

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

EDUARDO CHAGAS SCHNEIDER

**O SISTEMA IMUNOLÓGICO, SUA PARTICIPAÇÃO E
RESPOSTAS NO CURSO DA COVID-19**

Feito em formato de artigo para a revista RBAC, regras da revista em anexo
Porto Alegre, RS
2020

O SISTEMA IMUNOLÓGICO, SUA PARTICIPAÇÃO E RESPOSTAS NO CURSO DA COVID-19

THE IMMUNOLOGICAL SYSTEM, ITS PARTICIPATION AND RESPONSES IN COVID-19 COURSE

- Eduardo Chagas Schneider - Estudante. Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. Porto Alegre - RS, Brasil.
- Paulo Jaconi Saraiva - Professor Mestre. Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. Porto Alegre - RS, Brasil.
- Alexandre Meneghello Fuentesfria - Professor Doutor. Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. Porto Alegre - RS, Brasil.

RESUMO

A resposta imunológica durante o curso da COVID-19 é de grande importância clínica, por permitir a compreensão principalmente da evolução e de suas consequências nos mais diferentes quadros clínicos observados. O Sars-CoV-2, através de estratégias, consegue desequilibrar o sistema imune e causar um quadro severo conhecido como tempestade de citocinas, esta situação é o que acaba levando o paciente a desenvolver quadros clínicos graves e até mesmo ao óbito. Tendo em vista que o envolvimento de citocinas e dos demais agentes do sistema imune são amplos, a compreensão de todo o processo é imprescindível para o estudo em relação às estratégias de combate ao vírus que de fato é surpreendente. Ferramentas de prognóstico que estão em desenvolvimento, como o escore Dublin-Boston, e o uso de medicamentos off-label para tentar conter o avanço da doença até o estágio mais grave são muito importantes. Nessa fase o que existe de promissor é a terapia com plasma convalescente.

PALAVRAS-CHAVES: SARS-CoV-2, Sistema Imunológico, Citocinas, Diagnósticos e Dublin-Boston

ABSTRACT

The immune response during the course of COVID-19 is of great clinical importance, as it allows the understanding mainly of the evolution and its consequences in the most different clinical conditions observed. Sars-CoV-2, through strategies, manages to unbalance the immune system and cause a severe condition known as cytokine storm, this situation is what ends up leading the patient to develop severe clinical conditions and even death. Bearing in mind that the involvement of cytokines and other agents of the immune system is broad, understanding the entire process is essential for the study in relation to strategies to fight the virus, which is in fact surprising. Prognostic tools that are under development, such as the Dublin-Boston score, and the use of off-label drugs to try to stem the disease from advancing to the most severe stage are very important. In this phase, what is promising is the therapy with convalescent plasma.

KEYWORDS: SARS-CoV-2, Immune System, Cytokines, Diagnosis, Dublin-Boston

INTRODUÇÃO

No final de 2019, na cidade de Wuhan localizada na China, foi observado um elevado percentual de internações nos hospitais por casos de pneumonia grave caracterizando a existência de um surto que, em dezembro de 2019, foi imputado a uma nova cepa de β -coronavírus.⁽¹⁾⁽²⁾ Já em janeiro de 2020 ocorreu a divulgação do genoma deste novo coronavírus que passa a ser denominado como severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 (SARS-CoV-2), que possuía similaridades com o severe acute respiratory syndrome-coronavirus 1 (SARS-CoV-1) e com o Middle East respiratory syndrome-coronavirus (MERS-CoV).⁽¹⁾ Ainda pela análise genômica foi observado um percentual homólogo de 93% com outro coronavírus que infeta os morcegos, BatCoV RaTG13.⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾ Com o aumento do número de casos também diagnosticados não só na China mas também em vários outros países, em março de 2020 a Organização Mundial da Saúde - OMS declarou oficialmente a existência do quadro pandêmico relacionado ao SARS-CoV-2 que provoca a coronavírus disease 2019 (COVID-19).⁽²⁾⁽³⁾

A contínua análise genômica do SARS-CoV-2 se faz importante, pois mutações podem interferir num primeiro momento na compreensão relativa à transmissibilidade, a gravidade, ao diagnóstico molecular e aos métodos sorológicos, além disso, a longo prazo, essas mutações podem alterar o desempenho de drogas antivirais e vacinas.⁽⁵⁾ Atualmente já foi definido que o SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples com 30 kilobases de comprimento, isso faz dele um dos maiores vírus de RNA conhecido e diferencia ele dos demais vírus no que norteia a sua capacidade de correção dos erros de transcrição pela RNA polimerase, diminuindo a probabilidade de mutações e aumentando a sua estabilidade genômica, este RNA está protegido por um invólucro viral constituído por quatro proteínas estruturais que são consideradas as principais moléculas imunogênicas, sendo elas a glicoproteína S (spike) que se liga ao receptor da célula do hospedeiro, a proteína M (membrana), a proteína E (envelope) e o nucleocapsídeo (N).⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁶⁾

Os casos mais graves de infecção foram observados em pacientes idosos ou com comorbidades que incluem, obesidade, fumantes, hipertensão, diabetes, doença cardiovascular, doença respiratória crônica e câncer.⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾ O período de incubação varia de 1-14 dias, podendo apresentar sintomas leves como febre, fadiga, tosse seca, dor de cabeça, congestão nasal, dor de garganta, mialgia, artralgia, náuseas, vômito, diarreia e falta de ar, até quadros mais graves como hipoxemia, lesão renal aguda, lesão hepática aguda, sepse, falência múltipla dos órgãos e resposta inflamatória grave que pode levar à trombose multivascular sistêmica.⁽³⁾⁽⁹⁾

A FUNÇÃO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO: DO CONTÁGIO ATÉ O TRATAMENTO DA COVID-19

O contágio por SARS-CoV-2 tem início com a propagação do vírus pelo indivíduo portador, através de gotículas infectadas provenientes de processos de tosse e espirros que expulsam o vírus presente em altas concentrações nas mucosas nasais e na garganta para fora de seu hospedeiro, promovendo a transmissão de maneira direta ao novo hospedeiro por inalação através do nariz, pela aspiração através da garganta ou pelo contato com a mucosa ocular dessas gotículas infectadas.⁽¹⁰⁾ Ainda pode ocorrer de maneira indireta através do contato com superfícies contaminadas num processo de transferência onde o indivíduo sadio ao tocar essas superfícies carrega o vírus para a boca, nariz ou para os olhos.⁽¹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾ Outras possibilidades com relação às formas de contágio estão ainda sendo pesquisadas, entre elas estão a transmissão através da água potável, pela presença do vírus no sistemas de esgoto e de resíduos sólidos ou ainda pela transmissão fecal-oral entre o indivíduo contaminado e o indivíduo sadio, essa última possui evidências que demonstram a existência do vírus em amostras fecais comprovando que o intestino serve como sítio de replicação do vírus, porém a ação do fluido colônico inativa o vírus inviabilizando sua disseminação por esta via.⁽⁶⁾⁽¹¹⁾

Assim que o indivíduo sadio entra em contato com o vírus SARS-CoV-2 por alguma das vias acima citadas, este inicia o seu ciclo replicativo através da ligação entre uma de suas proteínas estruturais, a glicoproteína S e a enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2) do novo hospedeiro, que é uma proteína transmembrana utilizada no sistema renina-angiotensina-aldosterona, responsável por regular a pressão arterial, o volume sanguíneo, o equilíbrio eletrolítico no corpo sendo encontrada em vários órgãos como nariz humano, pulmões, fígado, coração, rins, intestinos, endotélio vascular, cérebro e testículos.⁽¹⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

Para que a glicoproteína S efetivamente consiga se fundir a ACE2 é necessário que esta sofra a clivagem em dois locais, a junção S1/S2 e local S2', esta clivagem é feita pela serina protease transmembrana 2 (TMPRSS2) presente na membrana citoplasmática da célula a ser infectada, com isso a subunidade S1 promove a ligação com o receptor ACE2 e a subunidade S2 fica livre e permite a fusão entre o invólucro viral e a membrana celular.⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾⁽¹²⁾ Porém, estudos recentes demonstram que a ação das catepsinas, na ausência da TMPRSS2, ativam a entrada do SARS-CoV-2 e, especificamente para o SARS-CoV-2, a pré-ativação realizada pela furina faz dela uma pró-proteína convertase (PPC), responsável por aumentar a virulência do SARS-CoV-2 quando comparado a outros vírus.⁽¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾ Ocorre então a liberação para o citoplasma do RNA viral que utilizará a RNA polimerase entre outras estruturas intracelulares da célula hospedeira para produzir cópias viabilizando a formação de novos vírus.⁽¹⁾⁽⁸⁾

Assim que ocorre a entrada do RNA viral e o início de sua replicação na célula hospedeira, começa a resposta do sistema imune inato, que promove uma resposta inespecífica imediata, ativando mecanismos de defesa com o objetivo de controlar a infecção até que os mecanismos de resposta do sistema imune adquirido comecem

