

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**Associação entre variantes nos genes *TNF*, *IL6* e *IL1B* e
gravidade da Covid-19**

Mariléa Furtado Feira

Dissertação de Mestrado submetida
ao Programa de Pós-Graduação em
Genética e Biologia Molecular da
UFRGS

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Sales Luiz Vianna
Co-Orientadora: Profa. Dra. Thayne Woycinck Kowalski

Porto Alegre, novembro de 2022

AGÊNCIAS FINANCIADORAS

Esse trabalho é parte da “Rede Gaúcha de Vigilância de Patógenos Emergentes” qual foi aprovado no Edital CAPES-EPIDEMIAS (Programa Estratégico Emergencial de Prevenção e Combate a Surtos, Endemias, Epidemias e Pandemias). e foi realizado no Laboratório de Imunogenética do Departamento de Genética da UFRGS, com apoio financeiro do Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA).

A aluna recebeu bolsa de estudos concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), vinculada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM/UFRGS).

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos pacientes de Covid-19 e ao Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (LACEN-RS), em especial à Tatiana Gregianini, pelas amostras cedidas.

Agradeço à minha mãe, Claudete Furtado, por todo apoio e carinho desde sempre. Pelo seu amor incondicional. Agradeço as minhas irmãs, Marcela e Mayara, pelo apoio, carinho e amizade, por sempre me incentivar. Vocês três são os maiores amores da minha vida.

Agradeço à Dr^a. Fernanda Vianna por acreditar e confiar no meu trabalho e me dar a oportunidade de aprender sempre e de forma tão diversa. Agradeço pela empatia e companheirismo, por nunca ter soltado a minha mão. Por me incentivar, acreditar em mim e também manter meus pés no chão. Pela grande contribuição na minha formação profissional, acadêmica e pessoal.

Agradeço à Dr^a. Thayne Kowalski por ter me inserido no mundo da genética médica, serei eternamente grata por isso. Por estar disposta a dividir seus conhecimentos comigo, de forma sublime, e fazer de mim uma profissional confiável na execução de trabalhos na bancada. Por me ouvir com atenção e me ajudar a seguir esse caminho. Sempre uma inspiração. E por ter me apresentado a Fernanda.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Imunogenética da UFRGS, por toda a contribuição, ensinamentos e festinhas, e por se tornarem meus amigos de verdade. Obrigada Giovanna Giudicelli, Miriã Ferrão, Nathan Cadore, Renan Sbruzzi e Vitória Griebeler! Por estarem comigo do início ao fim. Pelo suporte profissional e pessoal. Pelos abraços, as conversas, a companhia. Pelas lágrimas e risadas compartilhadas.

Agradeço aos meus colegas e amigos da Biotecnologia, Laísa Barsé e Mateus Costa, e a seus familiares, por se tornarem amigos de verdade e me apoiarem sempre. *“Side by side... or miles apart”*

Agradeço as minhas colegas/amigas da Biologia, Raquel Keppler e Viviane Torres. Pelo companheirismo, pela presença, pelo apoio, pela amizade de mais de uma década.

Agradeço ao Elmo Cardoso, e aos meus colegas do PPGBM. Por todo apoio e ajuda que recebi, principalmente durante o período difícil durante a pandemia.

Agradeço a todos os professores que eu tive nos cursos de Ciências Biológicas (IPA) e de Biotecnologia Molecular (UFRGS), sem cada um deles o caminho trilhado até aqui seria praticamente impossível.

Sumário

| | |
|---|-----------|
| Resumo | 6 |
| Abstract | 9 |
| Capítulo I | 12 |
| 1 Introdução..... | 13 |
| 1.1 Pandemia de Covid-19 | 13 |
| 1.2 Transmissão do SARS-CoV-2 | 14 |
| 1.3 Sintomas e achados clínicos da Covid-19 | 15 |
| 1.4 Infecção por SARS-CoV-2 e o papel da genética na resposta imunológica do hospedeiro humano..... | 21 |
| 1.4.1 Sistema Imune Inato e Adaptativo em respostas virais | 22 |
| 1.4.2 Infecção por SARS-CoV-2 | 24 |
| 1.5 Tempestade de Citocinas e Desfechos Graves de Covid-19..... | 26 |
| 1.6 Citocinas: Regulação e variantes genéticas do hospedeiro humano relacionadas aos desfechos da Covid-19 | 29 |
| 1.6.1 TNF..... | 29 |
| 1.6.2 IL-1 β | 32 |
| 1.6.3 IL-6 | 35 |
| Capítulo II | 38 |
| Justificativa | 38 |
| 2 Justificativa | 39 |
| Capítulo III | 40 |
| Objetivos..... | 40 |
| 3 Objetivos..... | 41 |
| 3.1 Objetivo Geral | 41 |
| 3.2 Objetivos Específicos | 41 |
| Capítulo IV..... | 42 |
| Association between genetic variants in <i>TNF</i>, <i>IL6</i>, and <i>IL1B</i> genes and severity of Covid-19: a cross-sectional Brazilian study..... | 43 |
| Capítulo V..... | 90 |
| 5 Discussão | 91 |
| Capítulo VI..... | 95 |
| 6 Referências | 96 |

Resumo

A Covid-19 (doença do coronavírus 2019), é uma doença infecciosa causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2) é transmitida principalmente pelo contato direto do indivíduo infectado. Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde declarou a Covid-19 como uma pandemia. É observado um grande espectro das manifestações clínicas da doença, mas de forma geral a mediana de idade dos pacientes de Covid-19 internados é de 58 anos (IQR: 44-72), e os homens compõem a maior parcela de casos graves. As comorbidades mais comuns relatadas são doenças cardíacas, diabetes, hipertensão e obesidade. Os pacientes de Covid-19 podem ser classificados de acordo com a gravidade de seus sintomas, enquanto os sintomáticos leves apresentam sintomas gripais (tosse, falta de ar, febre e fadiga), alguns pacientes desenvolvem Covid-19 grave, e necessitam de internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e ventilação mecânica. Foi observado que concentrações mais altas de interleucina (IL)-6, IL-1 β e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), se correlacionaram com a gravidade da doença. Vários estudos mostraram aumento de IL-6 em pacientes hospitalizados com Covid-19 e sua associação com gravidade e mortalidade. A IL-1 β é um mediador essencial da resposta inflamatória e, assim como a IL-6, está envolvida em vários processos celulares durante a resposta imune, como proliferação, diferenciação e apoptose celular. Níveis elevados de IL-1 β no tecido pulmonar têm sido associados a desfechos graves de Covid-19, incluindo ventilação mecânica invasiva. Alguns estudos também relacionam o TNF-alfa como biomarcador de gravidade. Os níveis dessas citocinas são regulados por diferentes fatores, incluindo variantes genéticas, e é bem conhecido que variantes genéticas do hospedeiro desempenham um papel fundamental na suscetibilidade ou gravidade de diferentes infecções virais. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar variantes genéticas funcionais nos genes *TNF* (rs1799964, rs1800630, rs1799724, rs1800629 e rs361525), *IL6* (rs2069832, rs2069840, rs2069845 e rs1800795), e *IL1B* (rs4848306, rs1143623, rs16944 e rs1143627), e correlacioná-las aos desfechos da Covid-19. Avaliamos uma amostra de 439 indivíduos com teste RT-PCR positivo para SARS-Cov-2, coletados de abril de 2020 a março de

2021, diagnosticando pelo Laboratório Central do Rio Grande do Sul (LACEN). Dados clínicos e demográficos da amostra foram obtidos a partir do registro do Sistema de Notificações de Síndromes Respiratórias Agudas Graves (SIVEP-GRIPE) e o DNA do hospedeiro foi extraído a partir de *swabs* nasofaríngeos coletados para diagnóstico. A extração do DNA ocorreu por uma metodologia de *salting out* desenvolvida *in house* e a genotipagem das variantes foi realizada por PCR em tempo real com ensaios *TaqMan*. As análises descritivas das características clínico-demográficas da amostra foram apresentadas como frequências absolutas e relativas, assim como medianas e intervalos interquartil. As comparações entre as frequências alélicas e genotípicas para pacientes hospitalizados e não hospitalizados foi realizada através do teste de qui-quadrado e a avaliação do risco do alelo ou genótipo nos desfechos foi analisada por regressão de Poisson com variâncias robustas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O número total de pacientes analisados foi de 439 indivíduos, sendo que 217 (49,4%) foram hospitalizados e o número de indivíduos que não necessitam de internação foi de 210 (47,8%). Os homens representaram 56,6% dos pacientes com necessidade de internação, e a mediana de idade geral da amostra foi de 53 anos (IQR 36,0-69,0). Em relação aos sintomas da Covid-19, febre, e tosse foram registradas com maior frequência entre todos os pacientes. Fadiga, dificuldade para respirar e saturação de oxigênio <95% foram relatadas com maior frequência entre os indivíduos que necessitaram de internação, enquanto dor de garganta e perda de paladar e olfato foram estatisticamente associadas ao grupo de indivíduos que não necessitou de internação. As comorbidades mais prevalentes foram cardiopatias (81,1%, $p < 0,001$) e diabetes (81,1%, $p < 0,001$), ambas mais frequentes em pacientes hospitalizados. As frequências alélicas e genotípicas não diferiram entre hospitalizados e não hospitalizados para as variantes de *IL6* e *IL1B*. Para o gene *TNF*, as variantes -1031T>C (rs1799964), -863C>A (rs1800630), -857C>T (rs1799724) mostraram-se estatisticamente diferentes entre hospitalizados e não hospitalizados. Embora nenhuma variante de *IL1B* tenha se mostrado estatisticamente diferente entre os grupos, um modelo de regressão de Poisson foi analisado considerando a variante -511 de *IL1B* (rs16944) que apresentou uma

diferença genotípica entre grupos com um valor de $p=0,15$. Neste modelo, o genótipo AG de *IL1B*-511 (rs16944) foi associado a um caráter protetor em relação a desfechos mais graves da Covid-19 (RR 0.75, 95% CI 0.62-0.91, $p < 0.001$). A variante -1031T>C (rs1799964) foi a única que permaneceu estatisticamente significativa no modelo multivariado de regressão de Poisson. O genótipo CT apresentou um caráter protetor para a gravidade da Covid-19 (RR 0,74, IC 95% 0,61-0,91, $p < 0,001$). Embora não tenhamos encontrado outros estudos avaliando o impacto especificamente dessas variantes na Covid-19, podemos levantar a hipótese de que a presença de ambos os alelos desses genes no genótipo heterozigoto poderia ser benéfica devido ao equilíbrio na expressão de citocinas, já que ambas as variantes são funcionais e impactam a expressão dos genes. Este é o primeiro estudo a encontrar associações entre variantes de *IL1B* e *TNF* relacionadas ao desfecho da Covid-19 na população brasileira. As análises e resultados obtidos nesse estudo podem contribuir para a compreensão da variabilidade imunogenética do hospedeiro humano e os diferentes desfechos da Covid-19.

Abstract

Covid-19 (coronavirus disease 2019) is an infectious disease caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is transmitted especially through direct contact with the infected individual. In March 2020, World Health Organization declared Covid-19 as a pandemic. A great spectrum of the disease's clinical manifestations is observed, although, in general, the median age of the patients hospitalized due to Covid-19 is 58 years (IQR: 44-72), and men represent the majority of severe cases. The most common comorbidities are cardiac diseases, diabetes, and obesity. Patients with Covid-19 can be classified according to the symptoms' severity; mild patients present flu-like symptoms (cough, shortness of breath, fever, and fatigue), whilst some patients develop severe Covid-19, needing to be hospitalized in Intensive Care Units (ICU) and mechanical ventilation. It was observed that increased levels of interleukin (IL)-6, IL-1 β , and Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) are correlated with the severity of the disease. Several studies have demonstrated an increase in IL-6 levels in patients hospitalized with Covid-19 and its association with severity and mortality. IL-1 β is an essential mediator of the inflammatory response and, like IL-6, it is involved in several cellular processes during the immune response, including proliferation, differentiation, and apoptosis. Elevated levels of IL-1 β in the lung tissue have been associated with severe outcomes of Covid-19, including invasive mechanical ventilation. Some studies have also associated TNF-alpha as a severity biomarker. Different factors regulate the levels of these cytokines, including genetic variants, being also established the host's genetic variants have a central role in the susceptibility and severity of different viral infections. Hence, this study aimed to evaluate functional genetic variants in *TNF* (rs1799964, rs1800630, rs1799724, rs1800629 and rs361525), *IL6* (rs2069832, rs2069840, rs2069845 and rs1800795), and *IL1B* (rs4848306, rs1143623, rs16944 and rs1143627) genes and correlate them to the Covid-19 outcomes. We evaluated a sample of 439 individuals with positive RT-PCR tests for SARS-Cov-2 infection, collected between April 2020 and March 2021, being diagnosed in the Laboratório Central do Rio Grande do Sul (LACEN-RS). The sample's clinical and demographic data were obtained through the notification

system named Sistema de Notificações de Síndromes Respiratórias Graves (SIVEP-GRIPE); the host's DNA was extracted through nasopharyngeal swabs collected for diagnostic purposes. DNA extraction was conducted using a salting-out methodology developed *in house* and variants genotyping was performed by real-time PCR using TaqMan assays. Descriptive analysis of the sample's clinical and demographic characteristics was presented as absolute and relative frequencies, including medians and interquartile intervals. Comparisons between allelic and genotypic frequencies of the hospitalized and non-hospitalized patients were performed through the Chi-Square test and risk allele or genotype evaluation regarding the outcome was analyzed through Poisson regression with robust variances. The study was approved by the Ethics Committee in Research of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. The total sample size analyzed was 439 individuals, 217 (49.4%) were hospitalized, and 210 (47.8%) did not need hospitalization. Men represented 56.6% of the patients that needed hospitalization, and the median age of the whole sample was 53 years (IQR 36.0-69.0). Regarding Covid-19 symptoms, fever and cough were registered more frequently in all the patients. Fatigue, dyspnea, and oxygen saturation < 95% were reported more frequently in the hospitalized group; sore throat, taste, and smell loss were statistically associated with the group that was not hospitalized. The most prevalent comorbidities were cardiac diseases (81.1%, $p < 0.001$) and diabetes (81.1%, $p < 0.001$), both more frequent in hospitalized patients. The allelic and genotypic frequencies were similar between hospitalized and non-hospitalized groups for the *IL6* and *IL1B* gene variants. For the *TNF* gene variants, -1031T>C (rs1799964), -863C>A (rs1800630), and -857C>T (rs1799724), allelic and genotypic frequencies were different between the groups analyzed. Although statistical differences were not encountered for *IL1B* variants, a Poisson regression model was performed comprising the -511 variant of *IL1B* (rs16944), which presented a genotypic difference between groups, with a P-Value = 0,15. In this model, the genotype AG of *IL1B*-511 (rs16944) was associated with a protective character, when compared to the severe outcomes of Covid-19 (RR 0.75, 95% CI 0.62-0.91, $p < 0.001$). Variant -1031T>C (rs1799964) of *TNF* was the only statistically significant one considering the multivariate Poisson regression model. Genotype CT presented a protective

character regarding Covid-19 severity (RR 0,74, IC 95% 0,61-0,91, $p < 0,001$). Although we have not encountered other studies evaluating specifically the impact of these variants in Covid-19, we can hypothesize the presence of both these genes' alleles (heterozygous genotype) might benefit the patient because of the balance in the cytokine's expression, since both variants are functional and impact the genes expression. This is the first study to encounter associations between the *IL1B* and *TNF* variants regarding Covid-19 outcomes in the Brazilian population. The analyses and results here obtained might contribute to the understanding of the host's immunogenetics variability and the different outcomes of Covid-19.

Capítulo I

Introdução

1 Introdução

1.1 Pandemia de Covid-19

O Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus anunciou um novo coronavírus, identificado como Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2, do Inglês: *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), em fevereiro de 2020 (Gorbalenya et al., 2020), e a Organização Mundial da Saúde (OMS) nomeou a doença causada por este agente como Covid-19 (*coronavirus disease 2019*) (*Naming the Coronavirus Disease (COVID-19) and the Virus That Causes It*, n.d.). Em março de 2020, a OMS declarou a Covid-19 como uma pandemia. A primeira notificação de infecção por SARS-CoV-2 no Brasil foi confirmada pelo Ministério da Saúde em fevereiro de 2020, em São Paulo (Ministério da Saúde, 2020). O Rio Grande do Sul teve seu primeiro caso notificado em 29/02/2020, confirmado com teste laboratorial em 10/03/2020 (PESSOAS, 2020). Atualmente o número de casos de Covid-19 ultrapassou a marca de 2,7 milhões de confirmados, com uma taxa de mortalidade de 361,4 por 100 mil habitantes (*Coronavírus Brasil*, n.d.).

A doença causada pelo SARS-CoV-2 é altamente infecciosa, e foi considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma emergência global de saúde pública. De acordo com o dashboard interativo desenvolvido pela Universidade Johns Hopkins, até o dia 7 de outubro de 2020 foram registrados aproximadamente 36 milhões de casos confirmados de infecção pelo novo coronavírus (JHU, 2020), no dia 8 de outubro de 2022 o número de casos confirmados foi de 621.129.850 (JHU, 2022). Até essa data, 6.556.589 pessoas morreram em decorrência da Covid-19, e 9.063.463.316 foram vacinadas pelo menos com 1 dose. O Brasil é o quinto país com maior número de casos confirmados, com mais de 34,5 milhões de casos de Covid-19 e ultrapassando a marca de 687 mil mortes relacionadas à doença, uma taxa de 327,2 mortes por 100 mil habitantes (*Coronavírus Brasil*, n.d.).

