

Identificação de vias de sinalização imunossupressoras associada à infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais nasofaríngeas de pacientes do sexo masculino e feminino

André Luiz Caliar Costa

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Genética (PGGEN)

André Luiz Caliar Costa

Identificação de vias de sinalização imunossupressoras associada à infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais nasofaríngeas de pacientes do sexo masculino e feminino

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP-USP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Genética). *EXEMPLAR DE DEFESA*

Área de Concentração: Ciências Biológicas I (Genética)

Orientador: Prof. Dr. Jeremy Andrew Squire

USP – Ribeirão Preto
Outubro de 2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica

Costa, André Luiz Caliarí

Identificação de vias de sinalização imunossupressoras associada à infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais nasofaríngeas de pacientes do sexo masculino e feminino.

Ribeirão Preto, 2023

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) – Área de concentração: Ciências Biológicas (Genética)

Orientador: Prof. Dr. Jeremy Andrew Squire

1. COVID-19; 2. Câncer; 3. Sistema Imune; 4. Bioinformática.

André Luiz Caliarri Costa

Identificação de vias de sinalização imunossupressoras associada à infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais nasofaríngeas de pacientes do sexo masculino e feminino

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP-USP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Genética).
EXEMPLAR DE DEFESA

Parecer _____, Ribeirão Preto – SP, de de 2023:

Jeremy Andrew Squire
Orientador

Professor
Convidado 1

Professor
Convidado 2

Ribeirão Preto – SP

André Luiz Caliar Costa

Identification of immunosuppressive signaling pathways
associated with SARS-CoV-2 infection of nasopharyngeal
epithelial cells in male and female patients

Master dissertation submitted to the Post-Graduate
Program in Genetics of the Medicine School of
Ribeirão Preto - University of São Paulo – FMRP-
USP, in partial fulfillment of the requirements for the
degree of the Master Biological Sciences (Genetics).
EXAMINATION BOARD PRESENTATION COPY

Concentration Area: Biological Sciences I (Genetics)

Advisor: Prof. Dr. Jeremy Andrew Squire

USP – Ribeirão Preto
October 2023

Dedico a Deus, que me deu forças e guiou os meus passos para seguir adiante.

Dedico este trabalho à minha família, em especial ao meu filho Pedro, que já desde jovem sonha em poder tornar o mundo um pouco melhor.

Dedico ao heróis que lutaram na linha de frente no combate a pandemia da COVID-19 no Brasil. E as famílias que sofreram alguma perda, que as mais de 700 mil vítimas brasileiras jamais sejam esquecidas.

AGRADECIMENTOS

Em Especial, agradeço à Deus, por me permitir realizar esse sonho e me dar forças diariamente para superar todos os obstáculos.

Em Especial, agradeço Prof. Dr. Jeremy Andrew Squire, por toda orientação, e disponibilidade durante todas as etapas do meu mestrado; pela sua ética, respeito e esforço, paciência e compreensão em ensinar, por acreditar em minha capacidade e por me colocar na direção correta. Não há palavras que possam descrever minha eterna gratidão!

Agradeço imensamente meus pais, Adoir e Vera e a minha irmã Ana por sempre me apoiarem a vencer os desafios que surgem durante a vida, por sempre me incentivarem e torcerem pela minha vitória. Agradeço também a todos os meus familiares que oraram e me apoiaram de alguma forma. A vocês, minha eterna gratidão, respeito e admiração.

Ao meu filho Pedro que me oferece uma dose diária de energia e coragem, e que me resgata das horas demasiadas de frente ao computador. Obrigado por me trazer a felicidade todos os dias.

Aos meus colegas do laboratório "remoto", por todos os conhecimentos compartilhados durante todo esse processo, pelas críticas construtivas do meu projeto, pelo apoio nos momentos mais difíceis e pelos raros momentos presenciais aos quais vocês o tornaram inesquecíveis.

Em Especial a Dra. Camila Morais Melo que desde o início deste projeto tem me apoiado e tentando me mostrar os caminhos menos árduos no desenvolvimento de uma pesquisa e por toda sua compreensão nos meus momentos difíceis. Por último e não menos importante ao William Lautert Dutra que não tem medido esforços para me ajudar a concluir esse projeto, ao qual tem me direcionado constantemente para os pontos mais importantes a serem superados nas etapas finais deste trabalho. O meu muito obrigado!

Agradeço ao meu colega Reginaldo José da Silva da UNESP de Ilha Solteira pelas conversas produtivas, pela disponibilidade e prontidão em todos os momentos que precisei de seus auxílios em aprendizado de máquina, estatística e redação em LaTeX. Obrigado pela sua honestidade e confiança nas colaborações acadêmicas.

À Prof.^a Dra. Angela Leite Moreno, da Universidade Federal de Alfenas, pelos conselhos pessoais e profissionais, incentivos, e pelas colaborações em trabalhos acadêmicos no campo de aprendizado de máquina e bioinformática.

Agradeço ao Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética pela infraestrutura e assistência. De

forma especial, agradeço à Susie Nalon, por estar sempre de prontidão e paciente no atendimento de minhas dúvidas.

Agradeço a todos professores e colegas do Departamento de Genética, que contribuíram para minha formação, que perseveraram durante as aulas ministradas remotamente num momento tão delicado e difícil do nosso país, da nossa ciência e da nossa saúde.

Agradeço Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo apoio financeiro.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente me incentivaram a chegar até aqui, a todos vocês o meu respeito, carinho e gratidão.

RESUMO

CALIARI, A. L. **Identificação de vias de sinalização imunossupressoras associada à infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais nasofaríngeas de pacientes do sexo masculino e feminino.** 2023. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Genética)) – Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2023.

Existe uma interação complexa entre as respostas imunes inatas e adaptativas ao SARS-CoV-2. O impacto dos hormônios sexuais na função imunológica e os papéis dos diferentes tipos de células epiteliais na mediação das respostas imunes são pouco compreendidos. O objetivo geral deste estudo é fornecer informações mais detalhadas sobre o papel do epitélio nasal na COVID-19 masculina e feminina e explorar possíveis influências genéticas na resposta imune usando dados de domínio público atualmente disponíveis. O objetivo é identificar quaisquer diferenças relacionadas ao gênero na expressão gênica e na resposta imune local induzida pelo SARS-CoV-2 no epitélio nasal. Através da análise dos agrupamentos celulares do epitélio nasofaríngeo, estabelecemos a composição celular geral para pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19. Pacientes do sexo masculino exibiram 17 grupos de células, enquanto as pacientes do sexo feminino tiveram 18, que incluíam células epiteliais imunes e nasais, bem como suas identidades imunológicas. Havia um aglomerado único de eritroblastos exclusivo de pacientes do sexo feminino. Ao avaliar a abundância de células imunológicas em casos graves de COVID-19 versus controles, as mulheres com COVID-19 apresentaram diminuição de células B, células T e células dendríticas, mas aumento de macrófagos e células dendríticas plasmocitoides em comparação com mulheres controle. Embora estas diferenças não tenham alcançado significância estatística, sugerem uma resposta imunitária potencialmente menos robusta em casos graves do sexo feminino. Em contraste, os pacientes do sexo masculino com COVID-19 exibiram um aumento no número de células imunológicas em comparação com os controles, incluindo tipos de células anteriormente ausentes. No entanto, a análise estatística não revelou diferenças significativas, sugerindo que a gravidade dos sintomas da COVID-19 pode não afetar substancialmente a composição das células imunes epiteliais nasais dos pacientes do sexo masculino. Uma análise comparativa entre pacientes masculinos e femininos com COVID-19 não revelou diferenças significativas, indicando perfis imunocelulares semelhantes no epitélio nasal. Isto sugere que a composição das células imunológicas nas vias aéreas superiores pode não impactar significativamente a gravidade dos sintomas da COVID-19 entre os sexos. Estas descobertas sugerem colectivamente que factores genéticos individuais têm maior probabilidade de moldar a resposta imunitária em pacientes do sexo masculino e feminino, independentemente de quaisquer diferenças no conteúdo das células imunitárias associadas à gravidade dos sintomas da COVID-19. Estas descobertas destacam a complexidade da resposta imune à COVID-19 e enfatizam o envolvimento de fatores não relacionados ao gênero no compartimento imunológico do trato respiratório superior e nas respostas celulares durante a

progressão da doença. A análise transcriptômica revelou padrões distintos de expressão gênica entre pacientes do sexo masculino com COVID-19 grave (OMS 6-8) e seus controles masculinos negativos para COVID-19 (OMS 0), com 456 genes regulados negativamente e 1965 regulados positivamente. Descobrimos que pacientes do sexo masculino exibiram uma superexpressão de genes pró-inflamatórios como IL-6, IFNG, TNF-alfa, IL-8 e SAA1, contribuindo potencialmente para um estado inflamatório aumentado. Por outro lado, mulheres com COVID-19 grave apresentaram expressão gênica diferencial, incluindo genes associados à resposta imune, como genes da família S100, IFI35, NFKBIA e genes do complexo de histocompatibilidade. A análise de enriquecimento do conjunto de genes destacou vias inflamatórias mediadas por citocinas em mulheres, enquanto os homens exibiram uma via de resposta inflamatória mais pronunciada, influenciando potencialmente a gravidade dos sintomas dependentes do gênero. Ambos os sexos com COVID-19 grave apresentaram ativação de vias biológicas ligadas ao desenvolvimento do câncer, sugerindo a importância de monitorizar o risco de câncer em pacientes recuperados. É possível que a modulação androgênica nos homens e as respostas hormonais nas mulheres também possam contribuir para essas diferenças. A relação entre COVID-19 grave e câncer requer uma investigação mais aprofundada.

Palavras-chave: COVID-19, Câncer, Sistema Imune, Bioinformática.

ABSTRACT

CALIARI, A. L. **Identification of immunosuppressive signaling pathways associated with SARS-CoV-2 infection of nasopharyngeal epithelial cells in male and female patients.** 2023. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Genética)) – Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2023.

There is a complex interplay between the innate and adaptive immune responses to SARS-CoV-2. The impact of sex hormones on immune function, and the roles of different epithelial cell types in mediating immune responses is poorly understood. The overall goal of this study is to provide more detailed information on the role of the nasal epithelium in male and female COVID-19 and to explore potential genetic influences on immune response using currently available public domain data. The aim is to identify any gender-related differences in gene expression and the local immune response induced by SARS-CoV-2 in nasal epithelium. Through analyzing the nasopharyngeal epithelium's cell groupings, we established the overall cell composition for male and female patients with COVID-19. Male patients exhibited 17 cell groups, while female patients had 18, which included immune and nasal epithelial cells, as well as their immunological identities. There was a unique cluster of erythroblasts that was exclusive to female patients. When assessing immune cell abundances in severe COVID-19 cases versus controls, females with COVID-19 showed decreased B cells, T cells, and dendritic cells but increased macrophages and plasmacytoid dendritic cells compared to control females. While these differences did not reach statistical significance, they suggest a potentially less robust immune response in severe female cases. In contrast, male COVID-19 patients exhibited an increase in immune cell numbers compared to controls, including previously absent cell types. However, statistical analysis did not reveal significant differences, suggesting that the severity of COVID-19 symptoms may not substantially affect male patients' nasal epithelial immune cell composition. A comparative analysis between male and female COVID-19 patients revealed no significant differences, indicating similar immune cellular profiles in the nasal epithelium. This suggests that the composition of immune cells in the upper airway may not significantly impact COVID-19 symptom severity across genders. These findings collectively suggest that individual genetic factors are more likely to shape the immune response in both male and female patients, irrespective of any differences in immune cell content associated with COVID-19 symptom severity. These findings highlight the complexity of the immune response to COVID-19 and emphasizes the involvement of factors unrelated to gender in upper respiratory tract immune compartment and cellular responses during the disease's progression. Transcriptomic analysis revealed distinct gene expression patterns between male patients with severe COVID-19 (WHO 6-8) and their COVID-19-negative male controls (WHO 0), with 456 down-regulated and 1965 up-regulated genes. We found that male patients exhibited an overexpression of pro-inflammatory genes like IL-6, IFNG, TNF-alpha, IL-8, and SAA1, potentially contributing to an

enhanced inflammatory state. Conversely, females with severe COVID-19 displayed differential gene expression, including genes associated with the immune response, such as S100 family genes, IFI35, NFKBIA, and histocompatibility complex genes. Gene set enrichment analysis highlighted cytokine-mediated inflammatory pathways in females, while males exhibited a more pronounced inflammatory response pathway, potentially influencing gender-dependent symptom severity. Both sexes with severe COVID-19 displayed activation of biological pathways linked to cancer development, suggesting the importance of monitoring cancer risk in recovered patients. It is possible that androgen modulation in males and hormone responses in females, may also contribute to these differences. The relationship between severe COVID-19 and cancer warrants further investigation.

Keywords: COVID-19, Cancer, Immune System, Bioinformatics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura molecular do SARS-CoV-2. (A) Microscopia crioeletrônica virions de SARS-CoV-2. (B) Estrutura esquemática da estrutura do SARS-CoV-2, apresentando suas proteínas estruturais S, M, E e seu RNA envelopado pela proteína N. Fonte: Adaptado de (YAO <i>et al.</i> , 2020; KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020)	21
Figura 2 – (A) Esquema estrutural e organização das unidades de transcrição do genoma do SARS-CoV2. (B) Representação esquemática dos domínios funcionais ORF1a e ORF1b. Fonte: Adaptado de (KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020)	22
Figura 3 – Fluxograma de pré-processamento e análise para dados de sequenciamento de células únicas utilizado neste trabalho.	40
Figura 4 – Agrupamento UMAP de células epiteliais da nasofaringe derivadas do sequenciamento de células únicas scRNA-seq de pacientes do gênero masculino e feminino.	44
Figura 5 – Abundância global de células do epitélio nasofaríngeo de pacientes do gênero feminino nos grupos controle e severo para COVID-19.	45
Figura 6 – Diferenças na diversidade de células imunes entre pacientes mulheres controle e mulheres diagnosticadas com COVID-19 severo. As chaves entre as Barras mostra as comparações do teste de significância estatística para os grupos de células imunes concordantes entre os grupos testados e apresentam os resultados do teste Mann-Whitney. (ns $p > 0,05$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)	46
Figura 7 – Abundância global de células do epitélio nasofaríngeo de pacientes do gênero masculino nos grupos controle e severo para COVID-19	47
Figura 8 – Diferenças na diversidade de células imunes entre pacientes masculinos controle e masculinos diagnosticadas com COVID-19 severo. As chaves entre as Barras mostra as comparações do teste de significância estatística para os grupos de células imunes concordantes entre os grupos testados e apresentam os resultados do teste Mann-Whitney. (ns $p > 0,05$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)	48
Figura 9 – Diferenças na diversidade de células imunes entre pacientes mulheres diagnosticadas com COVID-19 severo e homens diagnosticadas com COVID-19 severo.	49

Figura 10 – Gráfico de vulcão referente a análise de expressão diferencial de genes em pacientes masculino e feminino diagnosticados com COVID-19 severo (OMS 6-8).	50
Figura 11 – Enriquecimento de vias dos DEgs homens e mulheres severos.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação da OMS para a gravidade das infecções causadas pela COVID-19 em pacientes masculinos e feminino. Os números indicam a quantidade de pacientes do gênero masculino e feminino em cada grupo sintomáticos na classificação da OMS presente na corte de estudo. Adaptado de Ziegler et al. (2021). 39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Visão Geral da Pandemia da COVID-19	18
1.2	O Vírus: Virologia e Histórico	19
1.3	Morfologia, Estrutura Genética e Replicação	20
1.4	Características e Manifestações Clínicas	23
1.5	Fatores de Risco	24
1.6	Resposta Imune do SARS-CoV-2	26
1.6.1	<i>Resposta Imune Inata ao SARS-CoV-2</i>	27
1.6.2	<i>Resposta Imune Adaptativa ao SARS-CoV-2</i>	29
1.6.3	<i>Diferenças nas Respostas Imunológicas Entre os Gêneros</i>	31
1.6.4	<i>Transcriptômica de célula única (scRNA-seq) em células epiteliais de próstata, pulmão e nasofaringe</i>	32
2	OBJETIVOS	35
2.1	Objetivo Geral	35
2.2	Objetivo Específico	35
3	MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1	Banco de dados de scRNA-seq	37
3.1.1	<i>Crítérios para escolha dos dados</i>	37
3.2	Coorte de Estudo	38
3.2.1	<i>Obtenção das Matrizes de Expressão de Genes</i>	39
3.2.2	<i>Clusterização, Anotação de Células e Expressão Diferencial</i>	39
3.2.2.1	<i>Clusterização e Anotação de Células</i>	40
3.2.2.2	<i>Expressão diferencial de genes</i>	41
3.2.2.3	<i>Enriquecimento de Conjunto de Genes</i>	42
4	RESULTADOS DISCUSSÃO	43
4.1	Composição Celular do Epitélio Nasal Masculino e Feminino	43
4.1.1	<i>Análise transcriptômica e enriquecimento de genes</i>	49
5	DISCUSSÃO	53
6	CONCLUSÃO	57

REFERÊNCIAS 59

INTRODUÇÃO

Uma vasta literatura sobre COVID-19 (*Corona Virus Disease 2019*) foi gerada em pouco tempo, deixando um potencial para espaços no conhecimento e entendimento sobre sua imunopatologia. Com o objetivo de de fornecer uma análise focada em evidências dos processos imunomoduladores, esta Dissertação traz novas evidências e discute progressos feitos até agora.

O Capítulo 1 trás informações da COVID-19, primeira pandemia documentada da história, e a quinta após a pandemia da gripe de 1918, tendo como seu agente precursor o vírus SARS-CoV-2 descoberto inicialmente na cidade Wuhan, na China, e infecta principalmente Humanos.

1.1 Visão Geral da Pandemia da COVID-19

A COVID-19 é uma doença respiratória causada pelo vírus SARS-CoV-2, detectado pela primeira vez no final de Dezembro de 2019, quando as autoridades locais de saúde da China, relataram pacientes com casos de pneumonia por causas desconhecidas, que estariam epidemiologicamente ligados a um mercado de frutos do mar e animais na cidade Wuhan, província de Hubei, China (GRALINSKI; MENACHERY, 2020). Inicialmente a Organização Mundial da Saúde (OMS), juntamente em colaboração com o centro de controle de prevenção de doenças (CDC-China) realizaram um primeiro estudo epidemiológico e de investigação etiológica sobre o agente causador da pneumonia, o vírus identificado foi isolado e inicialmente denominado 2019-nCoV em 12 de janeiro de 2020, e posteriormente oficializado como COVID-19 no dia 12 de fevereiro de 2020 (ZHU *et al.*, 2020).