também a intervir no curso da infecção.⁽¹⁰⁾ No curso normal das respostas do sistema imune inato frente a uma infecção, uma das primeiras respostas é a liberação de interleucinas para o meio extracelular que ocorre através da formação de poros na membrana pela gasdermina D depois de sua ativação por caspases inflamatórias.⁽¹²⁾ Enquanto essa liberação de interleucinas leva a uma resposta inflamatória local, outros eventos intracelulares estão ocorrendo simultaneamente, entre eles é possível citar a produção de interferon (IFN) que impede a replicação do vírus na célula e induz a uma resistência viral em outras células, a formação do complexo intracelular nomeado como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e outro complexo nomeado como padrões moleculares associados a danos (DAMPs).⁽¹²⁾ Todos estes eventos, mas principalmente a ativação das caspases inflamatórias, leva a célula infectada a um processo de piroptose que pode ser entendida como uma via de morte celular programada inflamatória.⁽¹⁰⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ Com a morte celular, ocorre a liberação para o meio extracelular de todo o conteúdo intracelular, onde vale ressaltar a liberação do vírus, peptídeos virais, PAMPs, DAMPs, citocinas pró-inflamatórias (interleucinas) e interferon, que servirão como sinalizadores no processo de recrutamento das vias do sistema imune adaptativo, que começará com a ativação de monócitos, macrófagos, células dendríticas entre outras e que ao final conseguirão produzir anticorpos específicos responsáveis por interromper a infecção, levando o indivíduo doente a uma fase de convalescença e cura.⁽¹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁶⁾

Algumas vias de recrutamento para as infecções virais são o recrutamento das células NK através de IFNs que basicamente liberam perforinas e granzimas levando a célula infectada a apoptose e o recrutamento das células dendríticas que apresentam antígenos virais através do MHC I para o linfócito T CD8+, que também promove a liberação de perforinas e granzimas levando a célula infectada a apoptose e apresentam antígenos virais através do MHC II para os linfócitos T CD4+ que se diferenciam em células T helper (Th) principalmente a Th17, a Th1 e a Thf, sendo essa última responsável pelo processo de produção de plasmócitos e células B de memória.⁽⁸⁾⁽¹⁸⁾ Ainda nesta interface entre a resposta imune inata e a resposta imune adaptativa, várias citocinas são produzidas como por exemplo IL-2 e IL-4, responsáveis proliferação das células T e ativação das células T helper, as citocinas pró-inflamatórias e interleucinas como por exemplo IFN-I, IFN-II e IFN-III; IL-1, IL-6 e IL-17; e TNF- α além de citocinas anti-inflamatórias como por exemplo a IL-10.⁽¹⁹⁾ Em uma situação de equilíbrio na produção desses agentes ocorre a condição de resolução do quadro infeccioso, porém no caso em que alguma forma de desequilíbrio possa ser observada, danos excessivos a órgãos e tecidos do hospedeiro podem provocar uma gravidade exacerbada no quadro clínico do mesmo, este desequilíbrio é conhecido como hipercitocinemia ou tempestade de citocinas e está diretamente relacionado aos casos graves de infecção por Sars-CoV-2.⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾ Por questão de terminologia, o termo hipercitocinemia pode ser considerado um marcador geral para Sars-CoV-2 enquanto que tempestade de citocina normalmente é aplicado para descrever os quadros onde a inflamação exacerbada leva a condições críticas do quadro clínico no curso da doença.⁽¹²⁾

A tempestade de citocinas não é um quadro exclusivo da infecção por Sars-CoV-2, sendo que este quadro também já foi observado nas infecções por Sars-CoV-1 e MERS-Cov, porém nos últimos dois casos a disseminação do surto para atingir o grau de pandemia não ocorreu, fazendo com que estudos mais focados nas formas que o Sars-CoV-2 tem para contornar a resposta do sistema imune do hospedeiro fossem realizados, e com isso foram observados que vários são os gatilhos propostos para explicar os eventos iniciais que levam não só a tempestade de citocinas mas também a outras respostas imunológicas que agravam o quadro clínico do indivíduo infectado.⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾

O primeiro contato do vírus Sars-CoV-2 ocorre pela via respiratória superior através da mucosa e epitélio nasal compostas basicamente por células caliciformes e ciliadas e pela via respiratória inferior principalmente nos alvéolos onde os pneumócitos tipo II são encontrados.⁽¹⁰⁾ Essas células possuem receptores da ACE2 na qual o vírus Sars-CoV-2 promove sua ligação e inicia a produção de proteínas virais dentro da célula hospedeiras.⁽²⁰⁾ Entre essas proteínas virais estão as proteínas estruturais (S, M, N, E), as proteínas não estruturais (NSP) e as Open Reading Frame (ORF) consideradas proteínas acessórias.⁽¹⁷⁾ Algumas destas proteínas possuem papel fundamental no mecanismo que possibilita ao vírus Sars-CoV-2 a capacidade de promover inicialmente o retardo em alguns pontos dos eventos naturais que levam a produção do interferon.⁽¹⁰⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁰⁾ O reconhecimento do RNA viral pelo Retinoic acid-inducible gene I (RIG-1) que é um receptor de reconhecimento padrão (PRR) citosólico, promove a ativação dos domínios de ativação e recrutamento da caspase N-terminal (CARDs) que migram até a proteína de sinalização antiviral mitocondrial (MAVS).⁽¹⁷⁾⁽²¹⁾ Essa ligação CARDs/MAVS promove a ativação da TANK binding kinase 1 (TBK1) que é responsável pela ativação através da fosforilação do fator, regulador de interferon 3 (IRF3).⁽¹⁷⁾⁽²¹⁾ Uma vez fosforilado consegue migrar para o núcleo através da translocação pelo complexo nucleoporina (NUP98-RAE1)-Karyopherin Subunit Alpha 2 (KPNA2) e ativar a transcrição do interferon.⁽⁸⁾ Pelo menos quatro proteínas virais do Sars-CoV-2 atuam nesta via inibindo a transcrição do interferon, a primeira é a NSP13 que vai se ligar e bloquear a ativação da TBK1, a segunda e a terceira são a NSP6 e a ORF8b/ab que vão bloquear a ativação da IRF-3 por não permitir sua fosforilação e a quarta que é a ORF6 vai interferir na ativação da TBK1 por atuar na MAVS, que ainda vai inibir a ativação de IRF3 e no seu transporte para o núcleo por se ligar a KPNA2.⁽⁸⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾

Apesar do vírus inibir a transcrição de interferon, a célula infectada realiza a produção de parte do mesmo, que ao ser lançado para o meio extracelular vai se ligar aos receptores de interferons (IFNARs) presentes na membrana celular de células vizinhas àquela infectada ou mesmo no caso desta primeira célula infectada entrar em apoptose, esse interferon produzido conseguirá atingir células mais distantes e também se ligarem aos IFNARs.⁽²¹⁾ Nesta ligação ocorre a ativação de duas proteínas quinases que serão responsáveis pela fosforilação do transdutor de sinal e o ativador de proteína de transcrição (STAT 1 e 2).⁽¹²⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾ Estas proteínas quinases são a Janus quinase 1 (JAK1) e a Tirosina quinase 2 (TYK2), estando a

STAT1 e a STAT2 ativadas elas irão se ligar ao fator regulador de interferon 9 (IRF9) para a formação de um heterodímero responsável por ativar a produção do fator 3 de estimulação do gene de IFN (ISGF3).⁽²¹⁾ Agora este conjunto migra para o núcleo utilizando complexo nucleoporina (NUP98-RAE1)-Karyopherin Subunit Alpha 2 (KPNA2) e ao se ligar aos elementos de resposta estimulados por interferon (ISREs) levam estes a expressar vários ISGs com atividade antiviral.⁽⁸⁾ Aqui também algumas proteínas virais interferem nesta via de ativação dos ISGs, as NSP1, NSP6, NSP13, proteína M (estrutural), ORF1a, ORF1ab, ORF3a e a ORF7b inibem a ativação do STAT1 enquanto que a NSP6, NSP13, ORF7a e ORF7b inibem a ativação da STAT2 comprometendo a formação do heterodímero.⁽²¹⁾ Além disso a ORF6 vai inibir o ISRE interferindo na ativação do promotor ISG56 que codifica uma proteína responsável por inibir processos ligados a proliferação do vírus e também na KPNA2 interrompendo o transporte para dentro do núcleo.⁽¹⁷⁾⁽²¹⁾

Esta interferência do Sars-CoV-2 na produção do interferon permite ao vírus um tempo maior de replicação que leva a um aumento de unidades virais produzidas justificando sua virulência, aliás, com o aumento da quantidade de RNA viral e das proteínas virais dentro dos pneumócitos, outros PRRs fazem seus reconhecimentos, entre eles os receptores do tipo toll (TLRs) e os receptores do tipo NOD (receptores similares ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo - NLRs) que ativam entre outros o fator nuclear kappa B (NF- κ B) em níveis mais alto que o normal.⁽¹²⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁰⁾ Este fator é responsável pela transcrição de citocinas pró-inflamatórias, TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-18, que também serão produzidas em quantidades que levam a célula infectada a uma condição de piroptose, que ao ocorrer, vai recrutar outros elementos principalmente celulares do sistema imune.⁽¹²⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽²⁰⁾

Uma das primeiras células do sistema imune inato a ser recrutada são os linfócitos natural killer (NK) que, pelo seu efeito citotóxico, muitas vezes já leva ao controle da progressão dos quadros infecciosos, esse recrutamento tem início ainda das mucosas das vias aéreas e se estende de maneira sistêmica por onde houver infecção, sendo fundamental para o controle de infecções virais, onde se inclui o Sars-CoV-2 porém com certas peculiaridades.⁽²²⁾ No início do quadro infeccioso a população de NKs sofre um aumento significativo que não é observado quando ocorre o agravamento da doença, em pacientes onde o curso da doença levam a tratamento em unidades intensivas (UTI), sendo que os índices de NKs diminuem drasticamente sugerindo que uma das razões se dá pelo esgotamento dos precursores de NKs e a outra razão observada tem relação aos resíduos provenientes da apoptose que, além de liberar perforinas, granzimas, IFN- γ e quimiocinas, liberam também CD39 que é uma ectoenzima responsável por clivar ATP extracelular e ADP, que podem estar liberados por serem também resíduos dos processos de morte celular, levando a geração de adenosina que é um forte imunossupressor nas células NKs.⁽²³⁾⁽²⁰⁾⁽²²⁾