1.2 Transmissão do SARS-CoV-2

No início da pandemia de Covid-19 foi sugerido uma provável origem zoonótica relacionada a um mercado de frutos do mar (Zou et al., 2020). Pesquisas iniciais mostraram que o SARS-CoV-2 possui uma grande semelhança estrutural com os coronavírus de morcegos, apoiando a teoria de que a origem desse coronavírus teria sido por um salto entre espécies, chamado de *spillover* (Fam et al., 2020). Em pouco tempo ficou claro que a Covid-19 se espalhou rapidamente pela transmissão homem-homem (Nishiura et al., 2020), ocorrendo principalmente entre membros da mesma família, bem como parentes e amigos que entraram em contato próximo com pessoas contaminadas, e em casos de contaminação de profissionais de saúde envolvidos no tratamento de pacientes de Covid-19 (J. Liu et al., 2020). De acordo com a OMS, a transmissão do SARS-CoV-2 pode ocorrer por contato direto com pessoas infectadas e, de forma menos importante, por contato indireto, através de superfícies ou com objetos utilizados pela pessoa infectada, e pelo ar (Schijven et al., 2021). Já foi relatado na literatura que cerca de 44% da transmissão pode ocorrer de 2 a 3 dias antes do início dos sintomas (X. He et al., 2020). O período médio de incubação é dependente do tipo de variante de SARS-CoV-2 e da faixa etária dos pacientes. Em média, o tempo de incubação para pessoas acima de 60 anos é de 7,4 dias (IC 95%, 5,75-9,11 dias), enquanto para jovens abaixo de 18 o tempo de incubação é de 8,82 dias (IC 95%, 8,19-9,45 dias) ((WU et al., 2022). De forma global, este tempo é estimado em 5,1 dias, com intervalo de 1 a 13 dias, e em 95% dos pacientes há uma maior probabilidade de apresentar sintomas dentro de 11 a 12 dias após o contato (Lauer et al., 2020; Li et al., 2020; Paudel et al., 2020). Segundo (ZOU et al., 2020), a carga viral detectada no paciente assintomático é semelhante à do paciente sintomático, indicando que a transmissão de SARS-CoV-2 pode ocorrer inclusive através de pacientes com manifestações leves, pré-sintomáticos e assintomáticos.

1.3 Sintomas e achados clínicos da Covid-19

Um estudo publicado pelo Consórcio Internacional de Infecções Respiratórias Agudas Graves e Emergentes (ISARIC), utilizou o Protocolo de Caracterização Clínica da OMS para traçar o perfil de 708.158 pacientes com Covid-19 ao redor do mundo (Garcia-Gallo et al., 2022). A mediana de idade dos pacientes internados ou com o diagnóstico foi de 58 (IQR: 44-72) anos e mulheres representaram 50,9% da amostra. De acordo com o mesmo estudo, as comorbidades mais comuns foram: hipertensão (30,7%), diabetes (29,6%) e doença cardíaca crônica (10,5%). Também observaram que comorbidades como obesidade, asma e doença renal crônica foram associadas a um maior risco de gravidade da doença (Garcia-Gallo et al., 2022).

Os sintomas mais comuns descritos nesta amostra foram: tosse (23,7%), falta de ar (19,8%), febre (17,5%), fadiga (11,5%) e consciência alterada (6,1%), os quais também foram observados em sobreposição. Outras manifestações clínicas como dor de cabeça (8%) e sintomas entéricos como dor abdominal (2%), vômito (3%) e diarreia (7%) (Huang et al., 2020a), são frequentemente relatados no momento da admissão hospitalar. Quanto às complicações durante o período de internação, pneumonia viral (16,2%), síndrome do desconforto respiratório agudo (6,6%), lesão renal aguda (5,5%), anemia (4,3%) e pneumonia bacteriana (3,8%) foram as mais descritas.

Os pacientes com Covid-19 podem ser classificados em quatro tipos, de acordo com a gravidade de seus sintomas: assintomáticos, sintomáticos leves, sintomáticos moderados e sintomáticos graves (Chang et al., 2020) (Tabela 1). Enquanto os sintomáticos leves apresentam sintomas gripais e não necessitam de assistência clínica, os pacientes que evoluem negativamente, e desenvolvem Covid-19 grave, necessitam de internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e ventilação mecânica. Gestantes com Covid-19 têm uma probabilidade significativamente maior de serem hospitalizadas na UTI ((RR = 2,23, IC 95% = 1,58–3,16) e de necessitarem de ventilação (RR = 2,13, IC 95% = 1,06–4,28),

quando comparadas a mulheres não grávidas com Covid-19, embora o risco de óbito seja semelhante entre os casos (H. Wang et al., 2022). Estima-se que 90% das crianças positivas para SARS-CoV-2 são assintomáticas ou apresentam sintomas leves a moderados (Adeyinka et al., 2021). Em circunstâncias onde crianças desenvolvem Covid-19 grave ou crítico, elas apresentam insuficiência respiratória hipóxica aguda, desenvolvem patologias neurológicas e/ou complicações relacionadas a hipercoagulabilidade, como trombose (Blatz & Randolph, 2022). Em 2020, negros representaram 70,6% das mortes por Covid-19 nos Estados Unidos, mas após um ajuste por diferenças nas características sociodemográficas e clínicas na admissão hospitalar, não foi constatada uma associação a maior taxa de mortalidade em negros do que em relação a brancos (Price-Haywood et al., 2020; Robertson et al., 2022).

Tabela 1: Escala de Progressão Clínica segundo a OMS

| Estado do paciente | Descrição | Score |
|--------------------------------|--|-------|
| Não Infectado | Não Infectado; RNA viral não detectado | 0 |
| Ambulatorial: Doença Leve | Assintomático; RNA viral detectado | 1 |
| | Sintomático; independente | 2 |
| | Sintomático; Assistência Necessária | 3 |
| Hospitalizado: Doença Moderada | Hospitalizado; sem oxigenoterapia* | 4 |
| | Hospitalizado; Oxigenoterapia por máscara ou cânula nasal | 5 |
| Hospitalizado: Doença Grave | Hospitalizado; Oxigenoterapia de alto fluxo ou por VNI | 6 |
| | Entubação e ventilação mecânica, $pO_2/FiO_2 \geq 150$ ou $SpO_2/FiO_2 \geq 200$ | 7 |
| | Ventilação mecânica, $pO_2/FiO_2 < 150$ ($SpO_2/FiO_2 < 200$) ou vasopressores | 8 |
| | Ventilação mecânica, $pO_2/FiO_2 < 150$ e vasopressores, diálise ou ECMO | 9 |
| Morte | Morte | 10 |

ECMO = oxigenação por membrana extracorpórea; FiO_2 = fração inspirada de oxigênio; pO_2 = pressão parcial de oxigênio; SpO_2 = saturação de oxigênio; VNI = ventilação não invasiva.

* Se hospitalizado apenas para isolamento, registrar como paciente ambulatorial.

Tabela adaptada de: Infection, W. W. G. O. T. C. C. A. M. O. C., 2020

Durante a Covid-19, o nível de quase todos os produtos resultantes dos processos metabólicos do organismo humano pode se alterar e apresentar uma correlação com a gravidade e sobrevida da doença. Os principais achados laboratoriais incluem alterações nos níveis da pressão parcial de oxigênio (PO₂), da saturação de hemoglobina (SO₂), proteína total e albumina, que tendem a diminuir nos pacientes infectados por SARS-CoV-2 (Das et al., 2021; Khodeir et al., 2021); e o aumento na contagem de glóbulos brancos e de neutrófilos, no nível sérico da lactato desidrogenase (LDH), da alanina aminotransferase (ALT), da aspartato aminotransferase (AST), da bilirrubina total, de creatinina, da troponina cardíaca, e no tempo de protrombina (TP) (Lippi & Plebani, 2020; Nizami et al., 2021; Perović-Blagojević et al., 2022; Ramos Rojas et al., 2022), sinalizando danos a órgãos e tecidos (Tabela 2). Também estão aumentados os níveis de ferritina, proteína C-reativa (PCR) e procalcitonina (PCT), sendo que a proporção de pacientes com níveis aumentados desses marcadores é significativamente maior naqueles com desfechos mais graves (Gao et al., 2020). Da mesma forma, D-dímero elevado foi associado a óbitos por Covid-19 (Garcia-Gallo et al., 2022).

Tabela 2: Achados laboratoriais relacionados à progressão da Covid-19

| Parâmetro | Tipo de alteração | Relação Clínica |
|---|----------------------|---|
| Alanina Aminotransferase (ALT ou TGP) | Elevado | Danos no fígado |
| Albumina | Reduzido | Função do fígado |
| Aspartato Aminotransferase (AST ou TGO) | Elevado | Danos no fígado |
| Bilirrubina Total | Elevado | Lesão hepática |
| Creatinina | Elevado | Lesão renal |
| D-dímero | Elevado | Choque séptico, ativação da coagulação |
| Ferritina | Elevado | pró-inflamação, |
| Gasometria (SatO ₂ ; pCO ₂ ; HCO ₃ ; pH; AG) | Proporções alteradas | Ventilação Mecânica |
| Interleucina 6 (IL-6) | Elevado | Inflamação, Tempestade de citocinas |
| Lactato | Elevado | Sepse, dano tecidual |
| Lactato Desidrogenase (LDH) | Elevado | Danos nos tecidos, início de sepsse |
| Leucócitos | Elevados | Inflamação sistêmica e doença crônica |
| Linfócitos | Reduzidos | Infecção viral, bacteriana, fúngica e parasitária |
| Neutrófilos | Elevado | Inflamação aguda, infecção bacteriana |
| Plaquetária | Reduzida | Infecção viral |
| Procalcitonina (PCT) | Elevado | Doença pulmonar, sepsse, pneumonia viral, infecção bacteriana |
| Proteína C reativa (PCR) | Elevado | Inflamação, infecção, sepsse, viremia |
| Troponina cardíaca de alta sensibilidade I (TnI-as) | Elevado | Lesão cardíaca |

Adaptado de: The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)

Biomarcadores de inflamação sistêmica também aparecem alterados em pacientes de Covid-19. Foi observado que concentrações mais altas de interleucina (IL)-6, proteína inflamatória de macrófagos 1- α (MIP-1 α), Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF), proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), IL-15, IL-5, antagonista do receptor de IL-1 (IL1RA), Receptor de IL-2 (IL2R), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), IL-8, IL-10, e IL-12p70 (fração biologicamente ativa de IL-12), se correlacionaram com a gravidade da doença (J. Gong et al., 2020; Pons et al., 2021; J. Wang et al., 2020). As citocinas IL-6, IL-8 e TNF- α podem estar relacionadas à elevação do D-dímero (Han et al., 2020). Ainda, IL-6 e IL-1 β induzem a produção hepática de PCR (Sproston & Ashworth, 2018). Resultados de análises de citometria de fluxo em pacientes com Covid-19 têm demonstrado que outro fator importante relacionado ao prognóstico de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 é a diminuição drástica de linfócitos, incluindo células T Helper 1 (T_H1), T Reguladoras (T_{reg}), T citotóxicas (T CD8⁺), células NK e células B (Darif et al., 2021; Eljaaly et al., 2021; Freeman & Swartz, 2020; Szabo et al., 2021), e os casos graves apresentaram um nível menor do que os casos leves (Fang et al., 2020). De uma perspectiva oposta, a mesma associação foi feita por (ZHANG, P. et al., 2021), que correlacionaram pacientes com contagens mais altas de células T CD3⁺, T CD4⁺ ou T CD8⁺ com um menor tempo de permanência hospitalar ($p < 0,05$). Um estudo brasileiro avaliou a contagem de linfócitos e a razão neutrófilos-linfócitos no início da hospitalização como preditores precoces de gravidade e desfecho da Covid-19. Os autores identificaram que pacientes com linfopenia grave, e razão neutrófilos/linfócitos alta eram mais propensos a usar ventilação mecânica ou ir a óbito (D. C. de Oliveira et al., 2022). Já quando comparado a casos graves, a população de linfócitos T CD8⁺ é mais abundante no desfecho leve da doença, sugerindo um potencial papel protetor na doença leve ou um papel patogênico das respostas das células T CD4⁺ na doença grave (Peng et al., 2020).

1.4 Infecção por SARS-CoV-2 e o papel da genética na resposta imunológica do hospedeiro humano

O amplo espectro clínico da Covid-19 indica diferenças intraindividuais na defesa imunológica do hospedeiro contra o SARS-CoV-2. Iniciativas como a *23andMe COVID-19*, *GenOMICC*, *Severe Covid-19 GWAS Group*, *COVID Human Genetic Effort* e a *COVID-19 Host Genetics* (COVID-19 HGI), têm como objetivo reunir e compartilhar dados genéticos do hospedeiro a fim de elucidar o papel de variantes genéticas frente a infecção por SARS-CoV-2 (*23andMe COVID-19 Study Findings Published - 23andMe for Medical Professionals*, n.d.; “Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure,” 2020; COVID Human Genetic Effort, n.d.; COVID-19 HGI, n.d.). A principal abordagem aplicada nestes trabalhos é o estudo de associação do genoma completo (GWAS - genome-wide association study), e ao todo, foram recrutados 125 mil pacientes de COVID-19 e 2,5 milhões de amostras controles. Em resumo, os principais achados desses estudos envolvem variantes genéticas associadas tanto a susceptibilidade, quanto a gravidade da COVID-19. Foi identificada uma função protetora para o grupo ABO, sugerindo o tipo sanguíneo O como protetor ao contrário dos tipos sanguíneos não-O, enquanto o gene *PPP1R15A* (Proteína Fosfatase 1 Subunidade Reguladora 15A) foi associado a uma maior susceptibilidade a infecção por SARS-CoV-2, por exemplo (Niemi et al., 2021; Shelton et al., 2021).

Um cluster localizado no cromossomo 3p21.31 contendo os genes *SLC6A20* (Família de Portadores de Solutos 6 Membro 20), *LZFTL1* (Fator de transcrição de zíper de leucina como 1), *CCR9* (Receptor de quimiocina de motivo C-C 9), *CXCR6* (Receptor de quimiocinas do tipo CXC 6), *XCR1* (Receptor de quimiocina XC 1) e *FYCO1* (Adaptador de autofagia de domínio de bobina enrolada 1), foi funcionalmente implicado na patologia do COVID-19 (Shelton et al., 2021). Variantes nos genes *IFNAR2* (Subunidade 2 do Receptor de Interferon α/β), *DPP9* (Dipeptidil Peptidase 9), *TYK2* (Tirosina Quinase 2), *CCR2* (Receptor de quimiocina de motivo C-C 2) e um cluster de genes que codifica ativadores de enzimas de

restrição antivirais (2´5´Oligoadenilato sintetase (OAS) -1, OAS2 e OEA3), foram associados com a gravidade do COVID-19 (Pairo-Castineira et al., 2020).

O BRACOVID, um consórcio brasileiro projetado para comparar indivíduos com Covid-19 leve ou assintomático com aqueles com Covid-19 grave que requerem hospitalização tem como objetivo identificar os determinantes genéticos do hospedeiro com foco na gravidade da doença, ao contrário dos grupos internacionais que avaliam principalmente a suscetibilidade (Pereira et al., 2022). No estudo brasileiro, com exceção aos achados nos trabalhos anteriores, foi identificado um novo *locus* significativo, associado a Covid-19 em nossa população. Esse locus é composto por um haplótipo de 79Kb localizado no cromossomo 1 próximo ao gene *DSTYK* (Quinase de serina/treonina e tirosina dupla), e foi associado a maior expressão dos genes *DSTYK*, *TMEM81* (Proteína transmembrana 81), *RBBP5* (Proteína 5 de ligação ao retinoblastoma), *CNTN2* (Contactina-2) e *TMCC2* (Família de domínio transmembrana e bobina enrolada 2). Até o momento, nenhum desses estudos encontrou associação com genes codificantes das citocinas diferencialmente expressas associadas a piora clínica de pacientes de COVID-19, como IL-6, IL1 β E TNF- α .

1.4.1 Sistema Imune Inato e Adaptativo em respostas virais

Inicialmente, mecanismos do sistema imune inato são ativados imediatamente após a infecção e predominam durante os primeiros 5-7 dias após o contágio. Em infecções virais, por exemplo, o patógeno pode ser detectado no meio extra ou intracelular através de Receptores de Reconhecimento de Padrão (PRR, do Inglês: *Pattern Recognition Receptor*). No meio extracelular a detecção ocorre por Receptores *Toll-Like* (TLRs), um tipo de PRR localizado na membrana plasmática de macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e estruturas endossomais. Os TLRs identificam Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMP, do Inglês:

Pathogen-Associated Molecular Patterns) e Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs, do Inglês: *Damage-Associated Molecular Pattern*). Um total de 11 tipos de TLRs foram encontrados em seres humanos, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 são de natureza endossomal, expressos em células epiteliais alveolares e brônquicas, enquanto TLR2, TLR4, TLR6 são restritos à membrana celular (Manik et al., 2022). Receptores *Nod-Like* (NLRs), Receptores *Aim-Like* (ALRs) e Receptores *RIG-Like* (RLRs) são tipos de PRRs localizados principalmente no citoplasma de monócitos, macrófagos, e células epiteliais, e são responsáveis pela detecção de patógenos intracelulares. À medida que esses receptores reconhecem PAMPs e/ou DAMPs, eles ativam fatores de transcrição que regulam positivamente um vasto repertório de proteínas efetoras antivirais (Reich, 2019). A ativação das vias por TLRs, por exemplo, leva à secreção de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α , bem como interferons do tipo I, alfa (IFN- α) e beta (IFN- β) (Khanmohammadi & Rezaei, 2021).

A seguir, é então coordenada uma resposta imune adaptativa, específica para os antígenos do patógeno viral, que é mediada principalmente por células T e B. As células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *Antigen Presenting Cells*), tais como macrófagos, células dendríticas e linfócitos B, irão apresentar os epítomos virais às células do sistema imune através do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC, do inglês *Major Histocompatibility Complex*). O MHC de classe II é o receptor responsável por apresentar antígenos exógenos/extracelulares aos Linfócitos T CD4⁺. O complexo epítomos virais/MHC II ligado ao Receptor de Células T (TCR) inicia uma cascata de eventos que levam os Linfócitos T CD4⁺ à expansão clonal e a produção de citocinas que estimulam a proliferação e diferenciação dos Linfócitos B. Já o MHC classe I, receptor responsável por apresentar antígenos endógenos/intracelulares, está presente na maioria das células nucleadas e irá apresentar peptídeos antigênicos aos linfócitos T CD8⁺. Respostas inatas de início rápido são fundamentais para eliminar ou limitar a replicação viral durante o intervalo temporal crítico entre o início do desafio viral e o desenvolvimento de linfócitos T CD8⁺ específicos para vírus. O controle inicial da resposta imune inata assim como o desenvolvimento de uma resposta imune

adaptativa específica são cruciais para a progressão e desfechos da doença (Yang et al., 2020).

1.4.2 Infecção por SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples (ssRNA), com quatro proteínas estruturais principais: as glicoproteínas Spike (S), Nucleocapsídeo (N), Membrana (M) e Envelope (E). A proteína S consiste em duas subunidades, subunidade 1 (S1) de ligação ao receptor e subunidade 2 (S2) de fusão à membrana. A S1 inclui um domínio N-terminal (NTD) e um domínio de ligação ao receptor (RBD), enquanto a S2 inclui um peptídeo de fusão (FP) e outras subunidades (Q. Zhang et al., 2021).

A primeira etapa da infecção viral é a ligação do invasor a uma célula hospedeira através de um receptor alvo. Para entrar na célula humana, por intermédio do domínio S2 da Spike, SARS-CoV-2 se liga ao receptor da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2), e sua membrana é fundida a do hospedeiro pela interação de proteases, como a serina protease transmembranar 2 (TMPRSS2) (Hikmet et al., 2020). (HAMMING et al., 2004), avaliaram a distribuição do receptor ACE2 em tecidos humanos, e identificaram a presença de ACE2 em células epiteliais alveolares, enterócitos do intestino delgado, células endoteliais arteriais e venosas e em células do músculo liso arterial. Em um estudo mais recente, foi observado que a mucosa da cavidade oral pode expressar a ACE2, e na língua a expressão foi mais alta que em outros locais (Xu et al., 2020). Após a entrada na célula do hospedeiro, o reconhecimento do SARS-CoV-2 pode ocorrer por meio de TLR4, TLR7 ou TLR8, que detectam PAMPs do tipo ssRNA, ou a proteína S pode ser detectada pelo TLR2 em macrófagos, monócitos e células epiteliais pulmonares (Dai et al., 2022; Manik et al., 2022). A interação dos TLRs com o PAMPs, estimula a translocação nuclear dos fatores de transcrição Fator de

Necrose Tumoral Kappa B (NF- κ B), Fator Regulador de Interferon 3 (IRF-3) e IRF-7 (Figura 2), em vias dependentes do Fator 88 de Diferenciação Mielóide (MyD88) e dependentes do Adaptador indutor de IFN- β contendo domínio TIR (TRIF), resultando na expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6, TNF- α , e IFN- α/β , essenciais para respostas antivirais (Onofrio et al., 2020). Foi observado que SARS-CoV-2 aumenta a expressão de ACE2, do fator regulador do interferon 3 (IRF3) e de TLR2, sendo a expressão de TLR2 positivamente associada à gravidade do Covid-19 (Zheng et al., 2020). TLR4 exibe uma capacidade muito forte de se ligar à proteína S do SARS-CoV-2, e a S1 poderia ativar a via dependente de MyD88, resultando na expressão supra regulada de citocinas pró-inflamatórias pela via de inflamassomas (Dai et al., 2022). A expressão de mRNA de TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 foi regulada positivamente em amostras de células epiteliais da nasofaringe de pacientes com Covid-19, sendo correlacionadas com os níveis de inflamação e dano tecidual nestes pacientes (Bagheri-Hosseini et al., 2022).

A infecção por SARS-CoV-2 desencadeia a ativação do inflamassoma de proteína 3 do receptor do *Nod-Like* (NLRP3) (Islamuddin et al., 2022; Xiong et al., 2022), que é formado por NLRs e a uma proteína adaptadora ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-recruitment domain*), que recruta e ativa a caspase-1. As caspases-1 ativas são capazes de clivar pró-IL-1 β , e assim induzir a maturação proteolítica de IL-1 β , que então é liberada para o meio extracelular, concomitante a piroptose (Yap et al., 2020). Células adjacentes às infectadas reconhecem a sinalização pela liberação de citocinas. As citocinas e quimiocinas IL-6, proteína 10 induzida por interferon (IP-10), proteína inflamatória de macrófagos-1 α (MIP1 α /CCL3), proteína inflamatória de macrófagos-1 β (MIP1 β /CCL4) e a MCP-1, atraem monócitos, macrófagos e linfócitos T para o local da infecção (Tay et al., 2020). Os macrófagos secretam TNF- α e IL-1 β , em resposta a infecção viral, TNF- α ativa NF- κ B e em conjunto com IL-1 β e IL-6 levam a ativação generalizada de NLRP3, firmando um feedback positivo pró-inflamatório (Tay et al., 2020). Foi identificada uma maior expressão e aglomerados de inflamassomas no pulmão de pacientes que foram a óbito por Covid-19 (Toldo et al., 2021), e maiores

níveis de IL-1 β foram notados em pacientes graves da doença, apontando um possível papel da ativação do inflamassoma neste desfecho (Tay et al., 2020).

Em casos de exposição antigênica persistente, ocorre uma diferenciação exacerbada de linfócitos T, que desenvolvem um estado progressivo de hiporresponsividade funcional caracterizado pela atenuação da eficácia proliferativa. Concomitantemente, a ação sinérgica de citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IFN- γ e IL-6, inibem a proliferação de células T (Fishman et al., 1998). Então, ocorre um dano à resposta imune e as células T antígeno-específicas progridem para um estado chamado de exaustão. Autores mencionam que citocinas como IL-10, IL-6 e TNF- α podem estar envolvidas na redução, por exaustão, de células T (Zheng et al., 2020). As células T CD8⁺ também exercem um papel significativo na atividade anti-SARS-CoV-2, já que em atividade antiviral, produzem citocinas como TNF- α , e moléculas citotóxicas como a perforina, que operam na eliminação das células infectadas. O acúmulo de células T CD8⁺ nos pulmões de pacientes graves de Covid-19 foi associado a lesão tecidual dos pulmões (Saeidi et al., 2018), à medida que existem um número significativo de moléculas citotóxicas e citocinas pró-inflamatórias (Soy et al., 2020). Em Covid-19, há uma promoção excessiva de ativação, e conseqüentemente uma exaustão de células T CD8⁺, e uma população de células T CD4⁺ com danos funcionais (Zheng et al., 2020). Em pacientes graves é observada também a redução, por exaustão, de células Natural Killer (NK) e de células B, como a de células T, caracterizando um quadro de linfopenia (contagem de linfócitos $<1.0 \times 10^9/L$) (Fathi & Rezaei, 2020).

1.5 Tempestade de Citocinas e Desfechos Graves de Covid-19

Diversos estudos têm mostrado que um nível baixo de linfócitos circulantes (linfopenia), tanto T CD4⁺ quanto T CD8⁺, está intimamente relacionado à gravidade

da doença (Cao, 2020). Em contrapartida, os altos níveis de citocinas e quimiocinas têm sido vistos em pacientes com desfechos graves. HUANG e colaboradores, (2020b), descreveram que os níveis séricos de IL-2, IL-7, IL-10, fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF), IP-10, MCP-1, MIP-1 α e TNF- α estavam correlacionados com o agravamento de Covid-19, e a mesma relação foi confirmada para os níveis de IL-6 (AZIZ; FATIMA; ASSALY, 2020; MAEDA et al., 2021; QIN et al., 2020). QIN e colaboradores (2020), realizaram um estudo retrospectivo em um hospital de Wuhan, onde avaliaram 452 pacientes com Covid-19, sendo 286 com quadro grave. A maior parcela dos participantes apresentou linfopenia, altos níveis de biomarcadores de inflamação, como PCR e ferritina sérica, assim como citocinas circulantes: TNF- α , IL-1 e IL-6.

A síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) é a principal causa de mortes por Covid-19 (Hasan *et al.*, 2020). SDRA é caracterizada como um processo de edema pulmonar não hidrostático, causado por uma falha na permeabilidade alveolocapilar, que leva ao acúmulo de fluidos nos alvéolos, impedindo a distribuição do oxigênio (hipoxemia) (Batah & Fabro, 2021; Bernard *et al.*, 2012). Macrófagos alveolares e células epiteliais do pulmão liberam citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, TNF- α e IL-1 β . Estas citocinas estimulam a expressão de moléculas de adesão celular (CAMs) e fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) no pulmão, e assim, aumentam a permeabilidade do endotélio pulmonar, permitindo a disseminação viral e a infiltração de neutrófilos e monócitos inflamatórios. As citocinas, na circulação estimulam a medula a produzir e liberar granulócitos imaturos, que retornarão para o endotélio pulmonar mais aderente e, posteriormente, aumentarão a inflamação pulmonar, levando a SDRA. Como consequência, este evento leva a inflamação sistêmica resultando na Síndrome da Tempestade de Citocinas (Polidoro et al., 2020) .

A Síndrome da Tempestade de Citocinas (CSS - *Cytokine Storm Syndrome*), uma condição clínica crítica induzida por uma cascata de ativação de citocinas, caracterizada por uma forte resposta inflamatória sistêmica, instabilidade hemodinâmica e falência múltipla de órgãos (Gao et al., 2020). A CSS é reconhecida como uma resposta inflamatória letal, originada pela produção de altos

níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-6, IL-1 β , IFN- α , IFN- γ , IL-12, IL-18, IL-33 (Fathi & Rezaei, 2020). Essa liberação de citocinas é a consequência da promoção excessiva de ativação de células B, células T, células NK, macrófagos, células dendríticas e monócitos (Eljaaly et al., 2021). Carsana e colaboradores (2020), avaliaram o tecido pulmonar *post mortem* de 38 pacientes de Covid-19 de dois hospitais italianos, e relataram que o infiltrado de células do sistema imune era composto em grande parte por macrófagos no lúmen alveolar (63,2 %) e linfócitos no interstício (81,6 %). Ainda, em pacientes de Covid-19 grave, há uma redução de macrófagos alveolares e um aumento da população de macrófagos pulmonares pró-inflamatórios de monócitos sanguíneos (Yao et al., 2021). Esse processo faz com que o mecanismo da Tempestade de Citocinas colabore com o aumento da diferenciação exacerbada de linfócitos. Concomitantemente, para suprir a atenuação da eficácia dos linfócitos em exaustão, as citocinas pró-inflamatórias são cada vez mais secretadas por macrófagos ativados, neutrófilos e monócitos.

Os macrófagos ativados produzem uma variedade de citocinas, principalmente TNF- α , IL-1 β e IL-6, que podem desencadear a reação em cascata de fatores inflamatórios, incluindo a Tempestade de Citocinas (Gao et al., 2020). Além da ativação de monócitos primários do sangue, macrófagos teciduais ou células dendríticas (Dinarello, 2011), há evidências de que IL-1 β provoca respostas pró-fibróticas potentes (Kolb et al., 2001), e de que elevações prolongadas dessa citocina estão associadas a danos teciduais graves (Morris et al., 2021). Níveis elevados de IL-6 podem contribuir para a falha funcional de células NK (Villanueva et al., 2005) e prolongam o tempo de vida de T CD8⁺ específicas para respostas a epítopos virais (Velazquez-Salinas et al., 2019). Além disso, a IL-6 promove a fibrogênese sozinha ou em conjunto com o TNF- α (Pantelidis et al., 2001).

1.6 Citocinas: Regulação e variantes genéticas do hospedeiro humano relacionadas aos desfechos da Covid-19

A expressão das citocinas pode ser regulada por fatores genéticos, mas também por fatores não genéticos e ambientais. (TER HORST et al., 2016), avaliaram níveis de citocinas derivadas de monócitos (TNF- α , IL-1 β e IL-6) em relação a fatores ambientais, idade e sexo. Os autores relataram uma maior produção das citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 no verão, bem como menor produção de IL-1 β no inverno. Também mostraram que idade e sexo tem um grande impacto sobre os níveis de citocinas circulantes. Eles constataram que IL-6 e IL-1Ra estão aumentadas na corrente sanguínea de indivíduos mais velhos, e que essas são responsáveis por algumas doenças crônicas relacionadas à idade associadas à inflamação (Asifa et al., 2013). Quanto ao sexo, observaram que a produção de citocinas derivadas de monócitos foi maior em homens, e em mulheres que usam contraceptivos orais há uma redução maior de IFN- γ e TNF- α , embora o uso desses contraceptivos não seja associado a produção de citocinas.

1.6.1 TNF

A regulação da expressão gênica do *TNF* (*Locus*: 6p21.33), a nível transcricional é específica e dependente do tipo de célula e do estímulo recebido. Essas condições irão determinar qual será o complexo de nucleoproteínas (*enhanceosome*), formado por fatores de transcrição e coativadores, que irão conduzir a transcrição (Falvo et al., 2010). O promotor de *TNF* contém uma sequência TATA box e outros elementos cis-reguladores que atuam como estimuladores do processo de transcrição gênica. Essa região possui seis sítios de ligação para Fator Nuclear de Células T Ativadas (NFAT), quatro sítios para

proteínas Elk-1 de Domínio ets (Ets/Elk) e dois sítios de ligação para proteína de especificidade-1 (Sp1) (Tsai et al., 2000). O gene *TNF* está localizado no cromossomo 6, entre o antígeno leucocitário humano classe I (HLA)-B e os *loci* HLA-DR da classe II, a região mais polimórfica do genoma humano (Mungall et al., 2003). O *TNF* possui diversas variantes, a maioria localizada na região promotora. Alguns dos polimorfismos de *TNF* afetam o nível de expressão do gene, e têm sido associados a sintomas característicos de Covid-19 ou a doenças com desfechos semelhantes (Tabela 3) (Sohail et al., 2008; Van Heel et al., 2002a; Xing et al., 2018).

Em um estudo recente, o homocigoto TT da *TNFRSF1B* rs3397 foi associado a um menor índice de Horowitz (razão $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$, utilizada para avaliar a função pulmonar, principalmente em pacientes que estão no uso de ventilação mecânica) em comparação aos genótipos CT + CC (Fricke-Galindo et al., 2022). O polimorfismo de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*, SNP) *TNF- α* -308 (rs1800629 G>A), localizado na região promotora, é fortemente associado à expressão diferencial de *TNF*, sendo o genótipo AA associado significativamente (Valor-p < 0,05) à regulação positiva e relacionado a um pior desfecho clínico na SDRA (Valor-p < .001) (Mortaz et al., 2021). Os genótipos GA e AA do *TNF- α* -308 foram associados a um risco aumentado para Lesão Pulmonar Aguda Pediátrica (PALI), sendo o alelo A considerado um biomarcador de risco (Valor-p < 0,0001) (Zhao et al., 2019). Em Covid-19, o genótipo heterocigoto do *TNF- α* -308 foi significativamente maior no grupo de pacientes de uma população curda iraquiana em comparação com a população geral (Ali et al., 2022). Outro estudo concluiu que pessoas que portam o alelo A do *TNF- α* -308 são mais suscetíveis à infecção por Covid-19, e que o genótipo AA está associado a um padrão mais agressivo da doença (Saleh et al., 2020), além de influenciar o desenvolvimento de sintomas clínicos da infecção por SARS-CoV-2 (Reviono et al., 2022). Os SNPs *TNF- α* -238 (rs361525 G>A), *TNF- α* -857 (rs1799724 C>T), *TNF- α* -1031 (rs1799964 T>C), *TNF- α* -863 (rs1800630 C>A), também estão localizados na região do promotor do gene *TNF*. O SNP *TNF- α* -863 está localizado no sítio de ligação do NF- κ B, e o alelo *TNF- α* -863A, em relação ao alelo C, tem atividade promotora significativamente maior (ter Horst et al., 2016; Van Heel et al., 2002b). Da mesma

forma, os alelos *TNF- α* -1031C, *TNF- α* -857T e *TNF- α* -238A levam a um aumento significativamente maior na expressão de *TNF* do que seus respectivos alelos de referência, além de estarem associados a várias doenças inflamatórias e autoimunes (Kimura et al., 2016; Nourian et al., 2017; Qidwai & Khan, 2011b). ROKNI e colaboradores (2022) mostraram que pacientes com a variante *TNF- α* -238A ($p < .004$), são mais suscetíveis a desenvolver Covid-19 (Rokni et al., 2022).

Tabela 3: Variantes em *TNF* (*Locus*: 6p21.33), associadas a sintomas característicos de Covid-19 ou a doenças com desfechos semelhantes.

| Variante | MAF Global | Região | Tipo de Variante | Associação |
|--|------------|----------|------------------|--|
| <i>TNF-α</i> -1031 (rs1799964) T>C | C=0.22 | Promotor | SNP | Síndrome da febre grave com trombocitopenia (SFTS) - (Xing et al., 2018) Expressão e Febre - (Sohail et al., 2008) |
| <i>TNF-α</i> -863 (rs1800630) C>A | A=0.15 | Promotor | SNP | Expressão - Smith, Andrew J.P. Afinidade por promotor - NF- κ B - (Skoog et al., 2006) Degeneração macular relacionada à idade (DMRI) - (Zazeckyte et al., 2022) Síndrome da febre grave com trombocitopenia (SFTS) - (Xing et al., 2018) SDRA - (Azevedo et al., 2012) |
| <i>TNF-α</i> -857 (rs1799724) C>T | T=0.10 | Promotor | SNP | Expressão - (Smith & Humphries, 2009) Interação entre os fatores de transcrição OCT1 e NF- κ B - (Van Heel et al., 2002a) Síndrome da febre grave com trombocitopenia (SFTS) - (Xing et al., 2018) |

| | | | | |
|---|---------------|-----------------|------------|--|
| <p><i>TNF-α</i> -308 (rs1800629) G>A</p> | <p>A=0.09</p> | <p>Promotor</p> | <p>SNP</p> | <p>Degeneração macular relacionada à idade (DMRI) - (Zazeckyte et al., 2022) Síndrome da febre grave com trombocitopenia (SFTS) - (Xing et al., 2018) Expressão e Febre - (Sohail et al., 2008) SDRA - (Azevedo et al., 2012) Ventilação Mecânica e UTI - (Watanabe et al., 2012) Morte por Sepse e Tempo de UTI - (Fatani et al., 2020) Choque Séptico por Pneumonia - (Feng et al., 2015) Susceptibilidade SARS-CoV-2 - (Ali et al., 2022; Paskulin et al., 2011; Saleh et al., 2020) PALI - (Zhao et al., 2019)</p> |
| <p><i>TNF-α</i> -238 (rs361525) G>A</p> | <p>A=0.06</p> | <p>Promotor</p> | <p>SNP</p> | <p>Degeneração macular relacionada à idade (DMRI) - (Zazeckyte et al., 2022) Síndrome da febre grave com trombocitopenia (SFTS) - (Xing et al., 2018) Dengue - (García-Trejo et al., 2011) Expressão de TNF - (Bank et al., 2014)</p> |

1.6.2 IL-1β

A IL-1β é expressa constitutivamente em muitos tipos celulares em tecidos saudáveis, permanecendo em um estado estacionário (Pro-IL-1β). A ativação do inflamassoma NLRP3 é necessária, em uma segunda etapa, para a secreção de

IL-1 β (Mantovani et al., 2019). Sua expressão pode ser aumentada em resposta a estímulos pró-inflamatórios (TLRs, TNF- α ou ativação do Receptor de IL-1) ou associados a fatores ambientais, como já citado. A estrutura gênica, a regulação da expressão e a função da IL-1 β são evolutivamente bem conservadas (Bent et al., 2018). Variantes na região a montante do gene *IL1B* (Locus: 2q14.1), têm sido associadas a diversas doenças e à regulação da expressão de IL-1 β (Tabela 4). Entre essas variantes reguladoras, muitos SNPs estão distribuídos em diferentes locais da sequência genômica de *IL1B*, indicando múltiplos sítios de regulação, que sugerem que exista um controle rígido sobre a produção e a atividade da IL-1 β (M. B. Oliveira et al., 2018). Já foi descrito na literatura a presença de um SNP intergênico *IL1B* -511 (rs16944 A>G), em *IL1B*, em pacientes que desenvolveram a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), sendo genótipo AA associado ao desenvolvimento de choque séptico ($p < 0,042$) e a morte ($p < 0,035$) (Jiménez-Sousa et al., 2017). De acordo com (STEGGER et al., 2012), a variante A do *IL1B* -3737 (rs4848306 G>A) causa uma modificação no sítio de ligação da subunidade anti-inflamatória p50 da família do NF-kB, diminuindo o nível de subunidade p50 e por consequência, aumento na resposta inflamatória. Já os polimorfismos C (*IL1B* -1473, rs1143623 G>C) e C (*IL1B* -31, rs1143627 C>T), foram associados a uma menor taxa de expressão de *IL1B* (H. Chen et al., 2006). Em contrapartida, a variante *IL1B* -31C, em homozigose mostrou um risco aumentado de Covid-19 grave em aproximadamente quatro vezes (OR ajustado [aOR]: 4,6; IC 95%, 1,3-17,0), utilizando uma abordagem de modelo dominante (Tanimine et al., 2021).

Tabela 4: Variantes em *IL1B* (Locus: 2q14.1), associadas a sintomas característicos de Covid-19 ou a doenças com desfechos semelhantes.

| Código rs | MAF Global | Região | Tipo de Variante | Associação |
|---|------------|----------|------------------|---|
| <i>IL1B</i> -3737 (rs4848306) G>A | A=0.36 | Promotor | SNP | Fadiga Grave em resposta aguda à doença (ASR) - (Valencia et al., 2021) Transcrição de <i>IL1B</i> (Bank et al., 2014) |
| <i>IL1B</i> -1473 (rs1143623) G>C | G=0.30 | Promotor | SNP | Transcrição - (H. Chen et al., 2006) |
| <i>IL1B</i> -511 (rs16944) A>G | G=0.49 | Promotor | SNP | Expressão - (Hulkkonen et al., 2000; Smith & Humphries, 2009) Secreção de <i>IL-1β</i> - (Hall et al., 2004) Transcrição - (H. Chen et al., 2006) Doença respiratória exacerbada pela aspirina (DRAE) - (Falfán-Valencia et al., 2012) Sepse e Mortalidade hospitalar em SDRA - (Belopolskaya et al., 2015) Choque séptico e óbito - (Jiménez-Sousa et al., 2017) DPOC - (J. M. Lee et al., 2008) |
| <i>IL1B</i> -31 (rs1143627) C>T | A=0.47 | Promotor | SNP | Secreção de <i>IL-1β</i> - (Hall et al., 2004) Transcrição - (H. Chen et al., 2006) DPOC - (J. M. Lee et al., 2008) |

1.6.3 IL-6

IL-1 β e TNF- α , mediante a sinalização por receptores de citocinas, e sinalizações por meio de receptores Toll-Like, são indutores da expressão de IL-6, ativando fatores de transcrição como o NF- κ B, a Proteína Ativadora-1 (AP-1), a Sp-1, o Fator Regulador de Interferon-1 (IRF-1), e o Fator Nuclear IL6 (NF-IL6) - de resposta específica para IL-1 β (Brasier, 2010). IL-1 β e TNF- α são potentes indutores de IL6, e IL-6 regula TNF e IL1 inversamente (Confalone et al., 2010; Schindler et al., 1990). A transcrição de *IL6* (*Locus*: 7p15.3), é fortemente regulada por NF-IL6 e NF- κ B, e uma atividade transcricional ótima requer o sinergismo entre estas duas regiões em locais distintos no promotor (Terry et al., 2000). Próximo a essa região, está localizado o SNP *IL6* -174 (rs1800795 G>C). Essa variante já foi associada a expressão diferencial de *IL6* em diversos cenários (Guan et al., 2020; Konwar et al., 2019), embora a predição *in silico* tenha predito uma funcionalidade mais alta para a variante *IL6* +615 (rs2069832 A>G), quando comparado ao seu adjacente, *IL6* -572 (rs1800796 G>C) [788 bp de distância] (Belopolskaya et al., 2015). Uma revisão sistemática e meta-análise avaliou a associação entre polimorfismos de 12 genes de interleucinas e a patogênese da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) (Ahmadi et al., 2019). Os autores observaram que portadores do genótipo CC do *IL6* -174 possuem um maior risco de desenvolver DPOC (Valor-p < 0,01). A variante rs1800795 tem sido fortemente associada a desfechos de Covid-19. Juntamente com *IL6* -597 (rs1800797 G>A), a variante -174G>C foi relacionada ao desenvolvimento da Síndrome de Ativação de Macrofágica em pacientes com Covid-19 na Turquia (Kerget & Kerget, 2021). Além disso, o alelo -174C foi relacionado à gravidade da pneumonia e Covid-19, e associadas a desfecho grave da doença (Giannitrapani et al., 2022; Vakil et al., 2022). Em homozigose, a variante C foi correlacionada com níveis plasmáticos mais altos de IL-6 em pacientes de Covid-19 (Rodrigues et al., 2022). As variantes *IL6* +1754 (rs2069840 C>G) e *IL6* +3331 (rs2069845 G>C) foram associadas a um

aumento da expressão de IL6 (Tabela 5) (Ljungman et al., 2009). Recentemente um estudo de GWAS, envolvendo 632 pacientes com COVID-19 crítico, identificou o genótipo GG da variante *IL6* rs2069837 com uma função protetora contra COVID-19 crítico ($p = 4,64 \times 10^{-16}$, OR = 0,49), diminuindo a expressão de IL-6 no soro em comparação com o genótipo AA (B. Gong et al., 2022). Resultado semelhante foi encontrado para o alelo G da variante *IL6* rs2069827 (G>T, $p = .01$), em um estudo utilizando amostras de uma população iraniana (Rokni et al., 2022).

Tabela 5: Variantes em *IL6* (*Locus: 7p15.3*), associadas a sintomas característicos de Covid-19 ou a doenças com desfechos semelhantes.

| Código rs | MAF Global | Região | Tipo de Variante | Associação |
|---|------------|--------|------------------|--|
| <i>IL6</i> 1754 (rs2069840) C>G | G=0.18 | Intron | SNP | Função Renal/Diabetes Tipo II - (Ng et al., 2008) |
| | | | | Doença Cardiovascular - (Silander et al., 2008) |
| | | | | DPOC - (Yanbaeva et al., 2009) |
| | | | | Expressão e DPOC - (J. Q. He et al., 2009) |
| | | | | Expressão - (Ljungman et al., 2009) |
| <i>IL6</i> +615 (rs2069832) (A>G) | G=0.86 | Intron | SNP | Expressão - (Ljungman et al., 2009) |
| <i>IL6</i> +3331 (rs2069845) G>C | A=0.75 | Intron | SNP | Expressão - (Ljungman et al., 2009) |
| <i>IL6</i> -174 (rs1800795) G>C | G=0.86 | Intron | SNP | Expressão diferencial - (Smith & Humphries, 2009) |
| | | | | Insuficiência Renal e Insuficiência Hepática Aguda em SDRA - (Belopolskaya et al., 2015) |
| | | | | DPOC - (Ahmadi et al., 2019) |
| | | | | Choque Séptico por Pneumonia - (Feng et al., 2015) |
| | | | | Expressão e SAM - (Kerget & Kerget, 2021) |
| | | | | Expressão (Guan et al., 2020; Konwar et al., 2019) |

Capítulo II

Justificativa

2 Justificativa

A resposta imune do hospedeiro aos patógenos depende da associação entre a contribuição de fatores ambientais e de fatores genéticos. Estudos clínicos têm demonstrado que existe uma variabilidade entre as respostas ao SARS-CoV-2, resultando entre sintomas leves de resfriado a desfechos graves, ou até mesmo à morte. Atualmente, estudos sugerem que variações genéticas contribuem para as diferentes respostas interindividuais do sistema imune a patógenos e em respostas a outras comorbidades, como cardiopatias, hipertensão e diabetes. Essas variantes genéticas podem afetar as respostas imunes inatas e adaptativas à suscetibilidade a SARS-CoV-2 e Covid-19. Até o momento existem dados limitados para a população brasileira para elucidar a possível variabilidade genética humana que leve à suscetibilidade, ou ao agravamento da Covid-19. A realização de estudos que avaliam fatores genéticos da resposta imune são essenciais para o entendimento da variabilidade de cada indivíduo na resposta ao SARS-CoV-2. Muitas perguntas precisam ser respondidas sobre variações genéticas e mecanismos moleculares necessários para a eficácia de protocolos de tratamento e desenvolvimento de vacinas. Polimorfismos nos genes *IL1B* (rs4848306, rs1143623, rs16944 e rs1143627), *IL6* (rs2069832, rs2069840, rs2069845 e rs1800795) e *TNFA* (rs1799964, rs1800630, rs1799724, rs1800629 e rs361525), são variantes genéticas que alteram o nível de expressão de genes de resposta imune, e são associados a outras doenças com perfis semelhantes à Covid-19, como a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), Lesão Pulmonar Aguda Pediátrica (PALI) e a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), e portanto, são alvos interessantes investigação na resposta à Covid-19.

Capítulo III

Objetivos

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a existência de associação entre variantes funcionais nos genes *TNF*, *IL6* e *IL1B* com características clínicas e comorbidades em pacientes com COVID-19 no Rio Grande do Sul.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever o perfil clínico dos pacientes com Covid-19 no Rio Grande do Sul, analisando características clínicas e desfechos;
- Analisar a relação entre alelos e frequências genótípicas de variantes no *IL1B* (rs4848306, rs1143623, rs16944 e rs1143627), *IL6* (rs2069832, rs2069840, rs2069845, rs1800795 e rs1800796) e *TNF* (rs1799964, rs1800630, rs2069845, rs1800795 e rs1800796), e desfechos de Covid-19;

Association between genetic variants in TNF, IL6, and IL1B genes and severity of Covid-19: a cross-sectional Brazilian study.

Artigo em preparação.

Capítulo V

Discussão

5 Discussão

A Covid-19 é a terceira doença causada por coronavírus humano a surgir em duas décadas. Embora menos letal que SARS e MERS, a rápida disseminação dessa doença representou a mais grave ameaça à saúde global neste século. A pandemia de Covid-19 durou mais de dois anos, e no Brasil, foram mais de trinta e quatro milhões de casos confirmados e seiscentos e oitenta mil mortes. Embora diversos estudos tenham sido realizados em busca de um melhor entendimento das causas e variabilidades de desfechos para a doença, muitas questões ainda não foram respondidas.

Este trabalho teve como objetivo descrever o perfil clínico de pacientes de Covid-19 do Rio Grande do Sul, e investigar a associação de variantes em genes que codificam citocinas pró-inflamatórias consideradas como biomarcadores de gravidade para Covid-19. Selecionamos treze variantes que estão associadas a regulação da expressão dos genes *IL6*, *IL1B* e *TNF*, e comparamos com a frequência alélica e genotípica entre pacientes hospitalizados e não hospitalizados.

As características clínicas e demográficas dos pacientes incluídos neste estudo foram bastante similares aos já descritos na literatura. Dentre aqueles que necessitam hospitalização, se observa um perfil clínico de homens com idade mais avançada, e apresentando comorbidades, tais como diabetes, doença cardíaca e obesidade (Brodin, 2021; Docherty et al., 2020). Dentre os sintomas, o perfil de tosse e febre não diferiu entre hospitalizados e não hospitalizados. Entretanto, dor de garganta e perda de paladar e olfato foram estatisticamente associadas ao grupo de indivíduos que não necessitou de internação. O achado de anosmia e ageusia ser mais frequente em pacientes com sintomatologia leve é um achado interessante que poderia ser atribuído a diferentes razões. A primeira é que durante os primeiros meses da pandemia, a perda de olfato e paladar (anosmia e ageusia) estavam entre os sintomas mais característicos e diferenciais da infecção por SARS-CoV-2 (Dixon et al., 2020). Assim, seria frequentemente descrita por sua característica única, e valorizada na descrição

de pacientes leves, comparado aos graves. No entanto, não podemos descartar que de fato seja mais comum em pacientes não hospitalizados.

Com relação à investigação genética, nós não observamos diferenças alélicas e genotípicas entre os indivíduos hospitalizados e não hospitalizados para as variantes nos genes da *IL6* e *IL1B*. No entanto, um resultado que chama a atenção é que a variante *IL1B* -3737 não estava em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. O princípio de Hardy-Weinberg é baseado na genética de populações, e, de fato, não se espera que uma variante esteja fora do equilíbrio de Hardy-Weinberg, a menos que alguma força evolutiva esteja atuando sobre aquele *locus* (Namipashaki et al., 2015). Desvios ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg tem sido proposto como uma medida de associação de doenças ao analisar um grupo de doenças, uma vez que os indivíduos são uma seleção não aleatória da população com base em um fenótipo de interesse (W. C. Lee, 2003; Nielsen et al., 1998). De toda a forma, nós faremos uma análise molecular adicional desta variante, por outra técnica de genotipagem para confirmar este resultado.

Embora não tenha sido observada uma diferença significativa nas frequências genotípicas e alélicas entre hospitalizados e não hospitalizados em relação à *IL1B*, nós consideramos um valor de p significativo menos estrito ($p < 0,15$) para construção de um modelo de regressão de Poisson com variâncias robustas. Este modelo de regressão foi construído levando em consideração as características que foram estatisticamente significativas entre os grupos amostrais e que apresentavam um tamanho amostral que permita comparação entre grupos. O modelo construído levou em consideração a idade, sexo, e presença das comorbidades: doença cardíaca, diabetes e obesidade. As análises de regressão com a variante *IL1B* -511 (rs16944) mostraram que o genótipo AG foi associado a um caráter protetor em relação a desfechos mais graves da Covid-19. A expressão da proteína IL-1 β foi relatada como dependente desta variante rs16944 na região promotora de *IL1B* (Hall et al., 2004). A presença do alelo A, foi associada à maior produção de IL-1 β (Hall et al., 2004). A liberação inicial desta citocina colabora de forma importante para a eliminação do SARS-Cov-2, no entanto, a secreção exacerbada de citocinas, incluindo IL-1 β pode ser prejudicial à medida que elas começam a atingir as células do hospedeiro

(Choudhary et al., 2021). Níveis mais altos de IL-1 β foram encontrados no lavado broncoalveolar (LBA) de pacientes que se recuperaram de Covid-19, comparado a não sobreviventes ($p = 0,05$), quando aferidos na fase de replicação viral (média de sobreviventes *versus* não sobreviventes 102 ± 40 vs $15 \pm 7,7$, $p = 0,05$) (Ruiz et al., 2022). Portanto, pacientes de Covid-19 com baixos níveis de IL-1 β no LBA podem estar propensos a desfechos mais graves da Covid-19 em comparação com aqueles com níveis elevados. (Ruiz et al., 2022). Em um estudo com pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda, pacientes com genótipo *IL1B* -511AG foram associados com um menor risco de apresentar leucocitose (>50.000 mm³) ao diagnóstico (CC vs. CT [OR: 0,20, IC 95%: 0.05-0,73, $p = 0,009$]) (Neto et al., 2022). O mesmo genótipo heterozigoto de -511 foi também associado a uma melhor resposta ao tratamento de pacientes infectados com *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), quando tratados com lansoprazol, omeprazol ou rabeprazol, em comparação com pacientes com o genótipo GG (Sugimoto et al., 2006). Apesar de não encontrarmos outros estudos avaliando essa variante na Covid-19, podemos levantar a hipótese de que a presença de ambos os alelos poderia ser benéfica devido ao equilíbrio na expressão desta citocina na fase inicial e final da infecção.

Assim como a IL-1 β , o TNF- α , é secretado principalmente por macrófagos ativados presentes em altas concentrações no LBA de pacientes com a SDRA (Butt, Yasmeen). Na Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) e na Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS), o TNF- α causa a morte apoptótica de células epiteliais e endoteliais pulmonares (CHANNAPPANAVAR; PERLMAN, 2017b), e uma forte correlação com a gravidade de Covid-19 (Choudhary et al., 2021). A expressão de TNF- α é controlada por variante de nucleotídeo único (SNVs) na região promotora do gene. Até o momento, diferentes SNVs foram identificadas sendo as mais frequentemente avaliadas as variantes -238, -308, -875 e -1031 (W. C. Lee, 2003). Nossos resultados mostram diferenças nas frequências alélicas e/ou genótípicas para as variantes rs1799964, rs1800630, rs1799724. No entanto, apenas o genótipo CT da variante *TNF* -1031, mais comum em pacientes ambulatoriais do que em casos hospitalizados (61,1% vs. 38,9%; $p = 0,004$) permaneceu significativamente associado na análise de regressão de Poisson. No modelo controlando por sexo, idade, cardiopatia, diabetes e obesidade, nós identificamos o genótipo CT como protetor para

a gravidade do Covid-19 (RR 0,74, IC 95% 0,61-0,91, $p < 0,001$). O alelo C tem sido significativamente associado com a susceptibilidade à hepatite induzida por medicações na população do norte do Brasil, e portadores do alelo T tem um risco menor de desenvolver hepatotoxicidade (OR = 8,632, $p = 0,014$ e OR = 11,355, $p = 0,004$) (VALENTE, 2015). Pacientes com genótipo CC submetidos à radioterapia apresentaram risco significativamente maior de perder tecido adiposo e músculo ósseos (caquexia), em comparação com indivíduos de genótipo TT ou CT ($p = 0,044$; HR = 3,724). (Guzik et al., 2020). Em relação a tratamento com medicação antiviral, indivíduos HIV positivos, com genótipo CT podem ter um risco aumentado de neuropatia quando tratados com estavudina em comparação com pacientes com o genótipo TT, ou um risco reduzido em comparação com pacientes com o genótipo CC (Chew et al., 2011). Assim, o papel da presença de ambas as variantes ainda é controverso, e provavelmente dependente do contexto genético e imunológico do indivíduo e da condição patológica em questão. Da mesma maneira que hipotetizado para a variantes de *IL1B*, podemos especular que a presença de ambos os alelos poderia ser favorável devido ao equilíbrio na expressão desta citocina nas diferentes fases da doença.

Os resultados deste estudo devem ser interpretados levando em consideração uma série de limitações e potenciais vieses. A amostra avaliada não é muito grande e algumas associações podem ter sido perdidas em razão dessa limitação. Além disso, embora os pacientes sejam provenientes de diferentes partes do Rio Grande do Sul, a amostra pode não ser representativa da população brasileira, especialmente em relação aos aspectos de ancestralidade e *background* genético. Além disso, parte das informações clínicas podem ter sido perdidas em razão de utilizarmos apenas dados registrados no SIVEP-GRIPE e dados específicos das variantes virais que infectaram esses pacientes também não estão disponíveis. Esta foi uma dissertação iniciada durante a pandemia de Covid-19, e que apesar de todas as limitações de circulação, recursos e tempo para pesquisa, traz resultados inovadores em relação ao papel da genética na Covid-19. Estudos mais abrangentes devem ser realizados para confirmar os resultados identificados neste estudo.

Capítulo VI

Referências

6 Referências

- 23andMe COVID-19 Study Findings Published - 23andMe for Medical Professionals. (n.d.). Retrieved October 24, 2022, from <https://medical.23andme.com/23andme-covid-19-study-findings-published/>
- Abdukahil, S. A., Abe, R., Abel, L., Absil, L., Acker, A., Adachi, S., Adam, E., Adrião, D., Ainscough, K., Hssain, A. A., Tamlihat, Y. A., Akimoto, T., Al-Dabbous, T., Al-Fares, A., Al Qasim, E., Alalqam, R., Alex, B., Alexandre, K., Alfoudri, H., ... Zucman, D. (2021). COVID-19 symptoms at hospital admission vary with age and sex: results from the ISARIC prospective multinational observational study. *Infection*, 49(5), 889–905. <https://doi.org/10.1007/S15010-021-01599-5/FIGURES/5>
- Ablamunits, V., & Lepsy, C. (2022). Blocking TNF signaling may save lives in COVID-19 infection. *Molecular Biology Reports* 2022 49:3, 49(3), 2303–2309. <https://doi.org/10.1007/S11033-022-07166-X>
- Adeyinka, A., Bailey, K., Pierre, L., & Kondamudi, N. (2021). COVID 19 infection: Pediatric perspectives. *Journal of the American College of Emergency Physicians Open*, 2(1). <https://doi.org/10.1002/EMP2.12375>
- Adil, M. T., Rahman, R., Whitelaw, D., Jain, V., Al-Ta'an, O., Rashid, F., Munasinghe, A., & Jambulingam, P. (2021). SARS-CoV-2 and the pandemic of COVID-19. *Postgraduate Medical Journal*, 97(1144), 110–116. <https://doi.org/10.1136/POSTGRADMEDJ-2020-138386>
- Ahmadi, A., Ghaedi, H., Salimian, J., Azimzadeh Jamalkandi, S., & Ghanei, M. (2019). Association between chronic obstructive pulmonary disease and interleukins gene variants: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*, 117, 65–71. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2019.02.003>
- Aiello, A., Farzaneh, F., Candore, G., Caruso, C., Davinelli, S., Gambino, C. M., Ligotti, M. E., Zareian, N., & Accardi, G. (2019). Immunosenescence and its hallmarks: How to oppose aging strategically? A review of potential options for therapeutic intervention. *Frontiers in Immunology*, 10(SEP), 2247. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02247/BIBTEX>
- Ali, H. N., Niranji, S. S., & Al-Jaf, S. M. A. (2022). Association of tumor necrosis factor alpha -308 single nucleotide polymorphism with SARS CoV-2 infection in an Iraqi Kurdish population. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(5), e24400. <https://doi.org/10.1002/JCLA.24400>
- Asifa, G. Z., Liaquat, A., Murtaza, I., Kazmi, S. A. R., & Javed, Q. (2013). Tumor necrosis factor-alpha gene promoter region polymorphism and the risk of coronary heart disease. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/203492>
- Azevedo, Z. M., Moore, D. B., Lima, F. C., Cardoso, C. C., Bougleux, R., Matos, G. I., Luz, R. A., Xavier-Elsas, P., Sampaio, E. P., Gaspar-Elsas, M. I., & Moraes, M. O. (2012). Tumor necrosis factor (TNF) and lymphotoxin-alpha (LTA) single nucleotide polymorphisms: Importance in ARDS in septic pediatric critically ill

- patients. *Human Immunology*, 73(6), 661–667.
<https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2012.03.007>
- Aziz, M., Fatima, R., & Assaly, R. (2020). Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, 92(11), 2283–2285.
<https://doi.org/10.1002/JMV.25948>
- Bagheri-Hosseiniabadi, Z., Rezazadeh Zarandi, E., Mirabzadeh, M., Amiri, A., & Abbasifard, M. (2022). mRNA expression of toll-like receptors 3, 7, 8, and 9 in the nasopharyngeal epithelial cells of coronavirus disease 2019 patients. *BMC Infectious Diseases*, 22(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12879-022-07437-9/TABLES/4>
- Bank, S., Andersen, P. S., Burisch, J., Pedersen, N., Roug, S., Galsgaard, J., Turino, S. Y., Brodersen, J. B., Rashid, S., Rasmussen, B. K., Avlund, S., Olesen, T. B., Hoffmann, H. J., Thomsen, M. K., Thomsen, V., Frydenberg, M., Nexø, B. A., Sode, J., Vogel, U., & Andersen, V. (2014). Associations between functional polymorphisms in the NFκB signaling pathway and response to anti-TNF treatment in Danish patients with inflammatory bowel disease. *The Pharmacogenomics Journal* 2014 14:6, 14(6), 526–534.
<https://doi.org/10.1038/tpj.2014.19>
- Batah, S. S., & Fabro, A. T. (2021). Pulmonary pathology of ARDS in COVID-19: A pathological review for clinicians. *Respiratory Medicine*, 176, 106239.
<https://doi.org/10.1016/J.RMED.2020.106239>
- Bell, L. C. K., Meydan, C., Kim, J., Foox, J., Butler, D., Mason, C. E., Shapira, S. D., Noursadeghi, M., & Pollara, G. (2021). Transcriptional response modules characterize IL-1β and IL-6 activity in COVID-19. *Science*, 24(1), 101896.
<https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2020.101896>
- Belopolskaya, O. B., Smelaya, T. V., Moroz, V. V., Golubev, A. M., & Salnikova, L. E. (2015). Clinical associations of host genetic variations in the genes of cytokines in critically ill patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 180(3), 531.
<https://doi.org/10.1111/CEI.12592>
- Bent, R., Moll, L., Grabbe, S., & Bros, M. (2018). Interleukin-1 Beta-A Friend or Foe in Malignancies? *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8).
<https://doi.org/10.3390/IJMS19082155>
- Bernard, G. R., Artigas, A., Brigham, K. L., Carlet, J., Falke, K., Hudson, L., Lamy, M., Legall, J. R., Morris, A., Spragg, R., Cochlin, B., Lanken, P. N., Leeper, K. V., Marini, J., Murray, J. F., Oppenheimer, L., Pesenti, A., Reid, L., & Rinaldo, J. (2012). The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. <https://doi.org/10.1164/Ajrcm.149.3.7509706>, 149(3 I), 818–824.
<https://doi.org/10.1164/AJRCCM.149.3.7509706>
- Blatz, A. M., & Randolph, A. G. (2022). Severe COVID-19 and Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in Children and Adolescents. *Critical Care Clinics*, 38(3), 571–586. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2022.01.005>

- Brasier, A. R. (2010). The nuclear factor-kappaB-interleukin-6 signalling pathway mediating vascular inflammation. *Cardiovascular Research*, 86(2), 211–218. <https://doi.org/10.1093/CVR/10076>
- Brodin, P. (2021). Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. *Nature Medicine* 2021 27:1, 27(1), 28–33. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8>
- Cao, X. (2020). COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature Reviews. Immunology*, 20(5), 269–270. <https://doi.org/10.1038/S41577-020-0308-3>
- Carsana, L., Sonzogni, A., Nasr, A., Rossi, R. S., Pellegrinelli, A., Zerbi, P., Rech, R., Colombo, R., Antinori, S., Corbellino, M., Galli, M., Catena, E., Tosoni, A., Gianatti, A., & Nebuloni, M. (2020). Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *The Lancet. Infectious Diseases*, 20(10), 1135. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30434-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30434-5)
- Carville, K. S., & Abraham, J. (1997). -308 TUMOR POLYMORPHISM FACTOR-a PROMOTER EFFECTS TRANSCRIPTION. *Molecular Immunology*, 34(5), 391–399.
- Chang, M. C., Park, Y.-K., Kim, B.-O., & Park, D. (2020). Risk factors for disease progression in COVID-19 patients. *BMC Infectious Diseases* 2020 20:1, 20(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/S12879-020-05144-X>
- Channappanavar, R., & Perlman, S. (2017a). Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*, 39(5), 529–539. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>
- Channappanavar, R., & Perlman, S. (2017b). Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*, 39(5), 529–539. <https://doi.org/10.1007/S00281-017-0629-X>
- Chen, H., Wilkins, L. M., Aziz, N., Cannings, C., Wyllie, D. H., Bingle, C., Rogus, J., Beck, J. D., Offenbacher, S., Cork, M. J., Rafie-Kolpin, M., Hsieh, C. M., Kornman, K. S., & Duff, G. W. (2006). Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Human Molecular Genetics*, 15(4), 519–529. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDI469>
- Chen, X., Zhao, B., Qu, Y., Chen, Y., Xiong, J., Feng, Y., Men, D., Huang, Q., Liu, Y., Yang, B., Ding, J., & Li, F. (2020). Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 71(8), 1937–1942. <https://doi.org/10.1093/CID/CIAA449>
- Chew, C. S. N., Cherry, C. L., Imran, D., Yunihastuti, E., Kamarulzaman, A., Varna, S., Ismail, R., Phipps, M., Aghafar, Z., Gut, I., & Price, P. (2011). Tumour necrosis

- factor haplotypes associated with sensory neuropathy in Asian and Caucasian human immunodeficiency virus patients. *Tissue Antigens*, 77(2), 126–130. <https://doi.org/10.1111/J.1399-0039.2010.01570.X>
- Choudhary, S., Sharma, K., & Silakari, O. (2021). The interplay between inflammatory pathways and COVID-19: A critical review on pathogenesis and therapeutic options. *Microbial Pathogenesis*, 150. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2020.104673>
- Confalone, E., D'Alessio, G., & Furia, A. (2010). IL-6 Induction by TNF α and IL-1 β in an Osteoblast-Like Cell Line. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 6(2), 135.
- Coronavírus Brasil*. (n.d.). Retrieved October 23, 2022, from <https://covid.saude.gov.br/>
- Costela-Ruiz, V. J., Illescas-Montes, R., Puerta-Puerta, J. M., Ruiz, C., & Melguizo-Rodríguez, L. (2020). SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 54(January), 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.06.001>
- COVID Human Genetic Effort. (n.d.). *COVID HUMAN GENETIC EFFORT*. Retrieved November 3, 2022, from <https://www.covidhge.com/>
- COVID-19 HGI. (n.d.). *Home*. Retrieved November 3, 2022, from <https://www.covid19hg.org/>
- Dai, J., Wang, Y., Wang, H., Gao, Z., Wang, Y., Fang, M., Shi, S., Zhang, P., Wang, H., Su, Y., & Yang, M. (2022). Toll-Like Receptor Signaling in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Induced Innate Immune Responses and the Potential Application Value of Toll-Like Receptor Immunomodulators in Patients With Coronavirus Disease 2019. *Frontiers in Microbiology*, 13, 2354. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.948770/BIBTEX>
- Darif, D., Hammi, I., Kihel, A., El Idrissi Saik, I., Guessous, F., & Akarid, K. (2021). The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? *Microbial Pathogenesis*, 153, 104799. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2021.104799>
- Das, B., Bhatia, S. Y., & Pal, P. M. (2021). Evaluation of the Role of Routine Laboratory Biomarkers in COVID-19 Patients: Perspective from a Tertiary Care Hospital in India. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 36(4), 473. <https://doi.org/10.1007/S12291-021-00978-X>
- Del Valle, D. M., Kim-Schulze, S., Huang, H. H., Beckmann, N. D., Nirenberg, S., Wang, B., Lavin, Y., Swartz, T. H., Madduri, D., Stock, A., Marron, T. U., Xie, H., Patel, M., Tuballes, K., Van Oekelen, O., Rahman, A., Kovatch, P., Aberg, J. A., Schadt, E., ... Gnjatic, S. (2020). An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine* 26:10, 26(10), 1636–1643. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1051-9>
- Dinarello, C. A. (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 117(14), 3720. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2010-07-273417>

- Dixon, B. E., Wools-Kaloustian, K., Fadel, W. F., Duszynski, T. J., Yiannoutsos, C., Halverson, P. K., & Menachemi, N. (2020). Symptoms and symptom clusters associated with SARS-CoV-2 infection in community-based populations: Results from a statewide epidemiological study. *MedRxiv: The Preprint Server for Health Sciences*. <https://doi.org/10.1101/2020.10.11.20210922>
- Docherty, A. B., Harrison, E. M., Green, C. A., Hardwick, H. E., Pius, R., Norman, L., Holden, K. A., Read, J. M., Dondelinger, F., Carson, G., Merson, L., Lee, J., Plotkin, D., Sigfrid, L., Halpin, S., Jackson, C., Gamble, C., Horby, P. W., Nguyen-Van-Tam, J. S., ... Semple, M. G. (2020). Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *BMJ*, *369*. <https://doi.org/10.1136/BMJ.M1985>
- Eljaaly, K., Malibary, H., Alsulami, S., Albanji, M., Badawi, M., & Al-Tawfiq, J. A. (2021). Description and Analysis of Cytokine Storm in Registered COVID-19 Clinical Trials: A Systematic Review. *Pathogens*, *10*(6). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10060692>
- Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*, *383*(23), 2255–2273. https://doi.org/10.1056/NEJMRA2026131/SUPPL_FILE/NEJMRA2026131_DISCLOSURES.PDF
- Falfán-Valencia, R., Pavón-Romero, G. F., Camarena, A., García, M. de la L., Galicia-Negrete, G., Negrete-García, M. C., & Teran, L. M. (2012). The IL1B-511 Polymorphism (rs16944 AA Genotype) Is Increased in Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease in Mexican Population. *Journal of Allergy*, *2012*, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2012/741313>
- Falvo, J. V., Tsytsykova, A. V., & Goldfeld, A. E. (2010). Transcriptional Control of the TNF Gene. *Current Directions in Autoimmunity*, *11*, 27. <https://doi.org/10.1159/000289196>
- Fam, B. S. O., Vargas-Pinilla, P., Amorim, C. E. G., Sortica, V. A., & Bortolini, M. C. (2020). ACE2 diversity in placental mammals reveals the evolutionary strategy of SARS-CoV-2. *Genetics and Molecular Biology*, *43*(2), 1–10. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2020-0104>
- Fang, X., Li, S., Yu, H., Wang, P., Zhang, Y., Chen, Z., Li, Y., Cheng, L., Li, W., Jia, H., & Ma, X. (2020). Epidemiological, comorbidity factors with severity and prognosis of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Aging (Albany NY)*, *12*(13), 12493. <https://doi.org/10.18632/AGING.103579>
- Fang, X., Ming, C., Cen, Y., Lin, H., Zhan, K., Yang, S., Li, L., Cao, G., Li, Q., & Ma, X. (2022). Post-sequelae one year after hospital discharge among older COVID-19 patients: A multi-center prospective cohort study. *Journal of Infection*, *84*(2), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.12.005>
- Fatani, S. H., Alkhatib, K. H., Badr, H., & Alrefai, A. A. (2020). Association of TNF- α -308 (G >A) (rs1800629) Gene Polymorphism with Adverse Outcomes of Sepsis

- in Critically Ill Patients. *DNA and Cell Biology*, 39(9), 1723–1729. <https://doi.org/10.1089/DNA.2020.5468>
- Fathi, N., & Rezaei, N. (2020). Lymphopenia in COVID-19: Therapeutic opportunities. *Cell Biology International*, 44(9), 1792. <https://doi.org/10.1002/CBIN.11403>
- Feng, B., Mao, Z. rong, Pang, K., Zhang, S. lei, & Li, L. (2015). Association of tumor necrosis factor α -308G/A and interleukin-6 -174G/C gene polymorphism with pneumonia-induced sepsis. *Journal of Critical Care*, 30(5), 920–923. <https://doi.org/10.1016/J.JCRC.2015.04.123>
- Fishchuk, L., Rossokha, Z., Pokhylko, V., Cherniavska, Y., Tsvirenko, S., Kovtun, S., Medvedieva, N., Vershyhora, V., & Gorovenko, N. (2021). Modifying effects of TNF- α , IL-6 and VDR genes on the development risk and the course of COVID-19. Pilot study. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 37(2), 133–139. <https://doi.org/10.1515/DMPT-2021-0127>
- Fishman, D., Faulds, G., Jeffrey, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J. S., Humphries, S., & Woo, P. (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *The Journal of Clinical Investigation*, 102(7), 1369–1376. <https://doi.org/10.1172/JCI2629>
- Freeman, T. L., & Swartz, T. H. (2020). Targeting the NLRP3 Inflammasome in Severe COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11, 1518. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01518>
- Fricke-Galindo, I., Buendía-Roldán, I., Ruiz, A., Palacios, Y., Pérez-Rubio, G., Hernández-Zenteno, R. de J., Reyes-Melendres, F., Zazueta-Márquez, A., Alarcón-Dionet, A., Guzmán-Vargas, J., Bravo-Gutiérrez, O. A., Quintero-Puerta, T., Gutiérrez-Pérez, I. A., Nava-Quiroz, K. J., Bañuelos-Flores, J. L., Mejía, M., Rojas-Serrano, J., Ramos-Martínez, E., Guzmán-Guzmán, I. P., ... Falfán-Valencia, R. (2022). TNFRSF1B and TNF Variants Are Associated With Differences in Levels of Soluble Tumor Necrosis Factor Receptors in Patients With Severe COVID-19. *The Journal of Infectious Diseases*, 226(5), 778. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAC101>
- Galván-Román, J. M., Rodríguez-García, S. C., Roy-Vallejo, E., Marcos-Jiménez, A., Sánchez-Alonso, S., Fernández-Díaz, C., Alcaraz-Serna, A., Mateu-Albero, T., Rodríguez-Cortes, P., Sánchez-Cerrillo, I., Esparcia, L., Martínez-Fleta, P., López-Sanz, C., Gabriele, L., del Campo Guerola, L., Suárez-Fernández, C., Ancochea, J., Canabal, A., Albert, P., ... Montes, N. (2021). IL-6 serum levels predict severity and response to tocilizumab in COVID-19: An observational study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 147(1), 72-80.e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.09.018>
- Gao, Y., Li, T., Han, M., Li, X., Wu, D., Xu, Y., Zhu, Y., Liu, Y., Wang, X., & Wang, L. (2020). Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 92(7), 791–796. <https://doi.org/10.1002/JMV.25770>

- Garcia-Gallo, E., Merson, L., Kennon, K., Kelly, S., Citarella, B. W., Fryer, D. V., Shrapnel, S., Lee, J., Duque, S., Fuentes, Y. V., Balan, V., Smith, S., Wei, J., Gonçalves, B. P., Russell, C. D., Sigfrid, L., Dagens, A., Olliaro, P. L., Baruch, J., ... Reyes, L. F. (2022). ISARIC-COVID-19 dataset: A Prospective, Standardized, Global Dataset of Patients Hospitalized with COVID-19. *Scientific Data*, 9(1), 454. <https://doi.org/10.1038/S41597-022-01534-9>
- García-Trejo, A. R., Falcón-Lezama, J. A., Juárez-Palma, L., Granados, J., Zúñiga-Ramos, J., Rangel, H., Barquera, R., Vargas-Alarcón, G., & Ramos, C. (2011). Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms in Mexican patients with dengue fever. *Acta Tropica*, 120(1–2), 67–71. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2011.06.002>
- Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. (2020). *New England Journal of Medicine*, 383(16), 1522–1534. https://doi.org/10.1056/NEJMOA2020283/SUPPL_FILE/NEJMOA2020283_DISCLOSURES.PDF
- Giannitrapani, L., Augello, G., Mirarchi, L., Amodeo, S., Veronese, N., Sasso, B. Lo, Giglio, R. V., Licata, A., Barbagallo, M., Ciaccio, M., Cervello, M., & Soresi, M. (2022). 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*, 85(2), 174–211. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.04.043>
- Gong, B., Huang, L., He, Y., Xie, W., Yin, Y., Shi, Y., Xiao, J., Zhong, L., Zhang, Y., Jiang, Z., Hao, F., Zhou, Y., Li, H., Jiang, L., Yang, X., Song, X., Kang, Y., Tuo, L., Huang, Y., ... Yang, Z. (2022). A genetic variant in IL-6 lowering its expression is protective for critical patients with COVID-19. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022 7:1, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00923-1>
- Gong, J., Dong, H., Xia, Q. S., Huang, Z. yi, Wang, D. kun, Zhao, Y., Liu, W. hua, Tu, S. hao, Zhang, M. min, Wang, Q., & Lu, F. er. (2020). Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/S12879-020-05681-5/FIGURES/4>
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology* 2020 5:4, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Guan, Y., Wang, S., Wang, J., Meng, D., Wu, H., Wei, Q., & Jiang, H. (2020). Gene polymorphisms and expression levels of interleukin-6 and interleukin-10 in lumbar disc disease: A meta-analysis and immunohistochemical study. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 15(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13018-020-01588-8/FIGURES/5>

- Guzik, T. J., Mohiddin, S. A., Dimarco, A., Patel, V., Savvatis, K., Marelli-Berg, F. M., Madhur, M. S., Tomaszewski, M., Maffia, P., D'Acquisto, F., Nicklin, S. A., Marian, A. J., Nosalski, R., Murray, E. C., Guzik, B., Berry, C., Touyz, R. M., Kreutz, R., Dao, W. W., ... McInnes, I. B. (2020). COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. *Cardiovascular Research*, *116*(10), 1666–1687. <https://doi.org/10.1093/CVR/CVAA106>
- Hagau, N., Slavcovici, A., Gonganau, D. N., Oltean, S., Dirzu, D. S., Brezoszki, E. S., Maxim, M., Ciuce, C., Mlesnite, M., Gavrus, R. L., Laslo, C., Hagau, R., Petrescu, M., & Studnicska, D. M. (2010). Clinical aspects and cytokine response in severe H1N1 influenza A virus infection. *Critical Care (London, England)*, *14*(6), R203. <https://doi.org/10.1186/CC9324>
- Halim, C., Mirza, A. F., & Sari, M. I. (2022). The Association between TNF- α , IL-6, and Vitamin D Levels and COVID-19 Severity and Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11020195>
- Hall, S. K., Perregaux, D. G., Gabel, C. A., Woodworth, T., Durham, L. K., Huizinga, T. W. F., Breedveld, F. C., & Seymour, A. B. (2004). Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 β gene with secretion of interleukin-1 β protein. *Arthritis & Rheumatism*, *50*(6), 1976–1983. <https://doi.org/10.1002/ART.20310>
- Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M. L. C., Lely, A. T., Navis, G. J., & van Goor, H. (2004). Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology*, *203*(2), 631–637. <https://doi.org/10.1002/PATH.1570>
- Han, H., Ma, Q., Li, C., Liu, R., Zhao, L., Wang, W., Zhang, P., Liu, X., Gao, G., Liu, F., Jiang, Y., Cheng, X., Zhu, C., & Xia, Y. (2020). Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerging Microbes & Infections*, *9*(1), 1123. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129>
- Hasan, S. S., Capstick, T., Ahmed, R., Kow, C. S., Mazhar, F., Merchant, H. a., & Zaidi, S. T. R. (2020). Mortality in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome and corticosteroids use: a systematic review and meta-analysis. *Expert Review of Respiratory Medicine*, *14*(11), 1. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1804365>
- He, J. Q., Foreman, M. G., Shumansky, K., Zhang, X., Akhabir, L., Sin, D. D., Man, S. F. P., DeMeo, D. L., Litonjua, A. A., Silverman, E. K., Connett, J. E., Anthonisen, N. R., Wise, R. A., Paré, P. D., & Sandford, A. J. (2009). Associations of IL6 polymorphisms with lung function decline and COPD. *Thorax*, *64*(8), 698. <https://doi.org/10.1136/THX.2008.111278>
- He, X., Lau, E. H. Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., Lau, Y. C., Wong, J. Y., Guan, Y., Tan, X., Mo, X., Chen, Y., Liao, B., Chen, W., Hu, F., Zhang, Q., Zhong,

- M., Wu, Y., Zhao, L., ... Leung, G. M. (2020). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine* 26:5, 26(5), 672–675. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
- Herold, T., Jurinovic, V., Arnreich, C., Lipworth, B. J., Hellmuth, J. C., von Bergwelt-Baildon, M., Klein, M., & Weinberger, T. (2020). Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 146(1), 128-136.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.008>
- Hikmet, F., Méar, L., Edvinsson, Å., Micke, P., Uhlén, M., & Lindskog, C. (2020). The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Molecular Systems Biology*, 16(7). <https://doi.org/10.15252/MSB.20209610>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020a). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020b). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Hulkkonen, J., Laippala, P., & Hurne, M. (2000). A rare allele combination of the interleukin-1 gene complex is associated with high interleukin-1b plasma levels in healthy individuals. *European Cytokine Network*, 11(2), 251–255.
- Islamuddin, M., Mustfa, S. A., Ullah, S. N. M. N., Omer, U., Kato, K., & Parveen, S. (2022). Innate Immune Response and Inflammasome Activation During SARS-CoV-2 Infection. *Inflammation*, 1–15. <https://doi.org/10.1007/S10753-022-01651-Y/FIGURES/4>
- JHU. (2020). *COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center*. JHU. <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- Jiménez-Sousa, M. Á., Medrano, L. M., Liu, P., Almansa, R., Fernández-Rodríguez, A., Gómez-Sánchez, E., Rico, L., Heredia-Rodríguez, M., Gómez-Pesquera, E., Tamayo, E., & Resino, S. (2017). IL-1B rs16944 polymorphism is related to septic shock and death. *European Journal of Clinical Investigation*, 47(1), 53–62. <https://doi.org/10.1111/ECl.12702>
- Kerget, F., & Kerget, B. (2021). Frequency of Interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) Polymorphisms in COVID-19 Patients in Turkey Who Develop Macrophage Activation Syndrome. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 74(6), 543–548. <https://doi.org/10.7883/YOKEN.JJID.2021.046>
- Khanmohammadi, S., & Rezaei, N. (2021). Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 93(5), 2735–2739. <https://doi.org/10.1002/JMV.26826>

- Khodeir, M. M., Shabana, H. A., Alkhamiss, A. S., Rasheed, Z., Alsoghair, M., Alsagaby, S. A., Khan, M. I., Fernández, N., & Al Abdulmonem, W. (2021). Early prediction keys for COVID-19 cases progression: A meta-analysis. *Journal of Infection and Public Health*, *14*(5), 561–569. <https://doi.org/10.1016/J.JIPH.2021.03.001>
- Kimura, K., Takayanagi, R., Yokoyama, H., & Yamada, Y. (2016). Effects of tumor necrosis factor α -857C/T polymorphism on the expression of tumor necrosis factor α . *APMIS*, *124*(8), 669–674. <https://doi.org/10.1111/APM.12559>
- Kolb, M., Margetts, P. J., Anthony, D. C., Pitossi, F., & Gauldie, J. (2001). Transient expression of IL-1 β induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, *107*(12), 1529. <https://doi.org/10.1172/JCI12568>
- Konwar, C., Del Gobbo, G. F., Terry, J., & Robinson, W. P. (2019). Association of a placental Interleukin-6 genetic variant (rs1800796) with DNA methylation, gene expression and risk of acute chorioamnionitis. *BMC Medical Genetics*, *20*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12881-019-0768-0/FIGURES/4>
- Lauer, S. A., Grantz, K. H., Bi, Q., Jones, F. K., Zheng, Q., Meredith, H. R., Azman, A. S., Reich, N. G., & Lessler, J. (2020). The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Annals of Internal Medicine*, *172*(9), 577–582. <https://doi.org/10.7326/M20-0504>
- Lee, J. M., Kang, Y. R., Park, S. H., Cha, S. I., Kim, J. S., Kang, H. K., Lee, W. K., Kim, M. J., Kim, C. H., Kim, N. S., Jung, T. H., & Park, J. Y. (2008). Polymorphisms in interleukin-1B and its receptor antagonist genes and the risk of chronic obstructive pulmonary disease in a Korean population: a case-control study. *Respiratory Medicine*, *102*(9), 1311–1320. <https://doi.org/10.1016/J.RMED.2008.03.026>
- Lee, W. C. (2003). Searching for disease-susceptibility loci by testing for Hardy-Weinberg disequilibrium in a gene bank of affected individuals. *American Journal of Epidemiology*, *158*(5), 397–400. <https://doi.org/10.1093/AJE/KWG150>
- Lentz, S., Roginski, M. A., Montrief, T., Ramzy, M., Gottlieb, M., & Long, B. (2020). Initial emergency department mechanical ventilation strategies for COVID-19 hypoxemic respiratory failure and ARDS. *The American Journal of Emergency Medicine*, *38*(10), 2194–2202. <https://doi.org/10.1016/J.AJEM.2020.06.082>
- Li, L. quan, Huang, T., Wang, Y. qing, Wang, Z. ping, Liang, Y., Huang, T. bi, Zhang, H. yun, Sun, W., & Wang, Y. (2020). COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, *92*(6), 577–583. <https://doi.org/10.1002/JMV.25757>
- Lippi, G., & Plebani, M. (2020). Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *58*(7), 1131–1134. <https://doi.org/10.1515/CCLM-2020-0198/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Liu, F., Li, L., Xu, M. Da, Wu, J., Luo, D., Zhu, Y. S., Li, B. X., Song, X. Y., & Zhou, X. (2020). Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in

- patients with COVID-19. *Journal of Clinical Virology*, 127, 104370. <https://doi.org/10.1016/J.JCV.2020.104370>
- Liu, J., Liao, X., Qian, S., Yuan, J., Wang, F., Liu, Y., Wang, Z., Wang, F. S., Liu, L., & Zhang, Z. (2020). Community Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, Shenzhen, China, 2020. *Emerging Infectious Diseases*, 26(6), 1320–1323. <https://doi.org/10.3201/EID2606.200239>
- Liu, Y., Li, S., Zhang, G., Nie, G., Meng, Z., Mao, D., Chen, C., Chen, X., Zhou, B., & Zeng, G. (2013). Genetic variants in IL1A and IL1B contribute to the susceptibility to 2009 pandemic H1N1 influenza A virus. *BMC Immunology*, 14(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-14-37/TABLES/3>
- Ljungman, P., Bellander, T., Schneider, A., Breitner, S., Forastiera, F., Hampel, R., Illig, T., Jacquemin, B., Katsouyanni, K., von Klot, S., Koenig, W., Lanki, T., Nyberg, F., Pekkanen, J., Pistelli, R., Pitsavos, C., Rosenqvist, M., Sunyer, J., & Peters, A. (2009). Modification of the Interleukin-6 Response to Air Pollution by Interleukin-6 and Fibrinogen Polymorphisms. *Environmental Health Perspectives*, 117(9), 1373. <https://doi.org/10.1289/EHP.0800370>
- Maeda, T., Obata, R., Rizk DO, D., & Kuno, T. (2021). The association of interleukin-6 value, interleukin inhibitors, and outcomes of patients with COVID-19 in New York City. *Journal of Medical Virology*, 93(1), 463–471. <https://doi.org/10.1002/JMV.26365>
- Manik, M., Rakesh, |, Singh, K., & Singh, R. K. (2022). Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 94(3), 869–877. <https://doi.org/10.1002/JMV.27405>
- Mantovani, A., Dinarello, C. A., Molgora, M., & Garlanda, C. (2019). Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity*, 50(4), 778–795. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2019.03.012>
- Mardi, A., Meidaninikjeh, S., Nikfarjam, S., Majidi Zolbanin, N., & Jafari, R. (2021). Interleukin-1 in COVID-19 Infection: Immunopathogenesis and Possible Therapeutic Perspective. *Viral Immunology*, 34(10), 679–688. <https://doi.org/10.1089/VIM.2021.0071>
- Ministério da Saúde. (2020). *Coronavírus: Brasil confirma primeiro caso da doença - Notícia - UNA-SUS*. <https://www.unasus.gov.br/noticia/coronavirus-brasil-confirma-primeiro-caso-da-doenca>
- Morris, G., Bortolasci, C. C., Puri, B. K., Marx, W., O'Neil, A., Athan, E., Walder, K., Berk, M., Olive, L., Carvalho, A. F., & Maes, M. (2021). The cytokine storms of COVID-19, H1N1 influenza, CRS and MAS compared. Can one sized treatment fit all? *Cytokine*, 144, 155593. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2021.155593>
- Mortaz, E., Tabarsi, P., Jamaati, H., Dalil Roofchayee, N., Dezfuli, N. K., Hashemian, S. M. R., Moniri, A., Marjani, M., Malekmohammad, M., Mansouri, D., Varahram, M., Folkerts, G., & Adcock, I. M. (2021). Increased Serum Levels of Soluble TNF- α Receptor Is Associated With ICU Mortality in COVID-19 Patients. *Frontiers in Immunology*, 12, 1321. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.592727/BIBTEX>

- Mukherjee, S., & Pahan, K. (2021). Is COVID-19 Gender-sensitive? *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 16(1), 38–47. <https://doi.org/10.1007/S11481-020-09974-Z/TABLES/2>
- Mungall, A. J., Palmer, S. A., Sims, S. K., Edwards, C. A., Ashurst, J. L., Wilming, L., Jones, M. C., Horton, R., Hunt, S. E., Scott, C. E., Gilbert, J. G. R., Clamp, M. E., Bethel, G., Milne, S., Ainscough, R., Almeida, J. P., Ambrose, K. D., Andrews, T. D., Ashwell, R. I. S., ... Beck, S. (2003). The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature* 2003 425:6960, 425(6960), 805–811. <https://doi.org/10.1038/nature02055>
- Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it.* (n.d.). Retrieved November 3, 2022, from [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)
- Namipashaki, A., Razaghi-Moghadam, Z., & Ansari-Pour, N. (2015). The Essentiality of Reporting Hardy-Weinberg Equilibrium Calculations in Population-Based Genetic Association Studies. *Cell Journal*, 17(2), 187–192. <https://doi.org/10.22074/CELLJ.2016.3711>
- Neto, J., Hanna, F., Nogueira, G., Fonseca, J., Souza, G., Pereira, D., Lima, A., Tarragô, A., Marie, A., & Costa, A. (2022). ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO IL1B RS16944 COM PARÂMETROS LABORATORIAIS EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 44, S67. <https://doi.org/10.1016/J.HTCT.2022.09.112>
- Ng, D. P. K., Nurbaya, S., Ye, S. H. J., & Krolewski, A. S. (2008). AN IL-6 HAPLOTYPE ON HUMAN CHROMOSOME 7P21 CONFERS RISK FOR IMPAIRED RENAL FUNCTION IN TYPE 2 DIABETES. *Kidney International*, 74(4), 521. <https://doi.org/10.1038/KI.2008.202>
- Nielsen, D. M., Ehm, M. G., & Weir, B. S. (1998). Detecting marker-disease association by testing for Hardy-Weinberg disequilibrium at a marker locus. *American Journal of Human Genetics*, 63(5), 1531–1540. <https://doi.org/10.1086/302114>
- Niemi, M. E. K., Karjalainen, J., Liao, R. G., Neale, B. M., Daly, M., Ganna, A., Pathak, G. A., Andrews, S. J., Kanai, M., Veerapen, K., Fernandez-Cadenas, I., Schulte, E. C., Striano, P., Marttila, M., Minica, C., Marouli, E., Karim, M. A., Wendt, F. R., Savage, J., ... Donohue, C. (2021). Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature* 2021 600:7889, 600(7889), 472–477. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03767-x>
- Nishiura, H., Linton, N. M., & Akhmetzhanov, A. R. (2020). Initial Cluster of Novel Coronavirus (2019-nCoV) Infections in Wuhan, China Is Consistent with Substantial Human-to-Human Transmission. *Journal of Clinical Medicine*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/JCM9020488>

- Nizami, D., Raman, V., Paulose, L., Hazari, K., & Mallick, A. (2021). Role of laboratory biomarkers in assessing the severity of COVID-19 disease. A cross-sectional study. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 10(6), 2209. https://doi.org/10.4103/JFMPC.JFMPC_145_21
- Nouchi, A., Chastang, J., Miyara, M., Lejeune, J., Soares, A., Ibanez, G., Saadoun, D., Morélot-Panzini, C., Similowski, T., Amoura, Z., Boddaert, J., Caumes, E., Bleibtreu, A., Lorenzo, A., Tubach, F., & Pourcher, V. (2021). Prevalence of hyposmia and hypogeusia in 390 COVID-19 hospitalized patients and outpatients: a cross-sectional study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 40(4), 691–697. <https://doi.org/10.1007/S10096-020-04056-7/TABLES/3>
- Nourian, M., Chaleshi, V., Pishkar, L., Azimzadeh, P., Baradaran Ghavami, S., Balaii, H., Alinaghi, S., Shahrokh, S., Asadzadeh Aghdaei, H., & Zali, M. R. (2017). Evaluation of tumor necrosis factor (TNF)- α mRNA expression level and the rs1799964 polymorphism of the TNF- α gene in peripheral mononuclear cells of patients with inflammatory bowel diseases. *Biomedical Reports*, 6(6), 698–702. <https://doi.org/10.3892/BR.2017.908>
- Oliveira, D. C. de, Spiri, B. S., Schluga, Y. C., Justus, J. L. P., Lopes Neto, F. D. N., & Azambuja, A. P. de. (2022). Evaluation of lymphocyte count, T-cell subsets and neutrophil-to-lymphocyte ratio as early predictors for severity and outcome of COVID-19 disease—a report from a highly complex hospital in Brazil. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. <https://doi.org/10.1016/J.HTCT.2022.05.007>
- Oliveira, M. B., de Vasconcellos, J. P. C., Ananina, G., Costa, V. P., & de Melo, M. B. (2018). Association between IL1A and IL1B polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *https://Doi.Org/10.1177/1535370218809709*, 243(13), 1083–1091. <https://doi.org/10.1177/1535370218809709>
- Onofrio, L., Caraglia, M., Facchini, G., Margherita, V., Placido, S. De, & Buonerba, C. (2020). Toll-like receptors and COVID-19: a two-faced story with an exciting ending. *https://Doi.Org/10.2144/Fsoa-2020-0091*, 6(8). <https://doi.org/10.2144/FSOA-2020-0091>
- Opielak, G., Powrózek, T., Skwarek-Dziewanowska, A., Sobieszek, G., Rahnama-Hezavah, M., & Małeczka-Massalska, T. (2021). Effect of polymorphism rs1799964 in TNF- α gene on survival in depressive patients with chronic heart failure. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 25(21), 6652–6659. https://doi.org/10.26355/EURREV_202111_27109
- Pairo-Castineira, E., Clohisey, S., Klaric, L., Bretherick, A. D., Rawlik, K., Pasko, D., Walker, S., Parkinson, N., Fourman, M. H., Russell, C. D., Furniss, J., Richmond, A., Gountouna, E., Wrobel, N., Harrison, D., Wang, B., Wu, Y., Meynert, A., Griffiths, F., ... Baillie, J. K. (2020). Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature* 2020 591:7848, 591(7848), 92–98. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03065-y>

- Pantelidis, P., Fanning, G. C., Wells, A. U., Welsh, K. I., & Du Bois, R. M. (2001). Analysis of tumor necrosis factor-alpha, lymphotoxin-alpha, tumor necrosis factor receptor II, and interleukin-6 polymorphisms in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163(6), 1432–1436. <https://doi.org/10.1164/AJRCCM.163.6.2006064>
- Paskulin, D. D. Á., Fallavena, P. R. V., Paludo, F. J. O., Borges, T. J., Picanço, J. B., Dias, F. S., & Alho, C. S. (2011). TNF -308G > A promoter polymorphism (rs1800629) and outcome from critical illness. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15(3), 231–238. [https://doi.org/10.1016/S1413-8670\(11\)70181-7](https://doi.org/10.1016/S1413-8670(11)70181-7)
- Paudel, S., Dangal, G., Chalise, A., Bhandari, T. R., & Dangal, O. (2020). The Coronavirus Pandemic: What Does the Evidence Show? *J Nepal Health Res Counc*, 18(1), 1–9. <https://doi.org/10.33314/JNHRC.V18I1.2596>
- Peng, Y., Mentzer, A. J., Liu, G., Yao, X., Yin, Z., Dong, D., Dejnirattisai, W., Rostron, T., Supasa, P., Liu, C., López-Camacho, C., Slon-Campos, J., Zhao, Y., Stuart, D. I., Paesen, G. C., Grimes, J. M., Antson, A. A., Bayfield, O. W., Hawkins, D. E. D. P., ... Knight, J. C. (2020). Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nature Immunology* 2020 21:11, 21(11), 1336–1345. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0782-6>
- Pereira, A. C., Bes, T. M., Velho, M., Marques, E., Jannes, C. E., Valino, K. R., Dinardo, C. L., Costa, S. F., Duarte, A. J. S., Santos, A. R., Mitne-Neto, M., Medina-Pestana, J., & Krieger, J. E. (2022). Genetic risk factors and COVID-19 severity in Brazil: results from BRACOVID study. *Human Molecular Genetics*, 31(18), 3021–3031. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDAC045>
- Perović-Blagojević, I., Bojanin, D., Ristovski-Kornic, D., Marković, J., Aleksić, P., Subošić, B., Vekić, J., & Kotur-Stevuljević, J. (2022). The role of laboratory biomarkers in diagnostics and management of COVID-19 patients. *Archives of Pharmacy*, 72(Notebook 2), 231–246. <https://doi.org/10.5937/ARHFARM72-36369>
- Pessoas, P. D. A. S. (2020). *BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO COVID-2019 CENTRO DE OPERAÇÕES DE EMERGÊNCIA DO RIO GRANDE DO SUL / COERS SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 44 de 2020.*
- Polidoro, R. B., Hagan, R. S., de Santis Santiago, R., & Schmidt, N. W. (2020). Overview: Systemic Inflammatory Response Derived From Lung Injury Caused by SARS-CoV-2 Infection Explains Severe Outcomes in COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01626/FULL>
- Ponce-Gallegos, M. A., Ramos-Martínez, E., García-Carmona, A., Mejía, M., Nava-Quiroz, K. J., Pérez-Rubio, G., Ambrocio-Ortiz, E., González-Pérez, M. I., Buendía-Roldán, I., Rojas-Serrano, J., & Falfán-Valencia, R. (2020). Genetic Susceptibility to Antisynthetase Syndrome Associated With Single-Nucleotide Variants in the IL1B Gene That Lead Variation in IL-1β Serum Levels. *Frontiers in Medicine*, 7, 780. <https://doi.org/10.3389/FMED.2020.547186/BIBTEX>

- Pons, M. J., Ymaña, B., Mayanga-Herrera, A., Sáenz, Y., Alvarez-Erviti, L., Tapiá-Rojas, S., Gamarra, R., Blanco, A. B., Moncunill, G., & Ugarte-Gil, M. F. (2021). Cytokine Profiles Associated With Worse Prognosis in a Hospitalized Peruvian COVID-19 Cohort. *Frontiers in Immunology*, *12*, 3485. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.700921/BIBTEX>
- Price-Haywood, E. G., Burton, J., Fort, D., & Seoane, L. (2020). Hospitalization and Mortality among Black Patients and White Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, *382*(26), 2534–2543. https://doi.org/10.1056/NEJMSA2011686/SUPPL_FILE/NEJMSA2011686_DISCLOSURES.PDF
- Qidwai, T., & Khan, F. (2011a). Tumour Necrosis Factor Gene Polymorphism and Disease Prevalence. *Scandinavian Journal of Immunology*, *74*(6), 522. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3083.2011.02602.X>
- Qidwai, T., & Khan, F. (2011b). Tumour Necrosis Factor Gene Polymorphism and Disease Prevalence. *Scandinavian Journal of Immunology*, *74*(6), 522–547. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3083.2011.02602.X>
- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D. S. (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *71*(15), 762–768. <https://doi.org/10.1093/CID/CIAA248>
- Ramos Rojas, M. C., Cuaresma Cuadros, E. A., Cayo Castillo, J. J., & Monasterio Benique, D. A. (2022). Asociación de biomarcadores y severidad de COVID-19: estudio transversal. *Medwave*, *22*(6). <https://doi.org/10.5867/MEDWAVE.2022.06.002548>
- Reich, N. C. (2019). Too Much of a Good Thing: Detrimental Effects of Interferon. *Seminars in Immunology*, *43*, 101282. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2019.101282>
- Reviono, Hendrastutik, Sari, Y., Suryawati, B., ismail, D., & Yasa, K. P. (2022). Frequency of Interleukin-6 rs 1800796 (-572G/C) and 2069837 (intron 2A/G), TNF- α rs1800750 (-376G/A), and 1800629 (-308G/A) polymorphism in COVID-19 patients with clinical degrees in Central Java. *Bali Medical Journal*, *11*(3), 1364–1368. <https://doi.org/10.15562/BMJ.V11I3.3552>
- Robertson, M. M., Shamsunder, M., Brazier, E., Mantravadi, M., Rane, M. S., Westmoreland, D. A., Parcesepe, A. M., Zimba, R., Maroko, A. R., Kulkarni, S. G., Grov, C., & Nash, D. (2022). Racial/ethnic disparities in exposure to COVID-19, susceptibility to COVID-19 and access to health care – findings from a U.S. national cohort. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2022.01.11.22269101>
- Rodrigues, F. B. B., Silva, R. da, Santos, E. F. dos, Brito, M. T. F. M. de, Silva, A. L. S. da, Leite, M. de M., Costa, F. P. da, Viana, M. de N. do S. de A., Sarges, K. M. L. de, Cantanhede, M. H. D., Verissimo, A. de O. L., Carvalho, M. da S., Henriques, D. F., Silva, C. P. da, Nunes, J. A. L., Costa, I. B., Viana, G. M. R.,

- Queiroz, M. A. F., Lima, S. S., ... Santos, E. J. M. dos. (2022). Association of polymorphisms of IL-6 pathway genes (IL6, IL6R and IL6ST) with COVID-19 severity in an Amazonian population. *BioRxiv*, 2022.09.21.508870. <https://doi.org/10.1101/2022.09.21.508870>
- Rokni, M., Sarhadi, M., Heidari Nia, M., Mohamed Khosroshahi, L., Asghari, S., Sargazi, S., Mirinejad, S., & Saravani, R. (2022). Single nucleotide polymorphisms located in TNFA, IL1RN, IL6R, and IL6 genes are associated with COVID-19 risk and severity in an Iranian population. *Cell Biology International*, 46(7), 1109–1127. <https://doi.org/10.1002/CBIN.11807>
- Ruiz, M. J., Siracusano, G., Cottignies-Calamarte, A., Tudor, D., Real, F., Zhu, A., Pastori, C., Capron, C., Rosenberg, A. R., Temperton, N., Cantoni, D., Liao, H., Ternette, N., Moine, P., Godement, M., Geri, G., Chiche, J.-D., Annane, D., Cramer Bordé, E., ... Bomsel, M. (2022). Persistent but dysfunctional mucosal SARS-CoV-2-specific IgA and low lung IL-1 β associate with COVID-19 fatal outcome: A cross-sectional analysis. *Frontiers in Immunology*, 13, 4385. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.842468/BIBTEX>
- Saeidi, A., Zandi, K., Cheok, Y. Y., Saeidi, H., Wong, W. F., Lee, C. Y. Q., Cheong, H. C., Yong, Y. K., Larsson, M., & Shankar, E. M. (2018). T-cell exhaustion in chronic infections: Reversing the state of exhaustion and reinvigorating optimal protective immune responses. *Frontiers in Immunology*, 9(NOV), 2569. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02569/BIBTEX>
- Saleh, A., Sultan, A., Elashry, M. A., Farag, A., Mortada, M. I., Ghannam, M. A., Saed, A. M., & Ghoneem, E. (2020). Association of TNF- α G-308 a Promoter Polymorphism with the Course and Outcome of COVID-19 Patients. *https://Doi.Org/10.1080/08820139.2020.1851709*, 51(3), 546–557. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1851709>
- Saleh, A., Sultan, A., Elashry, M. A., Farag, A., Mortada, M. I., Ghannam, M. A., Saed, A. M., & Ghoneem, E. (2022). Association of TNF- α G-308 a Promoter Polymorphism with the Course and Outcome of COVID-19 Patients. *Immunological Investigations*, 51(3), 546–557. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1851709>
- Schijven, J., Vermeulen, L. C., Swart, A., Meijer, A., Duizer, E., & de Roda Husman, A. M. (2021). Quantitative Microbial Risk Assessment for Airborne Transmission of SARS-CoV-2 via Breathing, Speaking, Singing, Coughing, and Sneezing. *Environmental Health Perspectives*, 129(4). <https://doi.org/10.1289/EHP7886>
- Schindler, R., Mancilla, J., Endres, S., Ghorbani, R., Clark, S., & Dinarello, C. (1990). Correlations and Interactions in the Production of Interleukin-6 (IL-6), IL-1, and Tumor Necrosis Factor (TNF) in Human Blood Mononuclear Cells: IL-6 Suppresses IL-1 and TNF. *Blood*, 75(1), 40–47. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V75.1.40.40>

- Schulert, G. S., & Grom, A. A. (2014). Macrophage activation syndrome and cytokine-directed therapies. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 28(2), 277–292. <https://doi.org/10.1016/J.BERH.2014.03.002>
- Shelton, J. F., Shastri, A. J., Ye, C., Weldon, C. H., Filshtein-Sonmez, T., Coker, D., Symons, A., Esparza-Gordillo, J., Chubb, A., Fitch, A., Kung, A., Altman, A., Kill, A., Tan, J., Pollard, J., McCreight, J., Bielenberg, J., Matthews, J., Lee, J., ... Auton, A. (2021). Trans-ancestry analysis reveals genetic and nongenetic associations with COVID-19 susceptibility and severity. *Nature Genetics* 2021 53:6, 53(6), 801–808. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00854-7>
- Silander, K., Alanne, M., Kristiansson, K., Saarela, O., Ripatti, S., Auro, K., Karvanen, J., Kulathinal, S., Niemelä, M., Elionen, P., Vartiainen, E., Jousilahti, P., Saarela, J., Kuulasmaa, K., Evans, A., Perola, M., Salomaa, V., & Peltonen, L. (2008). Gender differences in genetic risk profiles for cardiovascular disease. *PloS One*, 3(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0003615>
- Silkov, A. N., Sennikova, N. S., Goreva, E. P., Lopatnikova, Y. A., & Sennikov, S. V. (2012). Production of TNF- α and IL-1 β by Peripheral Blood Mononuclear Cells in Carriers of Different Allele Variants of the Gene. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2012 153:1, 153(1), 68–71. <https://doi.org/10.1007/S10517-012-1646-3>
- Singh, S., Verma, S. K., Kumar, S., Ahmad, M. K., Nischal, A., Singh, S. K., & Dixit, R. K. (2018). Correlation of severity of chronic obstructive pulmonary disease with potential biomarkers. *Immunology Letters*, 196, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.IMLET.2018.01.004>
- Skoog, T., Hamsten, A., & Eriksson, P. (2006). Allele-specific chromatin remodeling of the tumor necrosis factor- α promoter. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 351(3), 777–783. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2006.10.114>
- Smith, A. J. P., & Humphries, S. E. (2009). Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 20(1), 43–59. <https://doi.org/10.1016/J.CYTOGFR.2008.11.006>
- Sohail, M., Kaul, A., Bali, P., Raziuddin, M., Singh, M. P., Singh, O. P., Dash, A. P., & Adak, T. (2008). Alleles -308A and -1031C in the TNF-alpha gene promoter do not increase the risk but associated with circulating levels of TNF-alpha and clinical features of vivax malaria in Indian patients. *Molecular Immunology*, 45(6), 1682–1692. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2007.10.002>
- Song, W. J., Hui, C. K. M., Hull, J. H., Birring, S. S., McGarvey, L., Mazzone, S. B., & Chung, K. F. (2021). Confronting COVID-19-associated cough and the post-COVID syndrome: role of viral neurotropism, neuroinflammation, and neuroimmune responses. *The Lancet. Respiratory Medicine*, 9(5), 533–544. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00125-9](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00125-9)
- Sotomayor-Lugo, F., Alemañy-Díaz Perera, C., Roblejo-Balbuena, H., Zúñiga-Rosales, Y., Monzón-Benítez, G., Suárez-Besil, B., González-Torres, M. de los Á., Torres-Rives, B., Álvarez-Gavilán, Y., Bravo-Ramírez, M., Pereira-Roche, N.,

- Benítez-Cordero, Y., Silva-Ayçaguer, L. C., & Marcheco-Teruel, B. (2022). The role of tumor necrosis factor alpha – 308A > G polymorphism on the clinical states of SARS-CoV-2 infection. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 23(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S43042-022-00274-0/TABLES/4>
- Soy, M., Keser, G., Atagündüz, P., Tabak, F., Atagündüz, I., & Kayhan, S. (2020). Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clin Rheumatol*, 39(7), 2085–2094. <https://doi.org/10.1007/S10067-020-05190-5>
- Sproston, N. R., & Ashworth, J. J. (2018). Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Frontiers in Immunology*, 9(APR), 754. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.00754>
- Stegger, J. G., Schmidt, E. B., Tjønneland, A., Kopp, T. I., Sørensen, T. I. A., Vogel, U., & Overvad, K. (2012). Single nucleotide polymorphisms in IL1B and the risk of acute coronary syndrome: a Danish case-cohort study. *PloS One*, 7(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0036829>
- Sugimoto, M., Furuta, T., Shirai, N., Ikuma, M., Hishida, A., & Ishizaki, T. (2006). Influences of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine polymorphisms on eradication rates of clarithromycin-sensitive strains of *Helicobacter pylori* by triple therapy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 80(1), 41–50. <https://doi.org/10.1016/J.CLPT.2006.03.007>
- Szabo, P. A., Dogra, P., Gray, J. I., Wells, S. B., Connors, T. J., Weisberg, S. P., Krupska, I., Matsumoto, R., Poon, M. M. L., Idzikowski, E., Morris, S. E., Pasin, C., Yates, A. J., Ku, A., Chait, M., Davis-Porada, J., Guo, X. V., Zhou, J., Steinle, M., ... Farber, D. L. (2021). Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe COVID-19. *Immunity*, 54(4), 797-814.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.03.005>
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(10). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A016295>
- Tanimine, N., Takei, D., Tsukiyama, N., Yoshinaka, H., Takemoto, Y., Tanaka, Y., Kobayashi, T., Tanabe, K., Ishikawa, N., Kitahara, Y., Okimoto, M., Shime, N., Ohge, H., Sugiyama, A., Akita, T., Tanaka, J., & Ohdan, H. (2021). Identification of Aggravation-Predicting Gene Polymorphisms in Coronavirus Disease 2019 Patients Using a Candidate Gene Approach Associated With Multiple Phase Pathogenesis: A Study in a Japanese City of 1 Million People. *Critical Care Explorations*, 3(11), e0576. <https://doi.org/10.1097/CCE.0000000000000576>
- Tay, M. Z., Poh, C. M., Rénia, L., MacAry, P. A., & Ng, L. F. P. (2020). The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews. Immunology*, 20(6), 363–374. <https://doi.org/10.1038/S41577-020-0311-8>
- ter Horst, R., Jaeger, M., Smeekens, S. P., Oosting, M., Swertz, M. A., Li, Y., Kumar, V., Diavatopoulos, D. A., Jansen, A. F. M., Lemmers, H., Toenhake-Dijkstra, H.,

- van Herwaarden, A. E., Janssen, M., van der Molen, R. G., Joosten, I., Sweep, F. C. G. J., Smit, J. W., Netea-Maier, R. T., Koenders, M. M. J. F., ... Netea, M. G. (2016). Host and environmental factors influencing individual human cytokine responses. *Cell*, *167*(4), 1111. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.10.018>
- Terry, C. F., Loukaci, V., & Green, F. R. (2000). Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, *275*(24), 18138–18144. <https://doi.org/10.1074/JBC.M000379200>
- Toldo, S., Bussani, R., Nuzzi, V., Bonaventura, A., Mauro, A. G., Cannatà, A., Pillappa, R., Sinagra, G., Nana-Sinkam, P., Sime, P., & Abbate, A. (2021). Inflammasome formation in the lungs of patients with fatal COVID-19. *Inflammation Research*, *70*(1), 7. <https://doi.org/10.1007/S00011-020-01413-2>
- Tsai, E. Y., Falvo, J. V., Tsytsykova, A. V., Barczak, A. K., Reimold, A. M., Glimcher, L. H., Fenton, M. J., Gordon, D. C., Dunn, I. F., & Goldfeld, A. E. (2000). A lipopolysaccharide-specific enhancer complex involving Ets, Elk-1, Sp1, and CREB binding protein and p300 is recruited to the tumor necrosis factor alpha promoter in vivo. *Molecular and Cellular Biology*, *20*(16), 6084–6094. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.16.6084-6094.2000>
- Tsytsykova, A. V., & Goldfeld, A. E. (2002). Inducer-specific enhanceosome formation controls tumor necrosis factor alpha gene expression in T lymphocytes. *Molecular and Cellular Biology*, *22*(8), 2620–2631. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.8.2620-2631.2002>
- Umakanthan, S., Sahu, P., Ranade, A. V., Bukelo, M. M., Rao, J. S., Abrahao-Machado, L. F., Dahal, S., Kumar, H., & Kv, D. (2020). Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate Medical Journal*, *96*(1142), 753–758. <https://doi.org/10.1136/POSTGRADMEDJ-2020-138234>
- Vakil, M. K., Mansoori, Y., Al-Awsi, G. R. L., Hosseinipour, A., Ahsant, S., Ahmadi, S., Ekrahi, M., Montaseri, Z., Pezeshki, B., Mohaghegh, P., Sohrabpour, M., Bahmanyar, M., Daraei, A., Dadkhah Jouybari, T., Tavassoli, A., & Ghasemian, A. (2022). Individual genetic variability mainly of Proinflammatory cytokines, cytokine receptors, and toll-like receptors dictates pathophysiology of COVID-19 disease. *Journal of Medical Virology*, *94*(9), 4088–4096. <https://doi.org/10.1002/JMV.27849>
- Valencia, B. M., Cvejic, E., Vollmer-Conna, U., Hickie, I. B., Wakefield, D., Li, H., Pedergnana, V., Rodrigo, C., & Lloyd, A. R. (2021). The severity of the pathogen-induced acute sickness response is affected by polymorphisms in genes of the NLRP3 inflammasome pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*, *93*, 186–193. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2021.01.005>
- VALENTE, S. L. (2015). *Investigação de polimorfismos no gene TNF em pacientes com hepatotoxicidade induzida por medicações antituberculosas no norte do Brasil.*

- Valletta, R. C., Camargo, L. A. de, Rodrigues, S. O., Silva, S. V. da, Gonçalves, M. C., Queiroz, N. R., Galvão Filho, A. R., & Avelino, M. A. G. (2021). Olfactory dysfunction in the scenario of COVID-19 pandemic in patients screened by the telemonitoring. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, *19*, eAO6204. https://doi.org/10.31744/EINSTEIN_JOURNAL/2021AO6204
- Van De Veerdonk, F. L., & Netea, M. G. (2020). Blocking IL-1 to prevent respiratory failure in COVID-19. *Critical Care*, *24*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/S13054-020-03166-0/FIGURES/1>
- Van Heel, D. A., Udalova, I. A., De Silva, A. P., McGovern, D. P., Kinouchi, Y., Hull, J., Lench, N. J., Cardon, L. R., Carey, A. H., Jewell, D. P., & Kwiatkowski, D. (2002a). Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF- κ B transcription factors. *Human Molecular Genetics*, *11*(11), 1281–1289. <https://doi.org/10.1093/HMG/11.11.1281>
- Van Heel, D. A., Udalova, I. A., De Silva, A. P., McGovern, D. P., Kinouchi, Y., Hull, J., Lench, N. J., Cardon, L. R., Carey, A. H., Jewell, D. P., & Kwiatkowski, D. (2002b). Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF(- κ)B transcription factors. *Human Molecular Genetics*, *11*(11), 1281–1289. <https://doi.org/10.1093/HMG/11.11.1281>
- Van Heel, D. A., Udalova, I. A., De Silva, A. P., McGovern, D. P., Kinouchi, Y., Hull, J., Lench, N. J., Cardon, L. R., Carey, A. H., Jewell, D. P., & Kwiatkowski, D. (2002c). Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF(- κ)B transcription factors. *Human Molecular Genetics*, *11*(11), 1281–1289. <https://doi.org/10.1093/HMG/11.11.1281>
- Van Heel, D. A., Udalova, I. A., De Silva, A. P., McGovern, D. P., Kinouchi, Y., Hull, J., Lench, N. J., Cardon, L. R., Carey, A. H., Jewell, D. P., & Kwiatkowski, D. (2002d). Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF(- κ)B transcription factors. *Human Molecular Genetics*, *11*(11), 1281–1289. <https://doi.org/10.1093/HMG/11.11.1281>
- Velazquez-Salinas, L., Verdugo-Rodriguez, A., Rodriguez, L. L., & Borca, M. V. (2019). The role of interleukin 6 during viral infections. *Frontiers in Microbiology*, *10*(MAY), 1057. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.01057/BIBTEX>
- Villanueva, J., Lee, S., Giannini, E. H., Graham, T. B., Passo, M. H., Filipovich, A., & Grom, A. A. (2005). Natural killer cell dysfunction is a distinguishing feature of systemic onset juvenile rheumatoid arthritis and macrophage activation syndrome. *Arthritis Research & Therapy*, *7*(1), R30. <https://doi.org/10.1186/AR1453>
- Wang, H., Li, N., Sun, C., Guo, X., Su, W., Song, Q., Liang, Q., Liang, M., Ding, X., Lowe, S., Bentley, R., & Sun, Y. (2022). The association between pregnancy and COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Emergency Medicine*, *56*, 188–195. <https://doi.org/10.1016/J.AJEM.2022.03.060>
- Wang, J., Zhang, H., Qiao, R., Ge, Q., Zhang, S., Zhao, Z., Tian, C., Ma, Q., & Shen, N. (2020). Thrombo-inflammatory features predicting mortality in patients with

- COVID-19: The FAD-85 score. *The Journal of International Medical Research*, 48(9), 1–14. <https://doi.org/10.1177/0300060520955037>
- Wang, Z., Zhang, A., Wan, Y., Liu, X., Qiu, C., Xi, X., Ren, Y., Wang, J., Dong, Y., Bao, M., Li, L., Zhou, M., Yuan, S., Sun, J., Zhu, Z., Chen, L., Li, Q., Zhang, Z., Zhang, X., ... Xu, J. (2014). Early hypercytokinemia is associated with interferon-induced transmembrane protein-3 dysfunction and predictive of fatal H7N9 infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(2), 769–774. https://doi.org/10.1073/PNAS.1321748111/SUPPL_FILE/PNAS.201321748SI.PDF
- Watanabe, E., Zehnbaauer, B. A., Oda, S., Sato, Y., Hirasawa, H., & Buchman, T. G. (2012). Tumor necrosis factor -308 polymorphism (rs1800629) is associated with mortality and ventilator duration in 1057 Caucasian patients. *Cytokine*, 60(1), 249–256. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2012.06.016>
- Wong, C. K., Lam, C. W. K., Wu, A. K. L., Ip, W. K., Lee, N. L. S., Chan, I. H. S., Lit, L. C. W., Hui, D. S. C., Chan, M. H. M., Chung, S. S. C., & Sung, J. J. Y. (2004). Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clinical and Experimental Immunology*, 136(1), 95–103. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2249.2004.02415.X>
- Wu, Y., Kang, L., Guo, Z., Liu, J., Liu, M., & Liang, W. (2022). Incubation Period of COVID-19 Caused by Unique SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*, 5(8), e2228008–e2228008. <https://doi.org/10.1001/JAMANETWORKOPEN.2022.28008>
- Xing, B., Li, X. K., Zhang, S. F., Lu, Q. Bin, Du, J., Zhang, P. H., Yang, Z. D., Cui, N., Guo, C. T., Cao, W. C., Zhang, X. A., & Liu, W. (2018). Polymorphisms and haplotypes in the promoter of the TNF- α gene are associated with disease severity of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Chinese Han population. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0006547>
- Xiong, L., Cao, J., Yang, X., Chen, S., Wu, M., Wang, C., Xu, H., Chen, Y., Zhang, R., Hu, X., Chen, T., Tang, J., Deng, Q., Li, D., Yang, Z., Xiao, G., & Zhang, X. (2022). Exploring the mechanism of action of Xuanfei Baidu granule (XFBD) in the treatment of COVID-19 based on molecular docking and molecular dynamics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2022.965273/FULL>
- Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., Li, T., & Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science* 2020 12:1, 12(1), 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>
- Yanbaeva, D. G., Dentener, M. A., Spruit, M. A., Houwing-Duistermaat, J. J., Kotz, D., Passos, V., & Wouters, E. F. M. (2009). IL6 and CRP haplotypes are associated

- with COPD risk and systemic inflammation: a case-control study. *BMC Medical Genetics*, 10, 23. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-10-23>
- Yang, X., Yu, Y., Xu, J., Shu, H., Xia, J., Liu, H., Wu, Y., Zhang, L., Yu, Z., Fang, M., Yu, T., Wang, Y., Pan, S., Zou, X., Yuan, S., & Shang, Y. (2020). Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(5), 475–481. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5)
- Yao, X. H., Luo, T., Shi, Y., He, Z. C., Tang, R., Zhang, P. P., Cai, J., Zhou, X. D., Jiang, D. P., Fei, X. C., Huang, X. Q., Zhao, L., Zhang, H., Wu, H. B., Ren, Y., Liu, Z. H., Zhang, H. R., Chen, C., Fu, W. J., ... Bian, X. W. (2021). A cohort autopsy study defines COVID-19 systemic pathogenesis. *Cell Research*, 31(8), 836. <https://doi.org/10.1038/S41422-021-00523-8>
- Yap, J. K. Y., Moriyama, M., & Iwasaki, A. (2020). Inflammasomes and Pyroptosis as Therapeutic Targets for COVID-19. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 205(2), 307–312. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.2000513>
- Zazeckyte, G., Gedvilaite, G., Vilkeviciute, A., Kriauciuniene, L., Balciuniene, V. J., Mockute, R., & Liutkeviciene, R. (2022). Associations of Tumor Necrosis Factor-Alpha Gene Polymorphisms (TNF)- α TNF-863A/C (rs1800630), TNF-308A/G (rs1800629), TNF-238A/G (rs361525), and TNF-Alpha Serum Concentration with Age-Related Macular Degeneration. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/LIFE12070928>
- Zhang, P., Du, W., Yang, T., Zhao, L., Xiong, R., Li, Y., Geng, Y., Lu, W., & Zhou, J. (2021). Lymphocyte subsets as a predictor of severity and prognosis in COVID-19 patients. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35. <https://doi.org/10.1177/20587384211048567>
- Zhang, Q., Xiang, R., Huo, S., Zhou, Y., Jiang, S., Wang, Q., & Yu, F. (2021). Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/S41392-021-00653-W>
- Zhao, X., He, J., Xie, G., Xu, S., Xie, J., Chen, Y., & Wu, H. (2019). Genetic variations in inflammation-related genes and their influence on the susceptibility of pediatric acute lung injury in a Chinese population. *Gene*, 687, 16–22. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2018.11.009>
- Zheng, H. Y., Zhang, M., Yang, C. X., Zhang, N., Wang, X. C., Yang, X. P., Dong, X. Q., & Zheng, Y. T. (2020). Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cellular & Molecular Immunology* 2020 17:5, 17(5), 541–543. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>
- Zou, L., Ruan, F., Huang, M., Liang, L., Huang, H., Hong, Z., Yu, J., Kang, M., Song, Y., Xia, J., Guo, Q., Song, T., He, J., Yen, H.-L., Peiris, M., & Wu, J. (2020). SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *The New*

England Journal of Medicine, 382(12), 1177–1179.
<https://doi.org/10.1056/NEJMC2001737>