O novo vírus causador da COVID-19, teve seu genoma sequenciado e o Comitê Internacional de Taxonomia de vírus (ICTV) designou oficialmente o nome do vírus como SARS-CoV-2 com base na filogenia, taxonomia e prática estabelecida (GORBALENYA *et al.*, 2020). SARS-CoV-2 é estruturalmente semelhante ao vírus que causou a síndrome respiratória aguda grave

(SARS-CoV) no ano 2003, e ao MERS-CoV que causou síndrome respiratória do oriente médio no ano de 2012 (FAUCI; LANE; REDFIELD, 2020).

Diferentemente das epidemias e pandemias anteriores de coronavírus, o SARS-CoV-2 se espalhou rapidamente para outros países do mundo como uma ameaça a saúde global, levando a Organização Mundial da Saúde a emitir um alerta oficial de pandemia em 11 de março de 2020 (CARVALHO; KRAMMER; IWASAKI, 2021). Em 05 de maio de 2023 a OMS declarou o fim da COVID-19 como uma emergência de saúde pública global (World Health Organization (WHO), 2023). Após a gripe espanhola causada pela H1N1 que levou a óbito 50 milhões de pessoas (JOHNSON; MUELLER, 2002), a gripe asiática de 1957 (H2N2), a Gripe de Hong Kong de 1968 (H3N2) e a gripe pandêmica de 2009 (H1N1), que causaram 1,5 milhões, 1 milhão e 300.000 mil mortes respectivamente (KAIN; FOWLER, 2019),(SIMONSEN *et al.*, 1998), (VIBOUD *et al.*, 2016). A COVID-19 teve um total de 765.222.932 casos acumulados e 6.921.614 mortes, sendo a segunda pandemia mais severa da história (World Health Organization (WHO), 2023a).

1.2 O Vírus: Virologia e Histórico

Os coronavírus (CoVs) recebem o nome da palavra latina “*corona*”, que significa “coroa”, devido a uma aparência semelhante a uma coroa de proteínas de pico viral observadas sob um microscópio eletrônico. O primeiro coronavírus foi descoberto em 1937, quando foi isolado de embriões de galinha (LUDWIG; ZARBOCK, 2020). Os CoVs pertencem ao reino *Riboviriae*, Ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae* e subfamília *Coronavirinae* (CAVANAGH, 1997) e são subdivididos em quatro gêneros Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus e Delta coronavirus (KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020).

Os primeiros coronavírus que infectam Humanos (HCoVs) foram detectados na década de 1960, e até 2020 seis CoVs eram conhecidos por infectar humanos.(WEI; LI; CUI, 2020). Na taxonomia, o SARS-CoV-2 foi introduzido dentro do gênero Betacoronavirus sendo considerado o sétimo HCoV, juntamente com outros dois HCoVs, o SARS-CoV e MERS-CoV respectivamente (LU *et al.*, 2020). Embora SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 tenham sido responsáveis por surtos com alta taxa de mortalidade na última década, outras cepas de coronavírus humano (HCoV-OC43, HCoV-HKU1) do gênero Betacoronavirus, e Alphacoronavirus (HCoV-229E e HCoV-NL63) normalmente, são os responsáveis por um terço de todas as infecções em humanos, geralmente causando infecções leves e autolimitadas no trato respiratório superior, como o resfriado comum (LIU; KUO; SHIH, 2020). No trato respiratório inferior, podem causar bronquiolite e pneumonia com risco de vida em indivíduos imunocomprometidos e crianças (WALSH; SHIN; FALSEY, 2013; PENE *et al.*, 2003). Além disso, podem causar doenças gastrointestinais e neurológicas (ARBOUR *et al.*, 2000; ZHOU *et al.*, 2020d).

O surgimento de novos CoVs pode ter se tornado possível devido a manutenção da

variabilidade genética de múltiplos CoVs em seus hospedeiros naturais, que pode favorecer a uma probabilidade alta de recombinação genética (SU *et al.*, 2016). A alta diversidade genética e a capacidade de infectar várias espécies hospedeiras são o resultados de mutações de alta frequência em CoVs, juntamente com altas taxas de recombinação homologas de RNA (SU *et al.*, 2016; NG; TAN, 2017). Esta característica contribui para a oportunidade de transmissão zoonótica do vírus de uma espécie para outra, atingindo alta diversidade e disseminação, resultando na transmissão de animais para humanos, podendo levar a novos surtos de coronavírus em humanos (DUFFY; SHACKELTON; HOLMES, 2008; RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2022).

Relatórios e pesquisas recentes relatam que, à medida que o SARS-CoV-2 se espalha pela população, seu material genético sofre altas taxas de mutações, o que contribui para o desenvolvimento de novas variantes do vírus.(LAURING; MALANI, 2021; COSAR *et al.*, 2022) Os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) monitoram e classificam as variantes do SARS-CoV-2 como sendo, variantes de preocupação, variantes de interesse ou variantes de alta consequência, considerando a facilidade com que o vírus pode se espalhar de pessoa para pessoa, gravidade sintomática e opções de tratamento (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2023).

A primeira mudança evolutiva significativa no SARS-CoV-2 ocorreu no início de 2020, quando uma substituição de aspartato por glicina (A>G) na posição 614 deu origem a glicoproteína spike mutada D614G, que conferiu uma vantagem de aptidão que rapidamente se tornou predominante globalmente (ISABEL *et al.*, 2020; PLANTE *et al.*, 2021). Um estudo feito por Korber(2020) e colaboradores mostraram que a substituição D614G pode fornecer uma vantagem de transmissão, aumentando a capacidade de infectar células-alvo que expressam ACE2, resultando em maiores quantidades de vírus infecciosos no hospedeiro e, portanto, maior probabilidade de transmissão (YURKOVETSKIY *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2021; KORBER *et al.*, 2020). Além disso a mutação D614G também pode diminuir a sensibilidade dos anticorpos de pacientes em recuperação da COVID-19 (HU *et al.*, 2020).

Posteriormente, surgiram várias ondas de variantes de SARS-CoV-2 que substituíram as variantes ancestrais anteriores, atualmente foram catalogadas 20 novas variantes, geralmente mostrando maior transmissibilidade e maior escape de anticorpos e classificadas como Variantes de preocupação (BAROUCH, 2022; JACOBS; HAIDAR; MELLORS, 2023). Além disso, em pacientes sintomáticos, os swabs nasais produziram cargas virais mais altas do que os swabs da garganta (ZHOU *et al.*, 2020b). A mesma distribuição foi observada em um paciente assintomático, implicando o epitélio nasal como uma entrada para infecção inicial e transmissão.

1.3 Morfologia, Estrutura Genética e Replicação

O SARS-CoV-2 é uma partícula envelopada e esférica de aproximadamente 120nm de diâmetro contendo um genoma de RNA de fita simples de sentido positivo, não segmentado com

tamanho aproximado de 29,9kb (LU *et al.*, 2020; MOUSAVIZADEH; GHASEMI, 2021). Sua estrutura, mostrado na Figura 1 (B), é formada pelas proteínas S, M e E, que formam o invólucro viral, enquanto a proteína N auxilia no empacotamento do RNA e na proteção do genoma, a proteína S é uma glicoproteína do envelope viral que ajuda a fixação viral e a entrada nas células hospedeiras (YAN *et al.*, 2022).

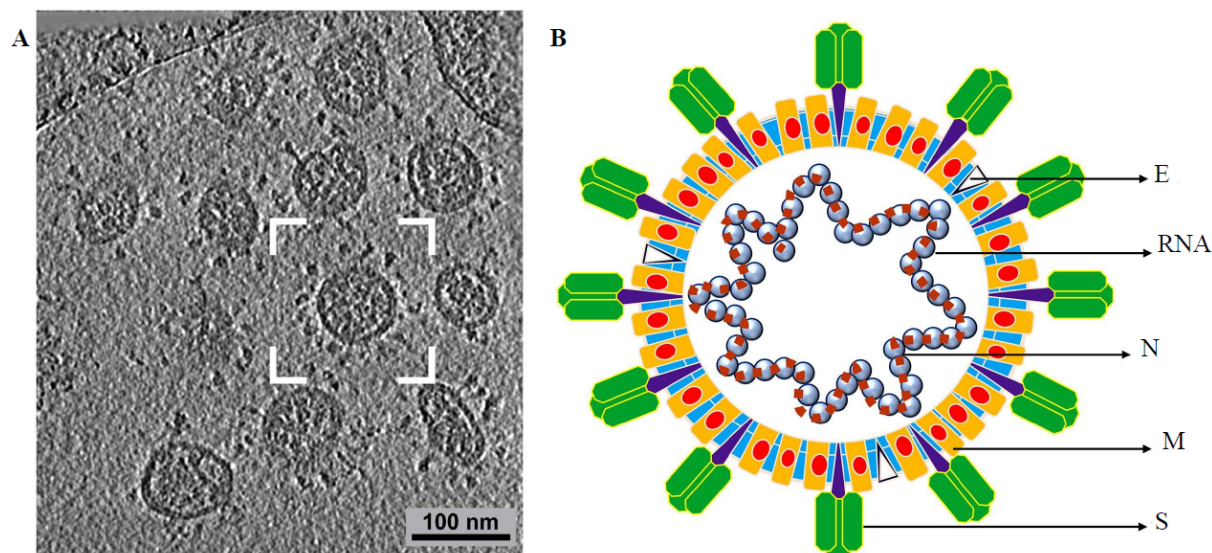


Figura 1 – Estrutura molecular do SARS-CoV-2. (A) Microscopia crioeletrônica virions de SARS-CoV-2. (B) Estrutura esquemática da estrutura do SARS-CoV-2, apresentando suas proteínas estruturais S, M, E e seu RNA envelopado pela proteína N. Fonte: Adaptado de (YAO *et al.*, 2020; KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020)

O genoma do SARS-CoV-2 é organizado linearmente em duas regiões denominadas ORFs (ORF1a, ORF1b) que ocupam os primeiros dois terços do genoma e produz uma poliproteína que sofre atividade proteolítica com o auxílio das proteínas papína-like protease (Plpro) e da principal protease quimiotripsina-like protease (3CLpro) formando dezesseis proteínas não-estruturais (do inglês, *non-structural proteins*, NSPs) que são necessárias em vários estágios do ciclo de replicação do vírus e também são bem conservadas em todos os CoVs pertencentes à mesma família (FEHR; PERLMAN, 2015; KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020).

A proteína Nsp1 medeia o processamento e a replicação do RNA. Nsp2 modula a via de sinalização de sobrevivência da células hospedeira. Nsp3 separa a proteína Traduzida Nsp4 que por sua vez tem a função de modificar a membrana do Retículo Endoplasmático (RE). Nsp5 participa do processo de poli-proteína durante a replicação. Nsp6 desempenha um papel na indução inicial de autofagossomos do RE. Nsp7 forma um super-complexo com Nsp8 que atua no aumento de Nsp12e RNA molde iniciador, que por sua vez é responsável pela replicação e transcrição do genoma viral. Nsp9 participa da replicação viral, atuando como uma proteína de ligação ao ssRNA. Nsp10 atua na transcrição do RNA viral, estimulando a atividade de Nsp14 que possui atividade de exoribonuclease de revisão, assim desempenhando um papel essencial na metilação cap dos mRNAs virais. Nsp13 se liga ao ATP e o domínio de ligação ao zinco do nsp13

participa do processo de replicação e transcrição. Nsp15 tem atividade de endoribonuclease dependente de Mn(2+). Nsp16 é uma metiltransferase que participa na metilação do mRNA cap 2'-O-ribose para a estrutura 5'-cap dos mRNAs virais. Nsp11 não possui funções conhecidas até o momento (NAQVI *et al.*, 2020). As regiões codificantes posteriores são compostas por quatro proteínas estruturais: a proteína spike (S), proteína de membrana (M), envelope (E) e proteína do nucleocapsídeo (N). A estrutura do genoma e sua organização pode ser visualizado na Figura 2.

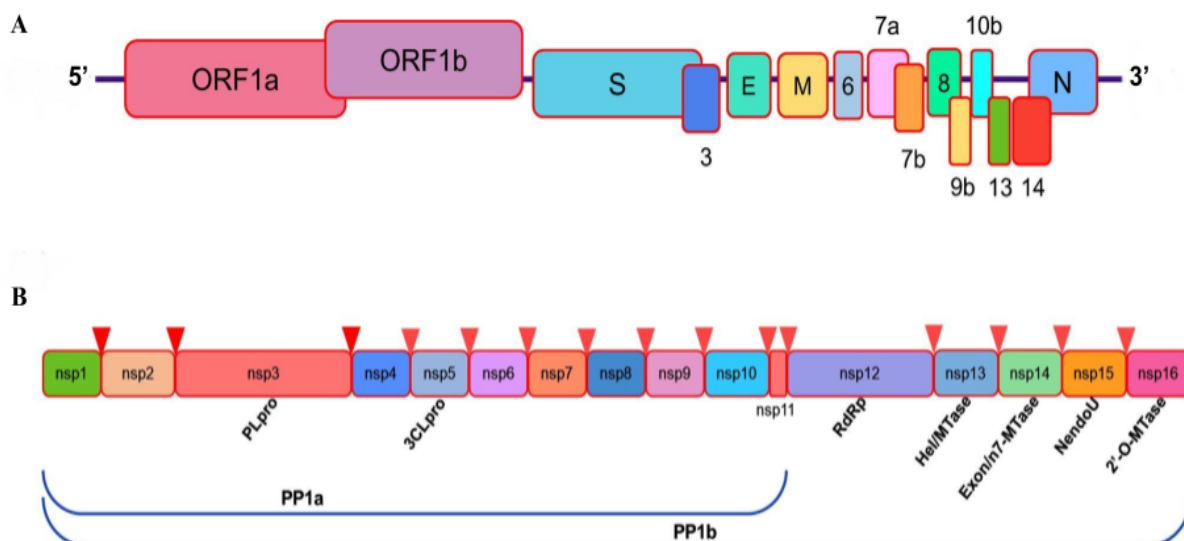


Figura 2 – (A) Esquema estrutural e organização das unidades de transcrição do genoma do SARS-CoV2. (B) Representação esquemática dos domínios funcionais ORF1a e ORF1b.

Fonte: Adaptado de (KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020)

O número exato de proteínas funcionais do SARS-CoV-2 ainda não foi bem estabelecido, mas com base em estudos anteriores sobre SARS-CoV, foi previsto 4 proteínas estruturais e pelo menos de 6 a 9 proteínas acessórias denominadas (3, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 10b, 13, 14) e suas funções foram elucidadas recentemente (KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020; CHAN *et al.*, 2020). Todos esses genes, codificam para proteínas que atualmente são utilizados como alvos para detectar a presença de SARS-CoV-2 em amostras clínicas e ambientais, bem como identificar novas variantes de SARS-CoV-2 que continuam a surgir.

O seu ciclo de vida putativo começa após a transmissão da partícula viral de uma pessoa para outra. A infecção por SARS-CoV-2 dá início com a ligação da proteína spike (S) do vírus ao seu receptor ACE2 na superfície da células hospedeira, para que o vírus complete a sua entrada na célula após esse processo inicial, a proteína s(S) é preparada (clivada) por uma protease chamada TMPRSS2 em duas subunidades (S1; também conhecido com RBD) que é responsável pelo reconhecimento e ligação ao receptor ACE2 na superfície da membrana da célula, e um segundo domínio (S2) que realiza a fusão direta da membrana viral com a membrana da célula hospedeira (SIMMONS *et al.*, 2013; HOFFMANN *et al.*, 2020). O genoma viral então é liberado no citoplasma da célula atuando como um mRNA, os ribossomos da célula realizam a sua tradução de dois terços do RNA viral, correspondente as regiões de ORF1a e ORF1b. Esse

processo da origem a duas poliproteínas (pp1a e pp1b) (SOLA *et al.*, 2015). As poliproteínas codificadas possuem as proteases PLpro e 3CLpro que auxiliam na formação de 16 proteínas não estruturais nsps mencionadas anteriormente, incluindo varias outras proteínas responsáveis pela replicação como RNA helicase e exoribonuclease (KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020).

O processo de tradução do RNA viral ocorre dentro do RE das células hospedeiras, levando a formação das proteínas estruturais que se moveram ao longo da via secretora para o compartimento intermediário do Complexo de Golgi (ERGIC). Esses produtos virais então são montados, onde a proteína estrutural N promove o empacotamento do genoma viral recém sintetizado, dando origem ao nucleocapsídeo helicoidal. Em seguida, a montagem do virion é iniciada pela proteína (M) através de múltiplas interações proteína-proteína que auxiliam na incorporação do nucleocapsídeo, envelope viral, e proteínas spike (s) recém sintetizadas nas novas partículas virais. Os novo vírus então se concentram em vesículas dentro do (ERGIC) onde são liberadas como vesículas secretoras, após um processo de maturação. Essas vesículas secretoras então se fundem com a membrana da células hospedeiras, liberando por exocitose os novos virions aptos a infectar novas células (JACKSON *et al.*, 2022).

1.4 Características e Manifestações Clínicas

O espectro de apresentações clínicas da COVID-19 podem ser variadas, podendo evoluir de uma infecção com estado assintomático, até casos mais graves como a síndrome do desconforto respiratório e disfunção de múltiplos órgãos (WU; MCGOOGAN, 2020). No entanto as características clínicas mais comuns incluem febre, tosse, dor de garganta, dor de cabeça, fadiga, mialgia e falta de ar. Em alguns pacientes ao final da primeira semana, a doença pode progredir para pneumonia, seguindo por insuficiência respiratória e morte. Sintomas menos comuns incluem cefaleia, tontura, dor abdominal, diarreia, náusea e vômito (CHEN *et al.*, 2020).

Um estudo inicial realizado por Huang *et al.* (2020) relatou pela primeira vez as características clínicas de 41 pacientes com diagnóstico positivo para COVID-19, a maioria dos pacientes infectados eram homens (73% 30 de 41). Todos os 41 pacientes tiveram achados anormais na tomografia computadorizada (TC) de tórax, apresentando opacidade pulmonar bilateral com aspecto de vidro fosco. Os sintomas iniciais desses pacientes incluíram febre (98%), tosse (76%), dispneia(55%), mialgia e fadiga (44%), produção de escarro (28%), cefaleia (8%), hemoptise (5%) e diarreia (3%). Outros 12 pacientes (29%) evoluíram para a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), 5 (12%) tiveram lesão cardíaca, 3 (7%) tiveram disfunção dos órgãos (por exemplo, lesão renal e choque). Do total 28 (68%) tiveram alta e 6(15%) faleceram (HUANG *et al.*, 2020).

Outro estudo mostrou que pacientes da UTI apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de citocinas inflamatórias IL2, IL7, IL10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A e TNF α , quando comparados aos pacientes fora da UTI. Estas citocinas foram associadas a evolução nos casos

mais graves da COVID-19 (CHEN *et al.*, 2020). Geralmente o tempo médio desde o início dos sintomas até a dispneia foi de 5 dias, hospitalização foi de 7 dias e SDRA de 8 dias. O estado de recuperação dos pacientes deram início na segunda semana se estendendo até a terceira semana, a duração média das internações daqueles que se recuperaram foi de dez dias. Desfechos adversos e morte são mais comuns em pacientes idosos e com comorbidades subjacentes (WANG *et al.*, 2020).

De acordo com a gravidade dos sintomas, os pacientes podem ser classificados nos tipos, leve, grave e severo (WU; MCGOOGAN, 2020). De modo a estratificar esse pacientes para um melhor manejo nas unidades de saúde de todo mundo a OMS categorizou as manifestações clínicas em oito grupos diferentes, de acordo com o índice de gravidade da COVID-19 e nível de suporte respiratório (ORGANIZATION *et al.*, 2020).

Os pacientes classificados como WHO 0 são aqueles que não possuem sinais de infecções virais ou sintomas relacionados à COVID-19 no momento do atendimento médico ou testados com PCR negativo para COVID-19. Os pacientes classificados como WHO 1-5 são aqueles que primeiro se queixam de sintomas como febre, dor de cabeça, fadiga e teste positivo para COVID-19. Esses pacientes podem ter um curso clínico semelhante ao da gripe, apresentando tosse, dificuldade de respirar, dor de garganta, dor de cabeça, mal estar e mialgia. Em alguns casos, também podem apresentar um quadro mais grave, compatível com pneumonia, apresentando frequência respiratória >30 respirações por minuto, saturação de oxigênio menor que 93% (PaO₂) em ar ambiente, cianose, esforço respiratório grave com necessidade de internação e ventilação mecânica não invasiva (GUAN *et al.*, 2020).

Pacientes classificados como WHO 6-8 com teste positivo para COVID-19, que possuem sintomas de síndrome do desconforto respiratório agudo, podem apresentar alterações radiológicas do pulmão com presença de infiltrados, opacidade bilaterais, atelectasia lobar/pulmonar ou nódulos. Também podem ser diagnosticados com edema pulmonar não explicado por insuficiência cardíaca ou hiper hidratação, necessitando de ventilação mecânica invasiva, quando PaO₂ estiver entre 200-300 mmHg. Estes pacientes, ainda podem apresentar sintomas mais graves como, consciência alterada, linfopenia, taquicardia, coagulopatia, acidose, evoluindo clinicamente para estados mais graves, seguidos de hipotensão arterial e óbito por choque séptico (HUANG *et al.*, 2020). Os sintomas observados em SARS-CoV-2 compartilham semelhanças de características clínicas entre surtos de betacoronavirus anteriores de SARS-CoV e MERS-CoV (LEE *et al.*, 2003; ASSIRI *et al.*, 2013).

1.5 Fatores de Risco

A identificação de fatores associados ao agravamento dos sintomas do paciente diagnosticado com COVID-19, que vão desde sintomas leve a grave já mencionados anteriormente, é essencial para o manejo eficiente e tratamento dos pacientes. Bem como, criar medidas preventi-

vas e protetivas para aqueles com fatores aumentados, que ainda não foram diagnosticados com COVID-19.

Com base nas evidências atuais, os fatores de risco para o desenvolvimento de COVID-19 em adultos variam de fatores demográficos, como etnia, idade avançada, sexo masculino, até à presença de doenças subjacentes, como doenças cardiovasculares, hipertensão e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (FAUCI; LANE; REDFIELD, 2020). Da mesma forma, foi relatado que crianças mais novas com comorbidades específicas, como obesidade, correm maior risco de infecção e potencialmente podem desenvolver sintoma mais graves do COVID-19 (TSANKOV *et al.*, 2021). Além desses fatores, os principais fatores de risco para a gravidade e mortalidade do COVID-19 também incluem indicadores laboratoriais fora dos limites normais, como níveis de citocinas pró-inflamatórias (GAO *et al.*, 2020). Em contraste, uma dieta/nutrição saudável, vacina contra a COVID-19 e condições atópicas, podem proteger e evitar a progressão e desfecho clínico ruim (BUTLER; BARRIENTOS, 2020; CHAKRABORTY *et al.*, 2021b; KESWANI *et al.*, 2020).

Um dos maiores estudos de coorte retrospectivo entre pacientes com COVID-19 relatou fatores de alto risco para gravidade sintomática e morte (ZHOU *et al.*, 2020a). Os pesquisadores utilizaram 191 pacientes adultos diagnosticados com COVID-19, com idade média de 56 anos, variando de 18 a 87 anos, sendo a maioria do sexo masculino. Dos 191 pacientes do estudo, 54 pacientes foram a óbito, e 137 tiveram alta do hospital. Metade dos pacientes apresentavam comorbidades, sendo a hipertensão a mais comum, seguida de diabetes e doença coronariana. Em particular o estudo mostrou que a idade avançada, níveis de dímero D superiores a $1\mu\text{g/ml}$, níveis de IL-6 no sangue, troponina I cardíaca de alta sensibilidade, lactato desidrogenase, linfopenia e escore SOFA do inglês (*Sequential Organ Failure Assessment*) foram mais comumente observados na COVID-19 grave.

Outros estudos relataram que dependência da idade na suscetibilidade para COVID-19 foi claramente menor nas faixas etárias mais jovens, e maior nos pacientes com mais de 70 anos (ZHANG *et al.*, 2023a; AYOUB *et al.*, 2020). Idosos costumam ter mais comorbidades. Além disso, a defesa imunológica mais fraca contra doenças infecciosas e o estado pró-inflamatório crônico relacionado ao envelhecimento do sistema imunológico com ativação imune inata persistente de baixo grau podem aumentar o dano tecidual causado por infecções em idosos (SHAW *et al.*, 2010). Além disso, níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias com o aumento da idade podem contribuir para o desenvolvimento desta doença (GAO *et al.*, 2021).

Os homens estão mais predispostos à infecção por SARS-CoV-2. Relatórios iniciais de pandemia indicaram que os homens representavam 60% dos pacientes com COVID-19 (LI *et al.*, 2020a; GUAN *et al.*, 2020). Uma meta-análise de 59 estudos compreendendo 36.470 pacientes mostrou que os homens tinham maior risco de infecção, gravidade da doença, internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e morte do que as mulheres. No geral, os homens tiveram um risco estatisticamente significativo de 8% a mais de serem diagnosticados com

COVID-19 do que as mulheres (RR: 1,08, IC de 95%: 1,03 a 1,12) (PIJLS *et al.*, 2021). Foi sugerido que, em comparação com o sexo feminino, os diferentes efeitos dos hormônios nos processos inflamatórios, diferenças nos níveis de receptores celulares como enzima conversora de angiotensina (ACE2) e TMPRSS2, que são moléculas que facilitam a entrada do SARS-CoV-2 através da fusão da membrana celular do vírus, e diferenças no estilo de vida como por exemplo ser tabagista, pode implicar na predisposição dos homens à infecção por SARS-CoV-2 (HOFFMANN *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2021; GAO *et al.*, 2021).

1.6 Resposta Imune do SARS-CoV-2

Muitos estudos destacam padrões diferentes e graduais de progressão da doença, caracterizados por sintomas leves a moderadas na maioria dos pacientes, com alguns deles que infelizmente progridem para um estágio mais grave da doença. A imunopatologia da COVID-19 é atribuída principalmente a disfunção da resposta imune inata e adaptativa pelo SARS-CoV-2. Essas Respostas inatas e/ou adaptativas disfuncionais ou descontroladas levam ao retardo da depuração viral, inflamação e dano tecidual, que não restringe somente aos pulmões, ocasionando insuficiência respiratória, mas de forma sistêmica, levando a falência de múltiplos órgãos e, eventualmente, morte (XU *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020).

A contribuição do sistema imunológico do hospedeiro em estabelecer o pior prognóstico já foi confirmada por várias observações clínicas sobre SARS-CoV-2 e outras doenças dependentes de SARS (HUANG *et al.*, 2020; LAING *et al.*, 2020). A interação das respostas imunes inata e adaptativa é fundamental para o gerenciamento do COVID-19. Como resultado, uma resposta imune inata robusta fornece a primeira linha de defesa, concomitantemente, a imunidade adaptativa neutraliza a infecção e constrói memória para proteção a longo prazo. No entanto, a imunidade desregulada, tanto inata quanto adaptativa, pode levar a uma inflamação danosa (patogênica) tanto em casos agudos quanto crônicos (YAMADA; TAKAOKA, 2023). Foi Demonstrado que defeitos na hipersensibilidade tipo I (T1, conhecida como imunidade celular) e um excesso de resposta imune tipo II (T2 ou humoral) estão correlacionadas com casos de COVID-19 grave. Apontando que uma resposta imune adaptativa "mal adaptada" ao SARS-CoV-2, também pode levar ao atraso da eliminação viral e progressão da COVID-19 (MERAD *et al.*, 2022).

Evidências indicam cada vez mais que as diferenças imunológicas baseadas no sexo desempenham um papel significativo nas variações na incidência de doenças autoimunes, malignidades e suscetibilidade a doenças infecciosas como COVID-19 (KLEIN; FLANAGAN, 2016; TAKAHASHI; IWASAKI, 2021). Por exemplo, hormônios sexuais como o estrogênio e a testosterona têm efeitos diferenciados nas respostas imunes em homens e mulheres. O estrogênio tende a aumentar as respostas imunes, aumentando potencialmente a incidência de doenças autoimunes em mulheres. Por outro lado, a testosterona pode exibir efeitos imunossupressores, que podem afetar os resultados de certos tipos de câncer em homens.

Outra distinção notável entre os sexos é a presença de dois cromossomos X nas mulheres e um cromossomo X e um Y nos homens. Alguns dos genes ligados ao X envolvidos na regulação imunológica podem contribuir para a maior prevalência de doenças autoimunes em mulheres em comparação com homens. Além disso, os genes localizados nos cromossomos sexuais podem influenciar o desenvolvimento das células imunes e a eficácia das respostas imunes contra o SARS-CoV-2, que levam a diferenças na gravidade do COVID-19 entre homens e mulheres. Algumas das diferenças dependentes do sexo na resposta imune parecem estar relacionadas à modificação epigenética da expressão gênica ligada ao cromossomo X (CHLAMYDAS *et al.*, 2022).

As mulheres geralmente exibem uma resposta imune mais robusta devido ao maior número e atividade de células imunes, incluindo células T e B. Essa resposta imune aumentada pode contribuir para uma melhor defesa imunológica contra SARS-CoV-2 em mulheres. Sabe-se que as diferenças nas vias de sinalização imune, como receptores semelhantes a toll (TLRs), citocinas e quimiocinas, entre homens e mulheres, afetam significativamente as respostas imunes contra SARS-CoV-2 (KHANMOHAMMADI; REZAEI, 2021). Para entender a dinâmica da infecção por COVID-19, precisamos abordar adequadamente o reconhecimento do SARS-CoV-2 pelo sistema imunológico. Portanto, ainda nesta seção, discutiremos sobre o reconhecimento do SARS-CoV-2 pelo sistema imune inato e adaptativo, considerando uma resposta imune protetora e patogênica na COVID-19.

1.6.1 Resposta Imune Inata ao SARS-CoV-2

O sistema imune inato é a primeira linha de defesa antiviral e outros micro-organismos. Até o momento do desenvolvimento deste manuscrito, a compreensão da resposta imune inata específica ao SARS-CoV-2 ainda é muito limitada. No entanto, é provável que a interação entre vírus-hospedeiros seja semelhante a outros coronavírus, dada homologia e similaridade compartilhada entre os Beta coronavirus SARS-CoV e MERS-CoV (NAQVI *et al.*, 2020).

Em geral, o primeiro passo da defesa do hospedeiro contra o SARS-CoV-2 ocorre pela detecção de componentes derivados do vírus, como ácidos nucleicos e proteínas pelos receptores de reconhecimento de padrão (PRR) do hospedeiro, que inclui uma série de receptores citoplasmáticos e de superfície celular, como os TLRs (receptores do tipo Toll), RLRs (receptores do tipo RIG) incluindo MDA-5, NLRs (receptores do tipo NOD), CLR (receptor de lectina-C), DAI (ativador dependente de DNA do fator regulador de IFN) (KURIAKOSE *et al.*, 2016; KANNEGANTI, 2020). Esses receptores ativam uma série de cascata de sinalização, que resultam na produção e regulação positiva de interferons. Assim uma resposta de IFN-I antecipada e robusta garante uma resposta imune inata protetora, estimulando a ativação de células imunes, como natural killer (NK) e células dendríticas (DCs), bem como no recrutamento de células T e B para os sítios de infecção, que são extremamente necessárias para contenção da replicação viral (TAKAOKA; YAMADA, 2019; SODEIFIAN *et al.*, 2022).

No entanto, uma característica do SARS-CoV-2 é a capacidade de inibir as respostas de interferons em células infectadas, ocasionando uma resposta de interferon tipo I atrasadas ou totalmente suprimidas (BLANCO-MELO *et al.*, 2020). Essa supressão da resposta de interferons sustenta a replicação viral, e induz ainda mais danos nos tecidos, resultando em uma inflamação exacerbada a medida que o sistema imune luta para limitar a replicação viral e manter a manutenção das células que estão morrendo pela replicação do SARS-CoV-2 (BRIDGES *et al.*, 2022; SALINA *et al.*, 2022).

A imunopatologia da COVID-19 continua a medida que as células inflamatórias migram para o pulmão do paciente e produzem grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias agravando ainda mais o estado do paciente podendo levar a morte em alguns casos (KUMAR *et al.*, 2020). A resposta imune desequilibradas causadas em parte pela resposta atrasadas ou ausentes de IFN tipo I, são um determinante mais provável da gravidade geral da COVID-19 (BLANCO-MELO *et al.*, 2020; ARUNACHALAM *et al.*, 2020). Outra grande evidência, é a descoberta de erros congênitos implicados na resposta imune inata e adaptativa, principalmente nas vias do interferon tipo (I,III) nos indivíduos que desenvolveram COVID-19 grave.(MOENS; MEYTS, 2020; CASANOVA *et al.*, 2020).

A resposta imune inata é provocada pelo reconhecimento de estruturas evolutivamente conservadas em patógenos, e são conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Padrões moleculares associados a danos (DAMPs) ou alarminas são moléculas liberadas por células estressadas, lesionadas ou mortas (ROH; SOHN, 2018). DAMPs e PAMPs são detectados por receptores de reconhecimento de padrão (PRR) a estímulos infecciosos ou inflamatórios por TLR e RLR, em alguns casos podem causar dano tecidual levando a lesão pulmonar aguda, e foram relatados em níveis mais elevados em pacientes com COVID-19 Grave (NAQVI *et al.*, 2022).

As proteínas da família S100 são moléculas críticas da imunidade inata, e são importantes na participação de varias desordens inflamatórias, metabólicas e neoplásicas. As alarminas s100A8/9 são codificadas pelos genes humanos *S110A8* e *S100A9* e foram reguladas positivamente e detectadas no plasma de indivíduos graves com COVID-19(SHI *et al.*, 2021). Guo *et al.* (2021) mostrou que S100A8/A9 induzir neutrófilos imaturos displásicos e que foram capazes de induzir expressão de si mesmo, formando um *loop* positivo e amplificando as respostas imunes anormais (GUO *et al.*, 2021).

Como mencionando anteriormente, os receptores TLR e RLR são os PRRs que podem detectar RNA não próprio. Depois de detectar um RNA viral, RIG-I e MDA5 desencadeiam a resposta de IFN necessária para a depuração viral. No entanto, a resposta excessiva e prolongada do IFN é determinante para o hospedeiro. O SARS-CoV-2 pode ser reconhecido tanto pelo RIG-I quanto pelo MDA-5, no entanto, essa detecção de RNA pode diferir de acordo com os diferentes tipos de células (THORNE *et al.*, 2021; YIN *et al.*, 2021). Alguns estudos demonstraram que o RNA do SARS-CoV-2 ricos em GU, a proteína E e viroporina, ativam o NLPR3 que é um

fator bem conhecido em eventos pró-inflamatórios, conhecido como piroptose que induz a formação do inflamassoma (XU *et al.*, 2022; CAMPBELL *et al.*, 2021; JO *et al.*, 2016). Além da ativação da proteína (NLRP3), a proteína E do SARS-CoV-2 induz resposta aumentada de citocinas pró-inflamatórias de maneira dependente de TLR-2 (ZHENG *et al.*, 2021). Portanto, esses DAMPs e PAMPs poderiam amplificar o sistema imunológico inato, direcionando-se para a imunopatologia em vez da resolução da doença.

1.6.2 Resposta Imune Adaptativa ao SARS-CoV-2

O sistema de resposta imune adaptativa, responde aos patógenos de maneira específica para o antígeno para desenvolver imunidade protetora e duradoura. O sistema imunológico adaptativo consiste em três tipos principais de linfócitos: células B (células produtoras de anticorpos), células T CD4+ (células T auxiliares) e células T CD8+ (células T citotóxicas ou assassinas)(MURPHY; WEAVER, 2016). As respostas imunes adaptativas são mais lentas devido ao requisito de selecionar e expandir as células virgens de defesa em células efetoras com respostas específicas a diferentes estruturas moleculares do SARS-CoV-2. Uma vez que existe uma população suficiente de células T efetoras (TCD4+ e TCD8+) e células B efetoras (plasmócitos), que são células secretoras de anticorpos específicos, ocorre expansão e migração deste subtipos para locais de infecção (MURPHY; WEAVER, 2016). Juntas essas células trabalham para uma eliminação mais rápida das células infectadas nos sítios de infecção e também em células infectada circulantes.

Diferencialmente de outros coronavírus, o SARS-CoV-2 possui mecanismos para evitar a resposta imune, e uma das características conhecidas até o momento se refere a capacidade de suprimir ou retardar a resposta imune inata associadas aos interferon tipo I e tipo III (BLANCO-MELO *et al.*, 2020; ARUNACHALAM *et al.*, 2020). Se essas respostas não existirem ou forem atrasadas, o SARS-Cov-2 se replica ininterruptamente, e as respostas adaptativas não são ativadas até que ocorram as sinalizações ("alarmes" anteriormente mencionados) do sistema imune inato.

Em casos de COVID-19, um atraso temporal nas respostas imunes inatas esta associado em aproximadamente 40% pacientes com sintomas leves ou moderados, porque as respostas de células T e dos anticorpos ocorrem de forma relativamente rápida controlando a infecção (ORAN; TOPOL, 2020). A presença de células T efetoras e anticorpos específicos para os SARS-CoV-2 esta associado a resolução bem sucedida em casos leves e moderados (GRIFONI *et al.*, 2020).

Alguns Trabalhos que avaliaram pacientes com COVID-19 agudo, que se recuperaram, mostrou que as respostas de células T específicas de SARS-CoV-2 estão significativamente associadas a doença mais leve e de rápida recuperação, sugerindo que as respostas de células T podem ser importante para o controle de uma infecção primária por SARS-CoV-2 (LIAO *et al.*, 2020; MODERBACHER *et al.*, 2020). Se o atraso da resposta imune inata for muito longo, devida a característica particular de evasão imune do SARS-CoV-2, ou a combinação da infecção

com uma resposta inata defeituosa, o SARS-CoV-2 pode obter vantagem de replicação nos sítios de infecção, geralmente no trato respiratório superior, e conseqüentemente o atraso do estímulo da resposta imune adaptativa, resultando em condições que levam a infecção pulmonar com carga viral elevada grave o suficiente para hospitalizações e em alguns casos a morte do paciente (MAGLEBY *et al.*, 2021).

Em casos de ausência da resposta adaptativa substantiva para combater rapidamente a infecção, é plausível que uma resposta do sistema imune inato tente a preencher o buraco deixado pela ausência da resposta de células T, tentando combater a replicação viral com uma resposta inata constante. Essa solução acaba sendo falha, pois uma resposta inata exacerbada e constante resulta na imunopatologia pulmonar, essa conclusão é sustentada por muitos estudos que encontram assinaturas elevadas de citocinas e quimiocinas, juntamente com neutrófilos no sangue e nos pulmões, e estão associados a COVID-19 grave (KURI-CERVANTES *et al.*, 2020; RADERMECKER *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020b).

As respostas humorais são uma outra parte da resposta imune adaptativa contra a infecção viral, e depende da ativação de células B antígenos específicas que resultam na produção de células plasmáticas de vida longa ou células B de memória (LAIDLAW; ELLEBEDY, 2022). A infecção por SARS-CoV-2 induz respostas imunes humorais robustas e gera potentes anticorpos neutralizantes contra a proteína spike (S) e outras proteínas acessórias, indicando que os anticorpos neutralizantes estão fortemente correlacionados com a proteção contra o SARS-CoV-2, podendo induzir imunidade robusta na mucosa, uma vez que pacientes recuperados com COVID-19 apresentaram níveis significativamente mais altos de anticorpos neutralizantes contra variantes D614G, Delta, ômicron (BROUWER *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2022).

Pacientes que foram diagnosticados com SARS-CoV-2 apresentaram alterações no compartimento de células B da imunidade adaptativa, levando a resposta humoral mediada por células B extra-foliculares defeituosas e limitadas (KANEKO *et al.*, 2020). Além disso, respostas prevalentes de imunoglobulina G (IgG), contra proteínas não estruturais do SARS-CoV-2, foram observadas em pacientes que desenvolveram COVID-19 Grave e foram positivamente associadas a gravidade da COVID-19 (LEI *et al.*, 2022). Outro fator a considerar é a ativação do complemento que parece contribuir para a fisiopatologia do COVID-19 grave, onde componentes do complemento (C1q, C3, C5a e sC5b-9) foi encontrada no pulmão, cérebro, rins e outros órgãos de pacientes graves com COVID-19 (NORIS; BENIGNI; REMUZZI, 2020; LEE *et al.*, 2022; HOLTER *et al.*, 2020). Portanto, essas evidências sugerem que respostas humorais excessivas contribuem para a imunopatogênese na COVID-19.

Esses fatores agravantes da COVID-19, relacionados a imunidade podem ser amplificados por condições como idade e gênero. Em geral, a idade avançada diminui a probabilidade do indivíduo produzir uma resposta imune adaptativa eficiente ao SARS-CoV-2 (MODERBACHER *et al.*, 2020). Pois esta bem caracterizado que a abundância de células T virgens diminui substancialmente com a idade (WERTHEIMER *et al.*, 2014; BRICEÑO *et al.*, 2016; MITTELBRUNN;

KROEMER, 2021). Uma vez que a evolução clínica da COVID-19 é relativamente lenta, e quanto mais avançada é a idade, maior é a probabilidade de que o indivíduo tenha um conjunto de células T virgens insuficiente para produzir uma resposta imune ao SARS-CoV-2 ou, pode ocorrer uma resposta de células T muito lenta que o vírus pode adquirir uma vantagem para ser superado (ZHOU *et al.*, 2020c; MITTELBRUNN; KROEMER, 2021). Essa condição pode ser aumentada por um atraso geral da imunidade adaptativa, devido a estratégia de evasão imune inata empregada pelo SARS-CoV-2.

1.6.3 Diferenças nas Respostas Imunológicas Entre os Gêneros

Em particular, muitos estudos mostraram que os homens apresentam uma frequência maior nas manifestações sintomáticas graves da COVID-19 e correm maior risco de morte (BUNDERS; ALTFELD, 2020). Dados clínicos mostraram uma proporção maior de internações e de desfecho fatais em homens infectados por SARS-CoV-2 ao longo da pandemia da COVID-19, o que pode ser resultado de imunidade inata exacerbada e ativação de células T prejudicadas. (GEBHARD *et al.*, 2020; CHAKRABORTY *et al.*, 2021a).

É amplamente estabelecido na literatura que os hormônios sexuais desempenham papéis essenciais na resposta imunológica (KLEIN; MARRIOTT; FISH, 2015; KLEIN; FLANAGAN, 2016; MOULTON, 2018; ORTONA; PIERDOMINICI; RIDER, 2019). Os receptores de estrogênio são expressos na maioria das células imunes (T, B, NK, DCs, macrófagos e neutrófilos), desempenhando um funções cruciais na linfopoiese de linfócitos T e B. Além disso, o estrogênio atua como um imunoestimulante, regulando várias citocinas como IL-1, IL-10 e Interferon gamma (IFN γ) que modulam as respostas imunes. Enquanto o estrogênio tem papéis imunoestimulantes, a progesterona e os andrógenos atuam como imunossuppressores neutralizando as vias afetadas pelo estrogênio. A progesterona atua principalmente na regulação de IL-4 que por sua vez atua diretamente na diferenciação de células T auxiliares (TH1 e TH2) e diminui a citotoxicidade mediada por células TCD8 (CIARAMBINO; PARA; GIORDANO, 2021).

Os andrógenos também modula as respostas imunes, atuando como imunossupressor, de células T, e também pode predispor os homens a uma infecção facilitada ao SARS-CoV-2, a partir da regulação aumentada da protease serina 2 transmembrana (TMPRSS2) por androgênios, que é uma enzima humana codificada pelo gene *TMPRSS2* cuja função é atualmente desconhecida em humanos, e que também desempenha um papel crucial na progressão e metástase do câncer de próstata, e também atua na entrada do SARS-CoV-2 clivando a proteína (S) para permitir a fusão do vírus com a membrana da células hospedeira. Os níveis circulantes de andrógenos entre os sexos poderia predispor os homens a uma exposição pulmonar ou sistêmica mais extensa ao SARS-CoV-2 após a ocorrência da infecção (GIAGULLI *et al.*, 2021). Além disso, A gravidade da doenças em homens foi associada ao menor numero de células T no sangue, devido a síndrome de envelhecimento inflamatório, que é mais forte em homens do que em mulheres (CIARAMBINO; PARA; GIORDANO, 2021).

No entanto, os homens parecem ter uma resposta imune inata mais robusta e as mulheres montam uma resposta imune adaptativa mais forte à infecção do trato respiratório por COVID-19 (QI *et al.*, 2021). Outros trabalhos que avaliaram de outras infecções virais mostraram que as mulheres podem ter respostas imunes mais fortes contra vírus do que os homens (KLEIN; FLANAGAN, 2016; ZIEGLER; ALTFELD, 2017). As mulheres, também apresentam capacidade superiores de reparo tecidual mediados pelo sistema imune (STEEG; KLEIN, 2019). Por exemplo, um estudo mostrou que mulheres possuem mais células B no sangue do homens (ABDULLAH *et al.*, 2012). Além disso, centenas de genes foram expressos diferencialmente em células B entre homens e mulheres (FAN *et al.*, 2014).