As células dendríticas (DCs) são consideradas uma das principais células do sistema imune pois além de possuir a função fagocitária que engloba as partículas virais por reconhecimento através de receptores de membrana específicos o qual,

para o Sars-CoV-2, existe a alternativa da utilização dos receptores dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin (DC-SIGN).⁽¹⁶⁾ As DCs também atuam como apresentadoras de antígeno, apresentam seus peptídeos antigênicos aos linfócitos TCD8⁺ pelo MHC I e para os linfócitos TCD4⁺ pelo MHC II.⁽¹⁶⁾ Estas células possuem duas linhagens, as mielóides que produzem grande quantidade de TNF- α e as linfóides que também são conhecidas como plasmocitóides e que produzem grande quantidade de interferon tipo I (IFN-I) bem como IL-1 β e IL-18.⁽⁸⁾⁽¹²⁾⁽¹⁶⁾ A utilização dos receptores DC-SIGN é uma das estratégias para o Sars-CoV-2 interferir nas funções das células dendríticas, onde a ativação desta via mostrou diminuir a produção celular do MHC II levando a uma diminuição na apresentação dos peptídeos antigênicos para os linfócitos TCD4⁺.⁽¹⁶⁾ Esta diminuição da apresentação para os linfócitos TCD4⁺ também ocorre por outra via, pois o Sars-CoV-2 regula negativamente a expressão de moléculas de membrana co-estimuladoras (CD80 / 86), e a consequência desta diminuição, na apresentação para os linfócitos TCD4⁺ é a produção lenta de anticorpos e o aumento progressivo da carga viral de SARS-CoV-2.⁽¹⁶⁾⁽²⁰⁾ Outra estratégia é o aumento expressivo na regulação positiva para a produção de citocinas e quimiocinas entre elas IL-6, IL-1 β , a proteína induzida 10 (IP10), IL-18 e a CCL2 que servem para recrutar os neutrófilos para os pulmões.⁽¹⁶⁾⁽²⁰⁾

Ainda dentro deste contexto, os macrófagos alveolares que são recrutados concomitantemente com as DCs, por estarem presentes em um ambiente propício para ocorrência de piroptose maciça e citopatia em células epiteliais, levam a liberação de um grande número de vírions de Sars-CoV-2 e ainda a persistência de baixo nível de indução de INF-I.⁽⁸⁾⁽¹²⁾⁽²⁰⁾ Essas células realizam a ativação dos inflamassomas que são estimulados no meio intracelular pela proteína viral NSP3 a promover, como resposta, a sinalização para o inflamassoma contendo NOD, LRR e proteína 3 contendo domínio de pirina (NLRP3).⁽⁸⁾⁽¹²⁾⁽²⁰⁾ Esse inflamassoma é responsável pela expressão de CXCL10 e secreção de IL-1 β , além disso, a proteína E do Sars-CoV-2 induz um desequilíbrio iônico no transporte de potássio (K⁺) e cálcio (Ca²⁺) o inflamassoma reconhece este desequilíbrio como um sinal de estresse metabólico e com isso inicia a super ativação de NLRP3 levando a uma superprodução de IL-18 e IL-1 β que contribui para o aumento dos eventos de piroptose, e a, IL-1 β também pode induzir a diferenciação de Th17 levando a secreção de IL-17.⁽⁸⁾⁽¹²⁾⁽²⁰⁾ Esse aumento no recrutamento dos macrófagos, por consequência, leva ao recrutamento de grandes quantidades de monócitos que quando observados no sangue periférico são encontrados nos seus três estágios de maturação, os monócitos clássicos que são os precursores, os intermediários e os não clássicos que contribuem para a resolução do processo inflamatório, só que assim como ocorre o aumento no recrutamento de monócitos, ocorre também o aumento na quantidade de citocinas liberada pelos mesmos, entre elas IL-10, IL-13, IL-4, IL-33 e fator de transformação do crescimento beta (TGF- β).⁽¹²⁾⁽²⁰⁾⁽²³⁾

Os neutrófilos, que passam a ser recrutados em maior quantidade dentro deste ambiente agora desregulado, sofrem netose massiva levando a formação das Neutrophil Extracellular Traps (NET), que são armadilhas extracelulares constituídas

por material genético de neutrófilos, enzimas oxidantes e proteínas microbidas com a função de eliminar os patógenos, porém quando produzidas em condições acima do equilíbrio levam a uma resposta inflamatória excessiva promovendo danos permanentes aos tecidos adjacentes.⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾⁽²⁴⁾

