrepositório. Consta o questionário aos participantes.

Consta o instrumento para coleta de dados do prontuário.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

As pendências ou inadequações foram sanadas e o biorrepositório, conforme cronograma no formulário base da PB está aprovado até 30 de junho de 2025. No TCLE do biorrepositório há dois campos de autorização de uso das amostras do biorrepositório: (1) o participante do estudo deve autorizar o uso a cada novo projeto ou (2) o participante do estudo autoriza seu uso para projetos com a mesma temática deste projeto. Sendo, portanto, de responsabilidade da coordenadora deste projeto o uso de cada amostra conforme autorização do participante.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_D O P ROJETO_1559520.pdf	10/07/2020 19:06:53		Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	10/07/2020 19:06:32	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
Outros	Prontuario.pdf	10/07/2020 19:05:00	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_COVID19.pdf	10/07/2020 19:04:14	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CONTROLES.pdf	10/07/2020 19:03:58	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Biorepositorio.pdf	10/07/2020 19:03:40	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	10/07/2020 19:02:57	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
Outros	QUESTIONARIO_COVID.pdf	01/06/2020 16:26:18	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Ciencia_da_Instituicao.pdf	01/06/2020 16:24:35	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	01/06/2020 16:21:01	JULIANA DAL RI LINDENAU	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 20
de Julho de 2020

Assinado por:

**Nelson Canzian da Silva
(Coordenador(a))**

**ANEXO B – QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PACIENTES INFECTADOS
PELO SARS-COV-2**

Nome: _____

Prontuário: _____

Sexo: () F () M **Data de nascimento:** ___/___/___

Data coleta: ___/___/___

Telefone para contato: _____

E-mail: _____

Estado civil: () casado(a)/união consensual () solteiro(a) () Separado(a)/divorciado(a) () viúvo(a)

Grau de escolaridade: () fundamental incompleto () fundamental completo () ensino médio incompleto () ensino médio completo () superior incompleto () superior () pós-graduação

Qual é a sua principal ocupação (que gera maior renda): _____

Bloco Histórico de Saúde:

Entrevistador, leia as opções abaixo e em caso de categorias com mais de uma patologia possível, sublinhe a(s) condição(ões) apresentada(s) pelo participante. As questões sobre tratamento medicamentoso somente devem ser aplicadas aqueles participantes que responderam *Sim* na pergunta sobre a condição e se referem a situações atuais ou anteriores.

I.1) Doença arterial coronariana () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.1.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.2) Colesterol e/ou Triglicérides alto (gordura no sangue) () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.2.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.3) Aneurisma, derrame ou acidente vascular cerebral () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.3.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.4) Coagulopatias (trombose, hemofilia, anemia falciforme, outras) () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.4.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____
 Efeitos adversos? _____

I.5) Hipertensão arterial/ pressão alta () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.5.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.6) Diabetes (açúcar no sangue) () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.6.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.7) Doença pulmonar (asma, enfisema, DPOC, outra) () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.7.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.8) Doença respiratória viral (gripe, resfriado comum, faringite, laringite, bronquite, bronquiolite, pneumonia)

() Não () Sim Com que frequência? _____ ou

Há quanto tempo? _____

I.8.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.9) Costuma realizar a vacina da gripe? () Não () Sim

Com que frequência? _____

I.10) Infecções sexualmente transmissíveis (AIDS, sífilis, clamídia, gonorreia, HPV, herpes genital, tricomoníase, outras)? () Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.10.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____

Efeitos adversos? _____

I.11) Doença causada por parasita (amebíase, giardíase, leishmaniose, malária, toxoplasmose, chagas, tricomoníase, esquistossomose, ascaridíase, teníase, outras)

() Não () Sim

Há quanto tempo? _____

I.11.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____

Dose: _____

Há quanto tempo? _____
Efeitos adversos? _____

I.12) Câncer () Não () Sim Há quanto tempo? _____
Qual? _____

I.12.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____
Dose: _____
Há quanto tempo? _____
Efeitos adversos? _____

I.13) Problemas hormonais (hipo ou hipertireoidismo, osteoporose, menopausa, ovário policístico, carência de testosterona, obesidade, outras) () Não () Sim
Há quanto tempo? _____

I.13.1) Utiliza algum medicamento? () Não () Sim Qual? _____
Dose: _____
Há quanto tempo? _____
Efeitos adversos? _____

I.14) Outras doenças ou problemas de saúde? _____

I.15) Algum outro medicamento ou suplemento? (Informar nome, indicação, dose, frequência semanal e horário do dia. Entrevistador, dar atenção especial aos suplementos de vitamina D, C, ferro e ômega 3)

Bloco Estilo de Vida:

II.1) Atualmente, você pratica alguma atividade física de maneira regular (pelo menos 2 vezes por semana)? _____ **II.1.1) Se sim, qual (is):** () corrida () hidroginástica () caminhada () futebol () musculação () vôlei () ginástica () natação () outro (especifique) _____

II.1.2) Total de minutos dispendidos nestas atividades elencadas acima, por semana:
() 40-60 minutos/semana () 61-80 minutos/semana () 81-100 minutos/semana
() 100 ou mais minutos/semana

Sedentário	Pouquíssimo Ativo	Pouco Ativo	Ativo	Bastante Ativo	Atleta

II.1.3) Como você classificaria seu nível de condicionamento físico?

II.2) Você possui alguma limitação física (dor, lesão ou cirurgia nos ossos, músculos ou articulações) que limite e/ou impeça a prática de atividades físicas?

II.3) Você fuma ou já fumou? () Não () Sim, é fumante () Ex-fumante () Fumante passivo

II.3.1) Se sim, em média quantos cigarros você fuma por dia?

II.3.2) Em caso de utilização de narguilé, com qual frequência?

II.4) Você bebe álcool ou já bebeu? () Não () Sim, socialmente () Alcoólatra () Ex- Alcoólatra

II.4.1) Se sim, em média quanto você bebe por dia e qual bebida?

II.5) Você ingere frutas e verduras regularmente (todos os dias)? () Não () Sim

II.5.1) Se sim, em média quantas porções por dia?

II.5.2) Quantas porções são de frutas e vegetais ricos em vitamina C (laranja, limão, tangerina, tomate, brócolis, couve-flor, kiwi, batata doce, morangos, mamão...) por dia?

II.5.3) Quantas porções de leguminosas e oleaginosas (como feijão e castanhas) por dia?

II.6) Você ingere doces ou bebidas açucaradas regularmente (todos os dias)?

() Não () Sim

II.6.1) Se sim, em média quantas porções por dia?

II.7) Você ingere frituras regularmente (todos os dias)? () Não () Sim

II.7.1) Se sim, em média quantas porções por dia?

II.8) De maneira geral, como você classificaria sua alimentação?

Nada saudável	Pouquíssimo Saudável	Pouco Saudável	Saudável	Muito Saudável

Bloco Informações da família:

III.1) Algum parente (primeiro grau) já teve problema respiratório? () Não () Sim () Não sabe informar

Qual condição? _____

Nível de parentesco: _____

III.2) Algum parente (primeiro grau) já teve problema de coagulação? () Não () Sim
() Não sabe informar

Qual condição? _____

Nível de parentesco: _____

III.3) Algum parente (primeiro grau) já teve algum tipo de câncer? () Não () Sim
() Não sabe informar

Qual condição? _____

Nível de parentesco: _____

Espaço extra:

Entrevistador, utilize este espaço para anotar qualquer outra informação relevante fornecida pelo participante

Nome do entrevistador:
