

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DO RECEPTOR ANTAGONISTA DA INTERLEUCINA-1 EM PACIENTES POSITIVOS E NEGATIVOS PARA SARS-CoV-2.

ANALYSIS OF INTERLEUKIN-1 RECEPTOR ANTAGONIST RECEPTOR GENE EXPRESSION IN POSITIVE AND NEGATIVE PATIENTS FOR SARS-CoV-2.

¹NAGAHARA, Mikaela; ²RASMUSSEN, Lucas Trevizani.

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina — Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos- Unifio/FEMM ² Professor Doutor do Curso de Biomedicina

RESUMO

Com o surgimento do novo coronavírus na cidade de Wuhan (China), o SARS-CoV-2, assim denominado, obteve reconhecimento global no final de 2019 devido ao aparecimento de pacientes com manifestações clínicas de pneumonia viral não identificável. O COVID-19, nome designado à doença causada pelo SARS-CoV-2, pode manifestar diversos sintomas, sendo leves, semelhantes à gripe, e graves, com danos ao sistema respiratório, e em alguns casos, o paciente pode evoluir para óbito. De forma geral, a doença permite com que aumente intensamente a produção de citocinas no organismo. A partir disto, o vigente estudo tem como objetivos (I) detectar a presença do vírus SARS-CoV-2 através do método RT-PCR; (II) avaliar os níveis de expressão do mRNA do gene Receptor Antagonista da Interleucina-1 (IL-1Ra) e (III) correlacionar os resultados com a vacina e os achados clínicos, em pacientes detectáveis e não detectáveis para SARS-CoV-2. Foram coletados 127 amostras, dentre elas: 40 amostras pertencentes ao grupo detectáveis vacinados, 43 ao grupo detectáveis não vacinados e 44 ao grupo não detectáveis. A coleta das amostras foi realizada utilizando o método *swab* nasal-oral, isolados ou combinados. Em seguida, foram submetidas a RT-PCR pelo protocolo CDC/NCIRD/DVD (N1, N2, N3) para a detecção do SARS-CoV-2 e a análise da expressão do gene IL-1Ra por PCR em Tempo Real. Os resultados obtidos, ainda em fase de análise poderão proporcionar novas perspectivas quanto aos níveis de IL-1Ra como instrumento de avaliação e do prognóstico do quadro clínico do paciente.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; COVID-19; Receptor Antagonista da Interleucina-1.

ABSTRACT

With the emergence of the new coronavirus in the city of Wuhan (China), SARS-CoV-2, so-called, gained global recognition at the end of 2019 due to the emergence of patients with clinical manifestations of unidentifiable viral pneumonia. COVID-19, the name assigned to the disease caused by SARS-CoV-2, can manifest several symptoms, being mild, flu-like, and severe, with damage to the respiratory system, and in some cases, the patient can evolve to death. In general, the disease allows an intense increase in the production of cytokines in the body. From this, the current project aims to (I) detect the presence of the SARS-CoV-2 virus through the RT-PCR method; (II) to evaluate the mRNA expression levels of the Interleukin-1 Antagonist Receptor gene (IL-1Ra) and (III) to correlate the results with the vaccine and the clinical findings, in detectable and undetectable patients for SARS-CoV-2. A total of 150 samples were collected, among them: 50 samples belonging to vaccinated detectables, 50 non-vaccinated detectables and 50 non- detectables. Sample collection was performed using the nasal-oral swab method, isolated or combined. Then, they were submitted to RT-PCR using the CDC/NCIRD/DVD protocol (N1, N2, N3) for the detection of SARS-CoV-2 and the analysis of the expression of the IL-1Ra gene. The results obtained will be able to provide new perspectives on the levels of IL-1Ra as a tool for the evaluation and prognosis of the patient's clinical condition.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Interleukin-1 Receptor Antagonist.

INTRODUÇÃO

Os coronavírus são pertencentes a uma grande família de vírus RNA fita simples, capazes de infectar tanto seres humanos como animais acometendo o sistema respiratório, digestório e neurológico, causando doenças de caráter agudo e crônico (BENT, 2018).

Até o ano de 2002 os coronavírus não eram considerados como potenciais agentes de enfermidades severas e de epidemias em seres humanos (SECRETARIA DA SAÚDE DO RIO GRANDE DO SUL, 2020). Todavia, entre os anos de 2002 e 2003 a China foi acometida por uma epidemia altamente virulenta chamada de Síndrome Respiratória Aguda Grave causada pelo beta- coronavírus SARS-CoV. Em 2012, a Arábia Saudita foi acometida por uma epidemia semelhante, sendo a Síndrome Respiratória do Oriente Médio causada pelo beta-coronavírus MERS-CoV (CHEN, 2020).