Resumidamente, com o agravamento do quadro por infecção de Sars-CoV-2 e a desregulação das respostas do sistema imune já descrito, ocorre uma superprodução de citocinas, entre elas, e IL-1, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17, IL-18, IL-33, IP10, INF-I, IFN- γ e TGF- β que é conhecida como tempestade de citocinas, que interfere nas respostas do sistema imunológico como um todo e por consequência leva ao agravamento da doença para estados patológicos severos ou mesmo a óbitos.⁽¹²⁾⁽²⁰⁾⁽²⁵⁾

Outro ponto em que a resposta do sistema imunológico é importante diz respeito a fase de diagnóstico da COVID-19, observando dois momentos distintos onde a importância do diagnóstico se faz necessário, o primeiro dentro da unidade hospitalar, quando em função do agravamento do quadro clínico, os marcadores laboratoriais são essenciais para direcionar e entender a gravidade da doença e, embora alguns não estejam formalmente enquadrados como biomarcadores imunológicos, certamente estão relacionados com a resposta imune do indivíduo.⁽³⁾⁽²⁶⁾ Entre esses marcadores laboratoriais podemos citar quadros de leucopenia, linfocitopenia, aumento dos níveis de D-dímero, tempo de protrombina, proteína-C reativa, IL-6, IL-7, IL-10, fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF), IP10, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage Inflammatory proteins 1A (MIP1A), TNF- α entre outros.⁽³⁾⁽²⁶⁾ Para a determinação destes marcadores existem métodos laboratoriais automatizados que já fazem parte da rotina diária de análises para outras patologias que com protocolos direcionados a pesquisa da Covid-19 estão sendo amplamente utilizados, entre eles estão métodos de quimioluminescência, eletroquimioluminescência e Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) utilizando como amostra para a pesquisa e quantificação de anticorpos no sangue total, soro ou plasma, esses métodos são sensíveis e específicos com resultados que dependem minimamente do instrumentista.⁽³⁾⁽²⁶⁾

Uma ferramenta importante no prognóstico do Covid-19, que relaciona a razão entre IL-6 e IL-10 e não somente IL-6, foi proposta, através de um escore linear simples de 5 pontos (escala Dublin-Boston), que considera a relação entre IL-6 e IL-10 e obtém como resultado três níveis (“Melhorado”, “Inalterado” e “Agravado”).⁽²⁷⁾ Nesse escore é avaliado o nível basal das interleucinas, avaliando a variação do dia 0 ao dia 2; em seguida, a variação do dia 0 ao dia 4; e ainda, o declínio da variação.⁽²⁷⁾ Esse resultado pode definir a conduta médica a ser implementada no paciente, assim como tempo de UTI e necessidade de uso de respiração mecânica, assim como prever a evolução do paciente.⁽²⁷⁾

O segundo momento, amplamente aplicado na população em geral auxilia a entender e definir parâmetros epidemiológicos com relação ao contágio e embora ainda todos os mecanismos envolvendo o sistema imunológico no curso da COVID-19 não estejam elucidados, métodos de diagnóstico já aprovados pela

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e comumente chamados de testes rápidos ou ainda testes laboratoriais remotos (TLR) que utilizam como amostra sangue total, soro ou plasma por meio de métodos manuais para pesquisa de anticorpos IgA, IgM, IgG específicos e antígeno viral já estão consolidados nesta prática, apresentando resultados que conseguem fornecer o status atual e prever o estágio do curso da doença com a vantagem de serem métodos de resposta rápida e com custo relativamente baixo, porém não é aplicável na fase inicial da doença já que depende da produção das imunoglobulinas que tem em média 14 dias de janela imunológica.⁽¹⁾⁽³⁾⁽²⁶⁾ Atualmente o mais aplicado é o ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral e os resultados podem ser apresentados em poucos minutos pela visualização de barras coloridas indicando a positividade para o anticorpo específico na sua região de leitura, a interpretação do resultado é simples e os resultados podem variar entre IgM positivo ou negativo e IgG positivo ou negativo.⁽³⁾⁽⁴⁾ A combinação destes resultados implica nas condições do indivíduo que quando não infectado ou em um estágio muito inicial da infecção viral apresentará IgM negativo e IgG negativo, indivíduo portador viral assintomático ou recuperado apresentará IgM negativo e IgG positivo, indivíduo diagnosticado em estágio superior a 7 dias do início dos sintomas apresentará IgM positivo e IgG negativo e indivíduo com Covid-19 ou convalescente já acima de 10 dias do início dos sintomas apresentará IgM positivo e IgG positivo.⁽⁴⁾⁽¹³⁾ Em abril de 2020, a OMS recomendou que os testes rápidos fossem realizados apenas para fins epidemiológicos e contra indicou a sua utilização para o diagnóstico em função da janela imunológica, mas utilizado sequencialmente ou mesmo em associação com o resultado do teste molecular de reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), considerado como “Padrão Ouro” para o diagnóstico da infecção na fase aguda.⁽²⁶⁾⁽¹³⁾ E este teste amplifica o RNA do Sars-CoV-2 utilizando como amostra o material coletado da nasofaringe e orofaringe e é um importante instrumento para esclarecimento do diagnóstico.⁽³⁾⁽²⁶⁾

Para o tratamento da Covid-19, existem vários estudos em andamento onde a utilização de medicamentos existentes para outras enfermidades estão sendo testados (com uso Off-Label), entre eles o uso de interferons exógenos, corticosteróides, azitromicina, remdesivir, tocilizumab e outros.⁽³⁾⁽¹⁸⁾ Outra opção de tratamento é através da transfusão de plasma convalescente que tem como princípio a utilização de anticorpos neutralizantes presentes no plasma, sendo essa terapia considerada pela OMS como o tratamento mais adequado desenvolvido até agora e já utilizado para a MERS-CoV e Sars-CoV-1, mas que precisa de mais estudos a respeito dessa terapia.⁽²⁾⁽²⁸⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Covid-19, tem implicações imunológicas significativas que precisam ser melhor analisadas, servindo como referência para futuras vacinas e o desenvolvimento de medicamentos que possam evitar a propagação do vírus de forma indiscriminada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pereira J. SARS-CoV-2 e COVID-19: Os Aspectos Viroológicos de uma Pandemia. *Rev. port. farm.* 2020 Janeiro-Junho; 12(1-2):20-26. [acesso em 02 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.25756/rpf.v12i1-2.237>
2. Koyama T, Platt D, Parida L. Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Bull World Health Organ.* 2020 July 1; 98(7):495–504. [acesso em 05 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7375210/>
3. Zhou M, Zhang X, Qu J. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a clinical update. *Front. Med.* 2020 April; 14(2): 126–135. [acesso em 02 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0767-8>
4. Caruana G, Croxatto A, Coste A, Opota O, Lamoth F, Jatou K, Greub G. Diagnostic strategies for SARS-CoV-2 infection and interpretation of microbiological results. *Clin Microbiol Infect.* 2020 September, 26(9):1178-1182 [acesso em 02 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.019>
5. Alm E, Broberg E, Connor T, Hodcroft E, Komissarov A, Maurer-Stroh S, Melidou Ai, Neher R, O'Toole A, Pereyaslov D, The WHO European Region sequencing laboratories and GISAID EpiCoV group . Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Euro Surveill.* 2020 January-June; 25(32):2001410. [acesso em 05 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410>
6. Riggioni C, Comberlati P, Giovannini M, Agache I, Akdis M, Alves-Correia M, Antó JM, Arcolaci A, Azkur AK, Azkur D, Beken B, Boccabella C, Bousquet J, Breiteneder H, Carvalho D, De Las Vecillas L, Diamant Z, Eguluz-Gracia I, Eiwegger T, Eyerich S, Fokkens W, Gao YD, Hannachi F, Johnston SL, Jutel M, Karavelia A, Klimek L, Moya B, Nadeau KC, O'Hehir R, O'Mahony L, Pfaar O, Sanak M, Schwarze J, Sokolowska M, Torres MJ, van de Veen W, van Zelm MC, Wang Y, Zhang L, Jiménez-Saiz R, Akdis CA. A compendium answering 150 questions on COVID-19 and SARS-CoV-2. *Allergy* 2020 June. [acesso em 02 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.14449>
7. Qingxian C, Fengjuan C, Tao W, Fang L, Xiaohui L, Qikai W, Qing H, Zhaoqin W, Yingxia L, Lei, Jun C, Lin X. Obesity and COVID-19 Severity in a Designated Hospital in Shenzhen, China. *Diabetes Care* 2020 July; 43 (7):1392-1398. [acesso em 08 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32409502/>
8. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, Veen W, Brüggemann MC, O'Mahony L, Gao Y, Nadeau K, Akdis C. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy.* 2020 July; 75(7):1564–1581 [acesso em 14 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/all.14364>