Em 31 de dezembro de 2019, na cidade chinesa de Wuhan, foi identificado o beta-coronavírus SARS-CoV-2, responsável pela doença COVID-19, isto sendo possível através do lavado bronco alveolar de um grupo de pacientes que apresentavam formas não identificáveis de pneumonia viral (COSTA, 2008). O SARS-CoV-2 foi considerado altamente virulento, podendo ser facilmente transmitido entre os seres humanos através de aerossóis e fômites (DIAS, 2020).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou epidemia como emergência de saúde pública de interesse internacional em 30 de janeiro de 2020 (COSTA, 2008). No Brasil, o primeiro caso confirmado da doença COVID-19 foi em 26 de fevereiro de 2020 em São Paulo, enquanto o primeiro óbito foi confirmado somente no dia 17 de março do mesmo ano (DINARELLO, 2000)

O diagnóstico da doença se inicia através de suspeitas clínicas, sendo confirmado somente com testes laboratoriais (EJAZ, 2020)

A Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT- PCR) é o teste considerado como padrão ouro para o diagnóstico da COVID-19, já que permite a detecção do vírus SARS-CoV-2 através da amplificação de sequências conservadas do agente viral em amostras coletadas através de swabs nasais ou orais (isolados ou combinados), amostra de aspirados nasofaríngeo e amostras de secreção respiratória inferior como escarros, lavados traqueais e bronco alveolares (GIOVANETTI, 2020; KERGET, 2020)

Atualmente, o RT-PCR é o teste mais utilizado mundialmente para o diagnóstico da COVID-19, principalmente para pacientes sintomáticos em fase aguda da doença

(entre o terceiro e o sétimo dia de sintomas e sinais clínicos) sejam síndromes gripais ou casos graves (KERGET, 2021). O RT-PCR possui alta especificidade, isto é, próximo de 100%, embora sua sensibilidade varie de acordo com a coleta e o período de desenvolvimento clínico da doença, podendo oscilar entre 63 a 92% (GIOVANETTI, 2020).

Interleucina-1

A Interleucina-1, presente na tempestade de citocinas em pacientes positivados com COVID-19 (KIM, 2021). pertence a uma família em que há 2 agonistas (IL- 1a e IL- 1 β um antagonista competitivo (IL-1Ra), e dois receptores (IL-1RI e IL- 1RII) (KLUEH, 2013). Quando se trata de agonistas, a IL-1a é expressa em diversas células não imunes, e a IL-1 β é expressa tanto em células não imunes quanto em células imunes, de forma rápida em resposta a sinais e estímulos inflamatórios (LANA, 2020).

Como descrito anteriormente, a produção exacerbada de citocinas pode resultar em uma piora do quadro clínico do paciente. Considerando a Interleucina- 1 β , sua resposta à um sinal inflamatório pode ser benéfico na eliminação de infecções (LANA, 2020), todavia, no caso do COVID-19 essa citocina também medeia o pulmão e pode ser encontrada em grande quantidade quando há o desenvolvimento da Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) (KIM, 2021). Sua produção aumentada e descontrolada contribui para a autoimunidade e auto inflamação, e em outras situações crônicas a IL-1 β sustentada pode promover uma indução tumoral e propagação tumoral através de diferentes mecanismos (LANA, 2020).

Regulando a produção da Interleucina-1, em específico a IL-1 β é possível observar a prevenção de uma inflamação descontrolada, destruição de tecidos e fibrose associada a processos inflamatórios agudos e crônicos. Sendo essa regulação permitida através do Receptor Antagonista da Interleucina- (IL-1Ra) (KLUEH, 2013).

Receptor Antagonista da Interleucina-1 (IL-1Ra)

O Receptor Antagonista da Interleucina-1, é uma proteína pertencente à família das interleucinas, sendo descrita como uma molécula secretada por monócitos e macrófagos, que medeiam diversas respostas imunes e inflamatórias relacionadas a IL- 1 e seus agonistas (LIMA, 2020). Este receptor pode ser produzido naturalmente em nosso organismo como um feedback de autorregulação, ou pode ser induzido através de fármacos, sendo o Anakinra, o mais conhecido (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

A presença do IL-1Ra é importante devido sua capacidade de manter a

inflamação mediada por IL-1 sob controle, melhorando os efeitos das doenças inflamatórias (PEDERSEN, 2020).

Os níveis séricos do IL-1Ra foram encontrados em maior quantidade em pacientes que desenvolveram SDRA e, MAS (Sistema de Ativação Macrofágica) do que em pacientes que não desenvolveram. E quando comparado com pacientes que vieram a óbito, os níveis de IL-1Ra foram significativamente maiores do que em pacientes sobreviventes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Através de pesquisas encontradas na literatura, identificou-se que a inibição da IL-1 pode ser benéfica em casos de COVID-19, tendo em vista que a IL-1 β é produzida pelas células AT2 na infecção pelo SARS-CoV-2, possuindo também uma capacidade efetora de controlar a função de neutrófilos e macrófagos (SCHETT, 2020).

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização das Amostras

Foram realizadas coletas de 150 amostras no Hospital das Clínicas de Marília-SP, através de swabs nasais e orais (individuais ou combinados), provenientes de pacientes que estavam entre o segundo e o décimo dia de sinais clínicos e sintomas, apresentando pelo menos três sinais descritos nas requisições de solicitação do exame de RT-PCR para a detecção do SARS-CoV-2, incluindo também ambos os sexos e maiores de 18 anos.

As amostras coletadas foram submetidas a 3 mililitros de solução salina, e mantidos em refrigeração de 4°C a 8°C. O material genético das amostras foi extraído no Laboratório de Extração Viral do HC FAMEMA, e posteriormente analisados no Laboratório de Genética do HC FAMEMA. As amostras que se apresentaram não detectáveis para SARS-CoV-2 em RT-PCR foram encaminhadas ao Instituto Adolf Lutz Central para o diagnóstico diferencial da Influenza por método RT-PCR, respeitando as recomendações do Ministério da Saúde. Já as amostras pertencentes ao grupo de pacientes detectáveis vacinados, são de pacientes e profissionais da saúde, sintomáticos e que apresentaram detecção para o SARS-CoV-2 através do RT-PCR após 13 a 120 dias da segunda dose do protocolo inicial da vacina Coronavac/Sinovac. Essas amostras foram organizadas em três grupos, resultando inicialmente em 150 no total, e durante as análises, foram descartadas 23 amostras devido a falhas durante o RT-PCR. Conforme descrito na Tabela 1, podemos observar a divisão dos grupos e a quantidade de amostras pertencentes a cada um.

Tabela 1 — Organização das amostras em três grupos distintos de acordo com os resultados de RT-PCR:

Grupo	N	Descrição
Detectáveis Vacinados	40	Amostras de pacientes sintomáticos, com sistema de vacinação inicial completo com a CoronaVac/Sinovac para a COVID-19, detectáveis para SARS-CoV-2 em RT-PCR, e negativos em exames laboratoriais para: influenza, arboviroses, tuberculoses, HIV e outras enfermidades infecciosas
Detectáveis Não Vacinados	43	Amostras de pacientes sintomáticos, não vacinados para a COVID-19, detectáveis para o SARS-CoV-2 em RT-PCR, e negativos em exames laboratoriais para: influenza, arboviroses, tuberculoses, HIV e outras enfermidades infecciosas.
Não Detectados	44	Amostras de pacientes sintomáticos, não detectáveis para SARS-CoV-2 em RT-PCR, bem como para: influenza, arboviroses, tuberculoses, HIV e outras enfermidades infecciosas.

Detecção do SARS-CoV-2 por RT-PCR

As amostras de swabs nasal e oral combinadas de pacientes sintomáticos, foram armazenadas seguindo os critérios do CDC (Centro de Controle de Doenças) e do Ministério da Saúde. Após a coleta, as amostras foram homogeneizadas em 3 mL de solução salina e transferidos para dois criotubos, contendo aproximadamente 1,5 mL cada. Dos criotubos citados, um é encaminhado ao biobanco do IAL Central-SP. O outro tubo é utilizado para extração do RNA (aproximadamente 140µl) utilizando o kit de extração de RNA QIAamp Viral RNA — catalog number 52906 (QIAGEN).

Para a realização da técnica de RT-PCR para o diagnóstico da Covid-19, seguiu-se o protocolo do CDC/NCIRD/DVD (N1, N2, N3), utilizando os seguintes reagentes: - 2019-nCoV RUO Kit, 500 rxn — Código 10006713 (IDT - Integrated DNA Technologies) / - 2019-nCoV N Positive Control — Código 10006625 (IDT - Integrated DNA Technologies) e TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix (2X) - Catalog Number 4352042 (Applied Biosystems). E para a realização das reações, foi utilizado o equipamento 7500 Fast Real-Time PCR System — Applied Biosystems.

Análise da expressão gênica por RT-PCR quantitativa em tempo real (qRT-PCR)

Utilizou-se o High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit cat. nº - 4368814 (Applied Biosystems™) para a síntese de cDNA, e após a síntese manteve-se estocado a -20°C.

As amostras serão avaliadas no termociclador automático ABI Prism 7500 Fast Sequence Detection System (Life Technologies/Applied Biosystems) e processadas

pelo sistema de detecção, após um número variável de ciclos em fase exponencial. Os valores obtidos para todas as amostras serão normalizados pela razão obtida entre o gene de interesse e o gene referência de cada amostra, considerando a sua variabilidade de informação.

Para a realização das reações, foi utilizado o sistema TaqMan Gene Expression Assay inventoried (Life Technologies/Applied Biosystems). No presente estudo, utilizou-se: IL-1Ra (target; assay id: Hs00174131 m1) e TBP (target; assay id: Hs01075664 m1). Para o cálculo da quantificação relativa das moléculas de RNA nas amostras, foram utilizados os valores do CI (ciclo Threshold) pela fórmula 2^(-A/CI).

É importante evidenciar que as análises foram realizadas em teste cego, de maneira que os profissionais responsáveis pela técnica não possuíram conhecimento a princípio de quais as fases e gravidades de acometimento da doença para os casos detectáveis.

Análise estatística

As variáveis quantitativas foram descritas pela média e desvio-padrão (DP). As variáveis qualitativas foram descritas pela distribuição de frequência absoluta e relativa (%). Testou-se a distribuição de normalidade pelo teste Kolmogorov-Smirnov. E aplicados os testes do Qui-quadrado, Exato de Fisher, Mann-Whitney e Anova-oneway de acordo com as características de cada grupo e/ou amostra. O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$) e realizou-se a análise dos dados no software SPSS (versão 24.0).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras coletadas, foram segregadas em três grupos após o processo de RT-PCR para a detecção do vírus SARS-CoV-2. Como citado anteriormente, foram coletadas 150 amostras, estas pertencentes a pacientes que apresentavam pelo menos três sinais ou sintomas requeridos para a realização do exame (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição da frequência dos sinais clínicos e sintomas organizados em SG e SRAG nos pacientes dos grupos estudados.

	Sinais Clínicos e Sintomas	DVAC	DNVAC	ND	Total n (%)	p-valor
SG	Febre	11(27,5)	21(48,8)	25(56,8)	57(44,9)	0,021*
	Tosse	29(72,5)	37(86,0)	37(84,1)	103(81,1)	0,238
	Dor de garganta	26(65,0)	24(55,58)	11(25,0)	61(48,0)	0,001*
	Fadiga e fraqueza	0(0,0)	16(37,2)	11(25,0)	27(21,3)	p<0,001*
	Perda de Olfato	0(0,0)	5(11,6)	3(6,8)	8(6,3)	0,092
	Perda de Paladar	10(25,0)	4(9,5)	2(4,5)	16(12,7)	0,014*
	Mialgia	18(45,0)	17(39,5)	3(6,8)	38(29,9)	p<0,001*
	Cefaleia	18(45,0)	10(23,3)	1(2,3)	29(22,8)	p<0,001*
	Coriza	27(67,5)	17(39,5)	2(4,5)	46(36,2)	p<0,001*
	Calafrios	9(22,5)	0(0,0)	0(0,0)	9(7,1)	p<0,001*
	Cogestão Conjuntival	20(50,0)	3(7,0)	0(0,0)	81,1(23)	p<0,001*
	Diarreia	6(15,0)	7(16,3)	8(18,2)	21(16,5)	0,925
	Náusea e vômito	1(2,5)	2(4,7)	7(15,9)	10(7,9)	0,084
	Dor abdominal	0(0,0)	2(4,7)	9(20,5)	11(8,7)	0,002*
	Dispneia	3(7,5)	16(37,2)	37(84,1)	56(44,1)	p<0,001*
	SRAG	Saturação <95%	2(5,0)	16(37,2)	35(79,5)	53(41,7)

SG — Síndrome Gripal; SRAG — Síndrome Respiratória Aguda Grave; N — Não; S- Sim; DVAC — Detectável Vacinado; DNVAC- Detectável N Vacinado; ND- Não Detectável; n- total. Valores ausentes foram omitidos. *Indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos pelo Teste de Welch para pvalor 0,05.

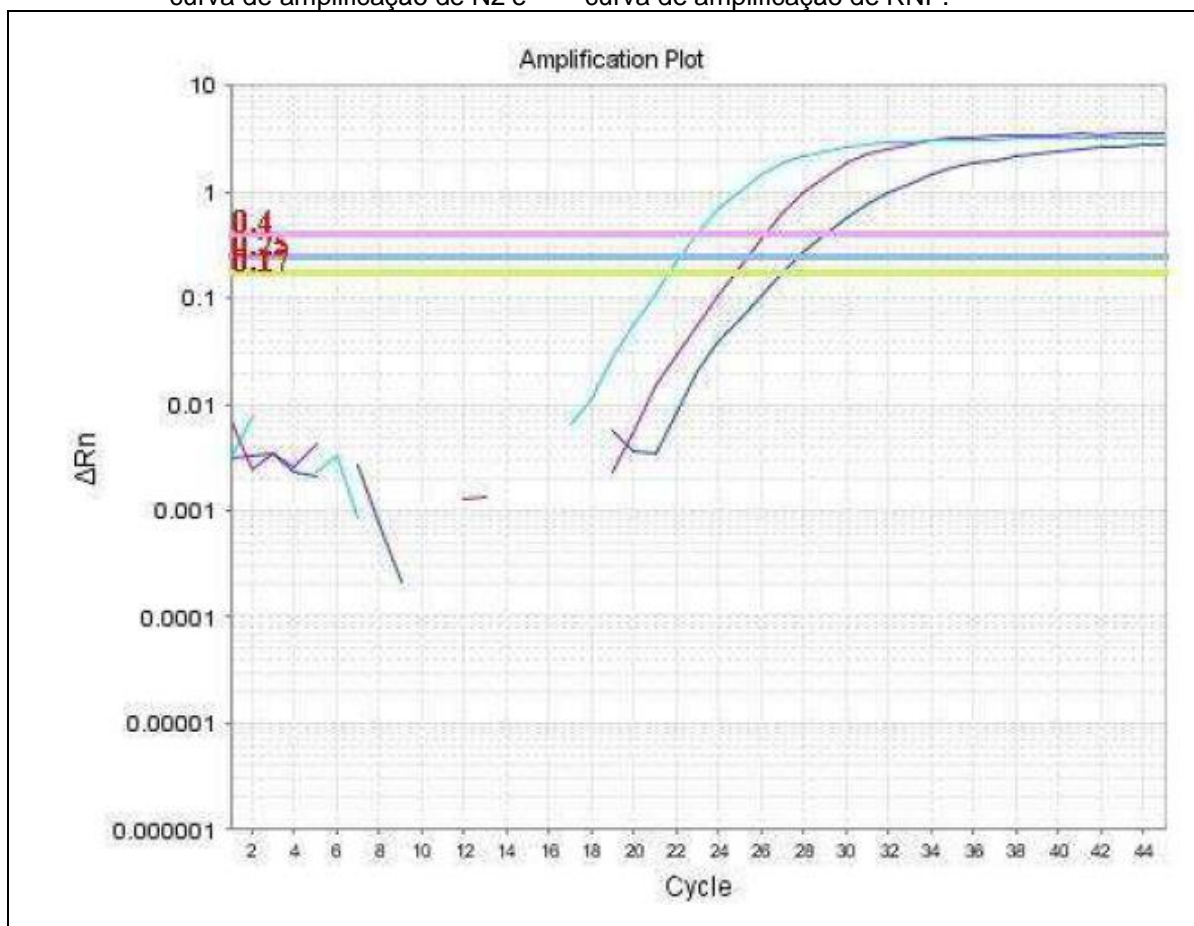
Sabemos também, que pacientes diagnosticados com COVID-19 e que possuem comorbidades, como: diabetes, obesidade, câncer, asma etc., podem desenvolver piora do quadro clínico (SOUZA, 2020). Neste projeto, descritos na Tabela 3, a frequência de comorbidades encontradas.

Tabela 3 — Descrição da frequência de comorbidades e agravos de saúde nos pacientes dos grupos estudados.

Sinais clínicos e sintomas	DVAC	DNVAC	ND	p-valor
Tabagista	0(0,0)	1(2,3)	0(0,0)	0,374
Doença neurológica crônica	0,0%	0,0%	3(6,8)	0,05
Diabetes	0,0%	7(16,3)	5(11,4)	0,035*
Imunodeficiência	1(2,5)	0(0,0)	2(4,5)	0,377
Doença Cardiovascular Crônica	0(0,0)	8(18,6)	21(47,7)	p<0,001*
Doença Renal Crônica	0(0,0)	0(0,0)	4(9,1)	0,02*
Câncer	0(0,0)	0(0,0)	2(4,5)	0,02*
Asma/pneumopatia	2(5)	4(9,3)	10(22,7)	0,036*

Para a separação e validação das amostras, foram submetidas, primeiramente, à técnica de RT-PCR para a detecção do vírus SARS-CoV-2, como representado na Figura 1.

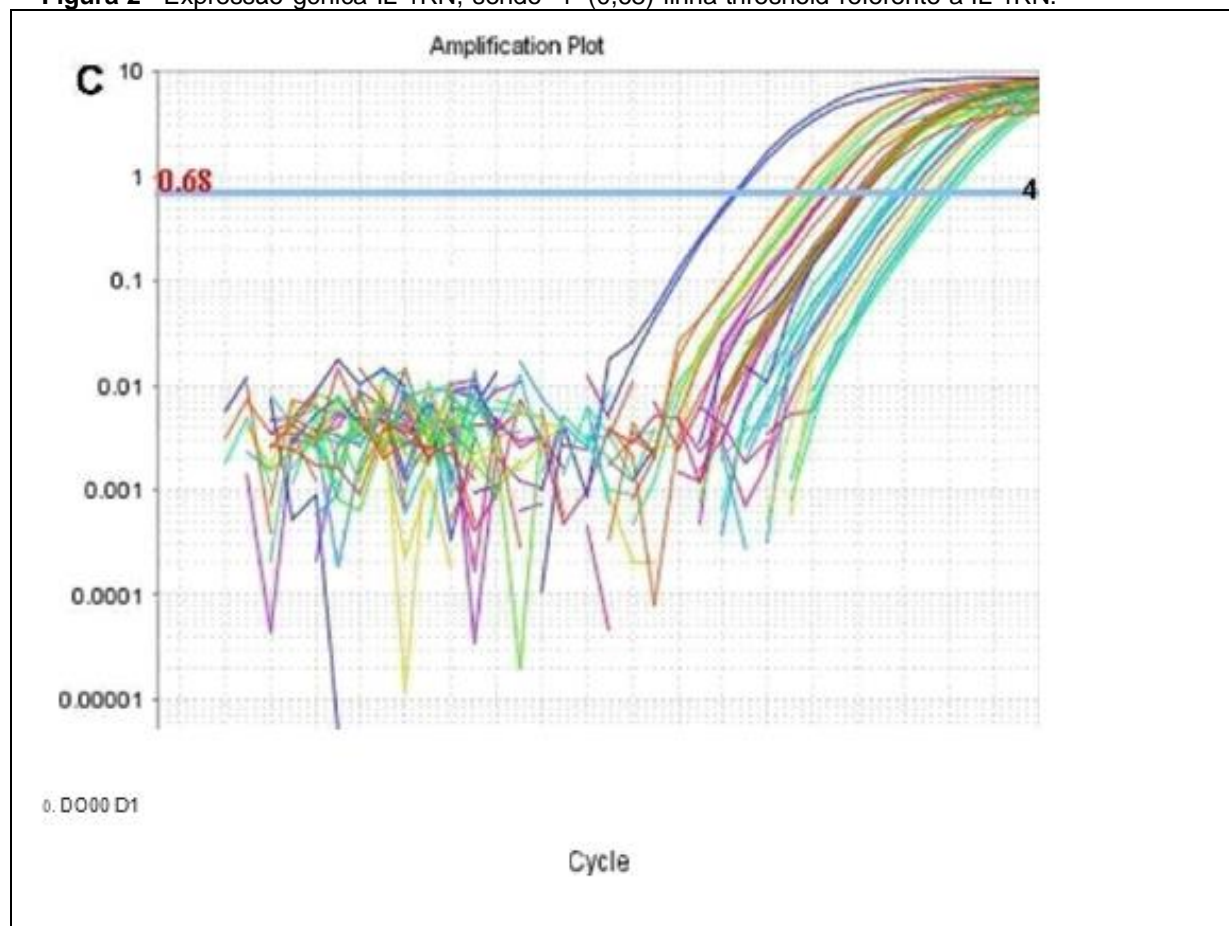
Figura 1 - Amplificação em RT-PCR de uma amostra detectável para SARS-CoV-2. O limiar threshold da linha 1 (0,25) refere-se ao alvo N1, 2 (0,17) refere-se ao N2 e o 3 (0,4) refere-se ao RNP (RNase P). Além disso, "*" indica a curva de amplificação do alvo N1, * curva de amplificação de N2 e "****" curva de amplificação de RNP.



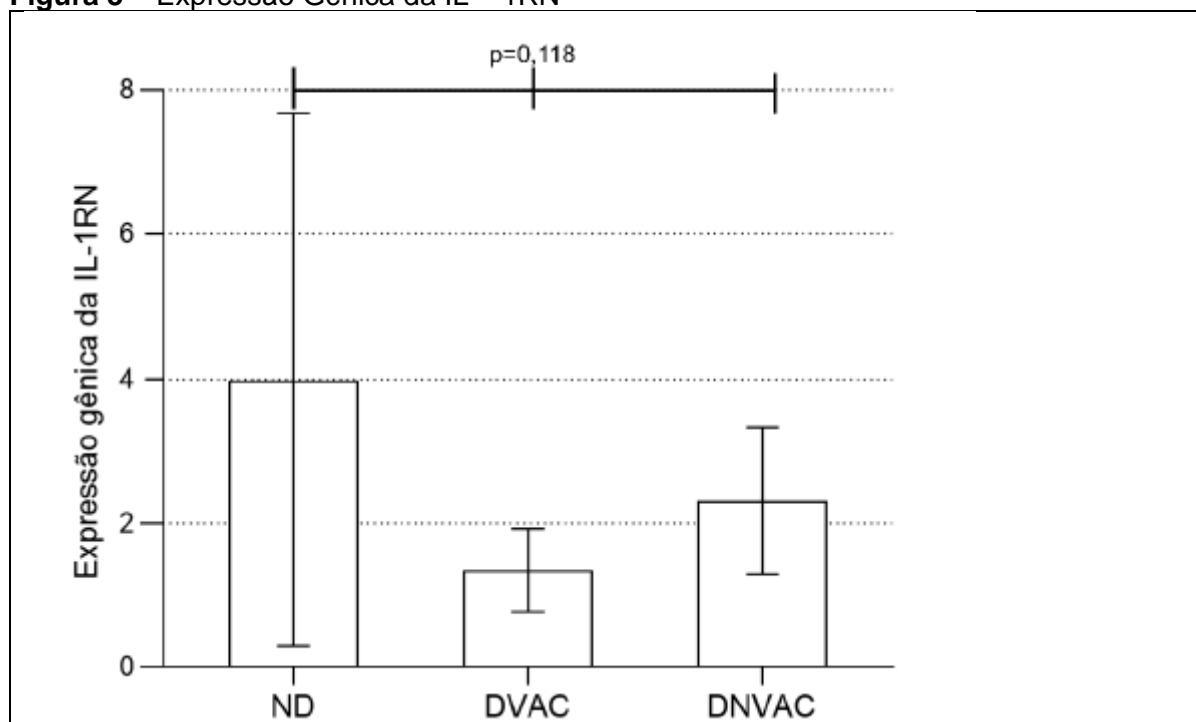
Após este processo as amostras foram catalogadas e divididas em três grupos: Detectáveis Vacinados (DVAC) = 40; Detectáveis Não Vacinados (DNVAC) = 43; Não Detectáveis (ND) = 44.

Em seguida, através do método de RT-PCR, as amostras foram encaminhadas para a identificação e análise da expressão gênica do receptor antagonista da interleucina 1 (IL-1RA), exemplo representado na Figura 2.

Figura 2 - Expressão gênica IL-1RN, sendo “4” (0,68) linha threshold referente a IL-1RN.



Com base na análise das 127 amostras, não foi encontrado diferença estatisticamente significativa na expressão gênica do IL-1RA entre outros grupos estudados ($p=0,118$) comparando-se os grupos DVAC (média RQ=1,3441), DNVAC (média RQ=2,3079) e ND (RQ=3,9863) (Figura 3).

Figura 3 – Expressão Gênica da IL – 1RN

Fonte: Elaborado pela autora

Similar aos resultados anteriores, o grupo DVAC apresentou uma menor expressão gênica da IL-1RN, embora sem diferença estatística, resultado que pode sugerir uma possível influência da vacinação contra a COVID-19 CORONAVAC/SINOVAC na redução da expressão desta interleucina.

Com base nos dados encontrados em outros estudos, presumimos que pacientes que se encontram em estado grave da COVID-19 encontrem-se com hiper inflamação sistêmica, apresentando aumento na produção de diversas citocinas pró-inflamatórias, entretanto, é importante relatar que assim como neste estudo algumas citocinas não se encontraram com elevação dos níveis séricos de forma significativa.

Kerget *et al* (2021), relataM que os níveis séricos de alfa defensina e IL-1Ra foram significativamente maiores em pacientes com COVID-19 com e sem Síndrome de Ativação Macrofágica (MAS) e Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA).

A hiper inflamação sistêmica parece ser um aspecto relevante na COVID-19, entretanto o nível de expressão das diversas citocinas que orquestram o processo inflamatório é controverso na literatura.

Huang *et al.* (2020) mensurou a concentração plasmática de diversas citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL1-RA/RN, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8,

IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, entre outras, verificando elevação das concentrações plasmáticas de IL-1 β , IL-1RA/RN, IL-8, IL-9 e IL-10 em pacientes com COVID-19 em relação aos adultos saudáveis. No mesmo estudo, ao compararem as concentrações plasmáticas das interleucinas avaliadas entre os pacientes com COVID-19 que necessitaram de UTI ou não, verificou-se aumento significativo da IL-2, IL-7, IL-10 e TNF-a nos pacientes em cuidados intensivos em UTI, não ocorrendo elevação das IL-1 β , IL-1RN e IL-8 de forma considerável.

Tang *et al.* (2020) abordou que em pesquisas anteriores os níveis séricos dos fatores pró-inflamatórios IFN- γ , IL1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IP-10, MCP-1 e CCL2 (CC quimiocina ligante-2), CXCL-10 e IL -8 estão relacionados com inflamações pulmonares e lesão externa do tecido pulmonar em pacientes com SARS.

Ademais, a gravidade da doença tem sido associada as concentrações plasmáticas elevadas de IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IP-10 e MCP-1, bem como com o período de início de sintomas e sinais clínicos e análise destas citocinas.

CONCLUSÕES

Desde o surgimento da infecção por um novo patógeno viral, identificado como SARS-CoV-2, estudos e pesquisas passaram a procurar uma compreensão para o agravamento do quadro clínico de pacientes com ou sem comorbidades, e sua capacidade de levar esses pacientes ao óbito. A partir de então, novos olhares para a tempestade de citocinas foram realizados para analisar quais citocinas pró-inflamatórias estavam em destaque.

Dentre as citocinas mais frequentes e relevantes (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL- 10, IL-18 e outras), a IL-1 β e seu receptor antagonista (IL-1Ra) são as de grande interesse deste estudo, principalmente devido sua capacidade de destruir tecidos e causar fibrose associada a processos inflamatórios agudos e crônicos quando produzida de forma exacerbada, além de que, pode ser encontrada em quantidade elevada em casos de SDRA. Com base nisso, subentende-se que o controle desta citocina diminuirá a progressão de danos e agravamento clínico.

Contudo, com os resultados obtidos, observamos que não houve uma elevação na expressão genica do IL-1Ra em grupos Detectáveis Vacinados, nos levantando hipótese de interferência positiva devido a vacinação, que em estudos analisados na literatura não abordam este fator.

REFERÊNCIAS

- BENT, Rebbeka *et al.* **Interleucina-1 Beta-Um amigo ou inimigo em doenças malignas?** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6121377/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- BRASIL. Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul. **Orientações para coleta e transporte de secreção respiratória.** Porto Alegre (RS): Centro Estadual de Vigilância em Saúde - Laboratório Central de Saúde Pública. Disponível em: <<https://atencaobasica.saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202002/04110353-2020orientacoes-coleta-amostra-coronavirus-janeiro.pdf>>. Acesso em 03 abr. 2022.
- CHEN Y, LIU Q, GUO D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. **J Medical Virology**. v. 92, n. 4, p. 418-423. DOI: 10.1002/jmv.25681. 2022
- COSTA, D. R, MENDONÇA, A. V., LYON S., PENIDO, A. R., *et al.* Avaliação da expressão da interleucina 1 beta (IL-1 β) e antagonista do receptor de interleucina 1 (IL-1Ra) em pacientes com hanseníase. **Scielo**. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/ZNnbdSJqrDYzmLPMTpg6VDq/?lang=pt#>>. Acesso em 2 abr. 2022.
- DIAS, VMCH; CARNEIRO, M.; VIDAL, CFL; CORRADI, MFDB, *et al.* **Orientações sobre Diagnóstico, Tratamento e Isolamento de Pacientes com COVID-19.** Disponível em: <<https://infectologia.org.br/wp-content/uploads/2020/07/orientacoes-sobre-diagnosticotratamento-e-isolamento-de-pacientes-com-covid-19.pdf>>. Acesso em: 2. abr. 2022.
- DINARELLO A, CHARLES. **The Role Interleukin-1-Receptor Antagonist in Blocking Inflammation Mediated by Interleukin-1.** Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM2000090734310>>. Acesso em 2 abr. 2022.
- EJAZ H, ALSRHANI A, ZAFFAR A, *et al.* **COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7402107/>>. Acesso em: 05. set. 2022.
- GIOVANETTI M. *et al.* Evolution patterns of SARS-CoV-2: Snapshot on its genome variants. **Biochemical and biophysical research communications**. v. 538, p. 88-91, 2021.
- KERGET B, KERGET F, AKSAKAL A. *et al.* **Evaluation of alpha defensin, IL-1 receptor antagonist, and IL-18 levels in COVID-19 patients with macrophage activation syndrome and acute respiratory distress syndrome.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7675303/>>. Acesso em: 05. set. 2022.
- KERGET, Bugra *et al.* **Avaliação dos níveis de alfa defensina, antagonista do receptor de IL-1 e IL-18 em pacientes com COVID-19 com síndrome de ativação de macrófagos e síndrome do desconforto respiratório agudo.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7675303/>>. Acesso em: 12. abr.

2022.

KIM JS, LEE JY, YANG JW, et al. **Imunopatogênese e tratamento da tempestade de citocinas no COVID-19**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7681075/>>. Acesso em: 12. abr. 2022.

KLUEH, ULRIKE et al. Papel da família de citocinas antagonistas do receptor de interleucina-1/interleucina-1 no monitoramento contínuo de glicose a longo prazo in vivo. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3876332/>>. Acesso em: 12. abr. 2022.

LANA RM, et al. Emergência do novo coronavírus (SARS-COV-2) e o papel de uma vigilância nacional em saúde oportuna e efetiva. **SciELO**. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/csp/v36n3/1678-4464-csp-36-03-e00019620.pdf>>. Acesso em 31 mar. 2022.

LIMA CMAO. Informações sobre o novo coronavírus (COVID-19). **Radiol Brasl**. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-39842020000200001&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 31. mar. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Orientações para o manejo de pacientes com COVID-19. Ministério da Saúde Coronavírus Covid-19**. Disponível em: <<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/June/18/Covid19-Orientac--oesManejoPacientes.pdf>>. Acesso em 31. Mar. 2022.

PEDERSEN SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. **The Journal of Clinical Investigation**. Disponível em: <<https://www.jci.org/articles/view/137647>>. Acesso em: 31. mar. 2022

SCHETT G, MANGER B, SIMON D, CAPORALI R. **COVID-19** revisitando vias inflamatórias da artrite. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7304381/>>. Acesso em 02 abr. 2022.

SOUZA CDF, PAIVA JPS, LEAL TC, SILVA LF, SANTOS LG. Evolução espaço temporal da letalidade por COVID-19 no Brasil, 2020. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v46n4/pt1806-3713-jbpneu-46-04-e20200208.pdf>>. Acesso em: 31. mar. 2022.

TANG L, YIN Z, HU Y, et al. **Controlling Cytokine Storm Is Vital in COVID-19**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7734084/>>. Acesso em: 05. set. 2022.

VARELLA P, FORTE W. Citokines: a review. **Rev bras alergologia imunopatol**. V. 4:, p. 46-55, 2001.

WU D, WU T, LIU Q, YANG Z. The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. **International Journal of Infectious Diseases**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971220301235>>. Acesso em: 31 mar. 2022.

ZHONG NS, ZHENG BJ, LI YM, POON, XIE ZH, CHAN KH, LI PH, TAN SY, CHANG Q, XIE JP, LIU XQ, XU J, LI DX, YUEN KY, PEIRIS, GUAN Y. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's

Republic of China, in February, 2003. **Lancet.**, v. 362(9393), p. 1353-1358. DOI:
10.1016 / s0140-6736 (03) 14630-2. 2003