9. Altschul D, Unda S, Benton J, Ramos R, Cezayirli P, Mehler M, Eskandar E. A novel severity score to predict inpatient mortality in COVID-19 patients. *Sci Rep*. 2020 October; 10:16726, [acesso em 08 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73962-9>
10. Silva L, Sales I, Abreu D, Chaves M. O Papel da Imunidade Inata na COVID-19 . *Rev Cienc Saude* [Internet]. 2020 Julho-Setembro; 10(3) [acesso em 14 de setembro de 2020]. Disponível em: http://186.225.220.186:7474/ojs/index.php/rcsfmit_zero/article/view/997
11. Hoseinzadeh E, Javan S, Farzadkia M, Mohammadi F, Hossini H, Taghavi M. An updated min-review on environmental route of the SARS-CoV-2 transmission. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2020 October, 202(1):111015, [acesso em 08 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111015>
12. Jamilloux Y, Henry T, Belot A, Viel S, Fauter M, El Jammal T, Walzer T, Francois B, Seve P. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. *Autoimmun Rev*. 2020 July;19(7):102567 [acesso em 14 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32376392/>
13. Zhang L, Guo H. Biomarkers of COVID-19 and technologies to combat SARS-CoV-2. *Adv Biom Sciences and Technology*. 2020 August, 2:1-23 [acesso em 02 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.abst.2020.08.001>
14. Shanga J, Wana Y, Luo C, Yea G, Genga Q, Auerbach A, Lia, F. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *PNAS* 2020 May, 117(21):11727-11734, [acesso em 08 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/117/21/11727.short>
15. Wrobel A, Benton D, Xu P, Roustan C, Martin S, Rosenthal P, Skehel J, Gamblin S. SARS-CoV-2 and bat RaTG13 spike glycoprotein structures inform on virus evolution and furin-cleavage effects. *Nat Struct Mol Biol* 2020 August, 27:763–767, [acesso em 10 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0468-7>
16. Campana P, Parisi V, Leosco D, Bencivenga D, Della Ragione F, Borriello A. Dendritic Cells and SARS-CoV-2 Infection: Still an Unclarified Connection. *Cells* 2020 September, 9(9):2046, [acesso em 10 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells9092046>
17. Lei, X, Dong X, Ma R, Wang W, Xiao X, Tian Z, Wang Y, Li L, Ren L, Guo F, Zhao Z, Zhou Z, Xiang Z, Wang J. Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. *Nat Commun*. 2020 July; 11(3810) [acesso em 14 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17665-9>
18. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020 July; 20:529–536 [acesso em 14 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0402-6>
19. Costela-Ruiz V, Illescas-Montes R, Puerta-Puerta J, Ruiz C, Melguizo-Rodríguez L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine &*

- growth factor rev 2020 August, 54:62–75, [acesso em 10 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.06.001>
20. Bouayad A. Innate immune evasion by SARS-CoV-2: Comparison with SARS-CoV. *Rev Med Virol* 2020 July, [acesso em 10 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/rmv.2135>
 21. Xia H, Cao Z, Xie X, Zhang X, Chen J, Wang H, Menachery V, Rajsbaum R, Shi P. Evasion of type-I interferon by SARS-CoV-2. *Cell Reports*. 2020 October, 33(1):108234, [acesso em 17 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108234>
 22. Demaria O, Carvelli J, Batista L, Thibult ML, Morel A, André P, Morel Y, Vély F, Vivier E. Identification of druggable inhibitory immune checkpoints on Natural Killer cells in COVID-19. *Cell Mol Immunol* 2020 July, 17:995–997, [acesso em 17 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0493-9>
 23. Carsetti R, Zaffina S, Mortari E, Terreri S, Corrente F, Capponi C, Palomba P, Mirabella M, Cascioli S, Palange P, Cuccaro I, Milito C, Zumla A, Maeurer M, Camisa V, Vinci MR, Santoro A, Cimini E, Marchioni L, Nicastrì E, Palmieri F, Agrati C, Ippolito G, Porzio O, Concato C, Muda A, Raponi M, Quintarelli C, Quinti I, Locatelli F. Different innate and adaptive immune response to SARS-CoV-2 infection of asymptomatic, mild and severe cases. *medRxiv*. 2020 September; [acesso em 02 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.06.22.20137141>
 24. Da-Silva J, Finotti L. Armadilhas extracelulares dos neutrófilos: descrição e envolvimento em processos autoimunes. *Arq Asma Alerg Immunol*. 2019 Janeiro-Março, 3(1):18-24, [acesso em 10 de outubro de 2020]. Disponível em: http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=963
 25. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of ‘Cytokine Storm’ in COVID-19. *J. Infect.* 2020 June, 80(6):607-613, [acesso em 17 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>
 26. Vieira L, Emery E, Andriolo A. COVID-19 - Laboratory Diagnosis for Clinicians. *Scielo preprints*. 2020 May, [acesso em 07 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.411>
 27. McElvaney O, Hobb B, Qiao D, McElvaney O, Moll M, McEvoy N, Clarke J, O'Connor E, Walsh S, Cho M, Curley G, McElvaney N. A linear prognostic score based on the ratio of interleukin-6 to interleukin-10 predicts outcomes in COVID-19. *EBioMedicine*. 2020 October, 61:103026 [acesso em 24 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103026>
 28. Chen L, Xiong J, Bao L, Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020 April, 20(4):398-400 [acesso em 02 de outubro de 2020]. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30141-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30141-9)