Os mecanismos subjacentes a essas diferenças entre indivíduos do sexo feminino e masculino infectados com SARS-CoV-2, ainda não estão suficientemente elucidados. Apesar das diferenças sexuais bem caracterizadas nas respostas imunes e suscetibilidade a infecções por SARS-CoV-2, não está claro se a diferença de gênero afeta substancialmente expressão de genes associados a resposta imunológica nas células do epitélio nasofaríngeo de homens e mulheres, enfatizando que busca por alvos moleculares possam direcionar para uma melhor consolidação e compreensão dos mecanismos de falha na resposta e um melhor direcionamento de estratégias de tratamento para o COVID-19 (SUNGNAK *et al.*, 2020).

1.6.4 Transcriptômica de célula única (scRNA-seq) em células epiteliais de próstata, pulmão e nasofaringe

Técnicas mais recentes de sequenciamento combinadas com métodos computacionais têm proporcionado a identificação de células distintas em uma população aparentemente homogênea, levando ao entendimento de suas funções celulares, bem como de populações de células específicas localizadas em diferentes órgãos e tecidos. As células são geralmente identificadas por seus marcadores de superfície, associados a genes super regulados (*up-regulated*) que definem sua função celular.

Análises transcriptômicas de célula única (scRNA-seq) em tecidos de próstata, pulmão e cavidades nasais sugerem que vários tipos de células epiteliais especializadas de ambos os sistemas podem desempenhar um papel crucial na mediação das respostas imunes (HEWITT; LLOYD, 2021; SONG *et al.*, 2020). Um estudo pioneiro de scRNA-seq identificou a composição celular normal das zonas histológicas da próstata humana, onde foi possível identificar dois novos tipos de células epiteliais da próstata, chamadas células club e hillock (HENRY *et al.*, 2018). Notavelmente, as células club e hillock também foram identificadas nos compartimentos epiteliais das vias aéreas (MONTORO *et al.*, 2018).

Atualmente, células basais, club, hillock, ionócitos e neuroendócrinas fazem parte do repertório de células encontradas tanto nas vias aéreas inferiores como superiores e na próstata, possuindo assinaturas transcricionais específicas para cada tipo celular. As células basais têm

formato cúbico, são identificadas pela expressão de KRT5, KRT4, TP63, são as principais células-tronco das vias aéreas e suas funções estão associadas à homeostase respiratória, regeneração epitelial após lesão, com capacidade de auto-renovação após lesão e diferenciar-se dos demais tipos celulares (DAVIS; WYPYCH, 2021). Entre os tipos de células epiteliais nasofaríngeas observados por (ZIEGLER *et al.*, 2021) estão as células basais identificadas pela expressão de TP63, KRT15 e KRT6.

Na próstata, as células basais correspondem a 40% do tecido epitelial, têm a função de sustentar os ductos prostáticos e estão localizadas adjacentes à membrana basal. Assim como no pulmão, as células basais da próstata são as principais progenitoras (ALI *et al.*, 2022). As células basais também são altamente responsivas aos andrógenos, e podem ser células precursoras do câncer de próstata (CaP) (STOYANOVA *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013). Um estudo recente que caracterizou o microambiente tumoral na próstata também identificou células epiteliais basais expressando TP63, KRT15 e KRT5 (SONG *et al.*, 2022).

Células club semelhantes às células basais podem atuar como células-tronco e auxiliar no reparo epitelial, são células secretoras e contribuem para a homeostase e são identificadas no epitélio pulmonar pela expressão de SGB1A1 (DAVIS; WYPYCH, 2021). Em um ensaio de scRNA-seq realizado por Henry e colaboradores (2018), foram descobertos dois novos tipos celulares com alta expressão de SCGB1A1 e KRT13, identificados como células club e hillock, apresentando morfologia e perfil transcriptômico semelhante às células club do revestimento epitelial respiratório murino (HENRY *et al.*, 2018). As células hillock são encontradas no epitélio traqueal de camundongos e são caracterizadas pela alta expressão de Krt13 (MONTORO *et al.*, 2018). Células secretoras com alta expressão de KRT13 foram relatadas no epitélio nasofaríngeo de pacientes infectados com SARS-CoV-2 com abundância de ACE2 (ZIEGLER *et al.*, 2021). A expressão de KRT13 também está associada a mau prognóstico e pode ser um importante biomarcador para pacientes com câncer de próstata (LIU *et al.*, 2016). Além disso, os genes associados ao KRT13 são membros da via do metabolismo androgênico (AKR1C1, AKR1C2) que estão implicados no câncer de próstata resistente à castração (HENRY *et al.*, 2018).

Os ionócitos são células recém-descobertas, geradas a partir de precursores basais, controlam a fisiologia da superfície das vias aéreas, e são identificados pelo seu marcador FOXI1. Mutações em FOXI1 levam ao acúmulo de muco (MONTORO *et al.*, 2018). As células luminiais prostáticas do tipo L3 são definidas pela expressão de FOXI1. Um estudo realizado com próstata murina, sugere que essas células L3 são semelhantes aos ionócitos das vias aéreas, suas funções na próstata ainda estão sendo desvendadas (KARTHAUS *et al.*, 2020). Ionócitos também foram encontrados no epitélio nasofaríngeo de pacientes com COVID-19, expressando FOXI1, FOXI2, CFTR, mostrando alterações transcricionais robustas ao comparar pacientes leves ou moderados com pacientes graves (ZIEGLER *et al.*, 2021).

As células neuroendócrinas (PNEC) são comunicadores-chave entre os sistemas imunológico e nervoso, podem modular a imunidade através da secreção de várias moléculas, incluindo

serotonina, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) (BRANCHFIELD *et al.*, 2016) e peptídeos relacionados à bombesina, que interagem com células imunes, recrutando mastócitos para os pulmões (WANG *et al.*, 2021). O CGRP induz a secreção de muco nas vias aéreas, e a serotonina modula a secreção de citocinas em macrófagos, suprime a secreção de TNF α e IL-13, afeta a ativação de células T e o recrutamento de neutrófilos (DAVIS; WYPYCH, 2021). As células neuroendócrinas são raras na próstata, no entanto, sua diferenciação aumenta após a deprivação androgênica e no CaP resistente à castração (ALI *et al.*, 2022; KWON *et al.*, 2021). Essas células estão associadas ao CaP neuroendócrino, um dos tumores de próstata mais agressivo.

Coletivamente, as análises de scRNA-seq de tipos de células basais, club, hillock, iônicos e neuroendócrinas dentro das camadas epiteliais da próstata e dos revestimentos das vias aéreas destacam a importância dessas células na mediação de respostas imunes contra um câncer ou uma infecção em desenvolvimento. Este trabalho fornece evidências da regulação transcricional que afetam as respostas imunes em células do epitélio nasofaríngeo em pacientes do gênero feminino e masculino, sugerindo diferenças dependentes de andrógenos na modulação da resposta imune e na gravidade da doença.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este estudo tem como objetivo fornecer informações detalhadas sobre o papel do epitélio nasal em pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19 e explorar possíveis influências genéticas na resposta imunológica. Nós iremos realizar uma investigação abrangente dos tipos de células presentes no epitélio nasal de pacientes do sexo masculino e feminino que estavam sofrendo de COVID-19 grave no momento da coleta das amostras. Utilizaremos bancos de dados transcriptômicos de células únicas de domínio público para identificar eventuais diferenças relacionadas ao gênero na expressão de genes dos tipos de células de resposta imunológica induzidos pelo SARS-CoV-2 nessas amostras de epitélio nasal. Este projeto de pesquisa é impulsionado pela necessidade de compreender os fatores genéticos que podem contribuir para as diferenças de gênero na gravidade da COVID-19, especialmente para abordar os resultados desfavoráveis observados em homens.

2.2 Objetivo Específico

1. Caracterização dos tipos de células do epitélio nasal em homens e mulheres. Este objetivo envolve a identificação e classificação de diferentes tipos de células em pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19 dentro do epitélio nasal, a fim de estabelecer uma compreensão básica de suas populações celulares.
2. Avaliar a variabilidade das células imunológicas em ambos os sexos: Este objetivo envolve a comparação da abundância relativa de tipos de células imunológicas presentes no epitélio nasal de pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19 grave. Esses dados serão usados para identificar padrões de resposta imunológica e investigar qualquer correlação com a gravidade da doença em homens.

3. Explorar Diferenças Genéticas e Transcriptômicas: Este objetivo envolve a análise dos padrões de expressão gênica em pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19 grave para identificar genes diferencialmente expressos e as vias associadas que podem contribuir para as diferenças de gênero nos resultados da COVID-19.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as análises computacionais listadas a seguir foram realizadas utilizando a linguagem de computação Python v3.6.11, computador com processador AMD Ryzen 5 com 4 núcleos de processamento, 20 GB de memória RAM. As ferramentas utilizadas neste trabalho são gratuitas e de código aberto (*open source*). Para maiores detalhes, todos os códigos utilizados para pré-processamento de dados, análise de dados de sequenciamento de células únicas, plotagem de figuras, análise de expressão diferencial, enriquecimento de genes e análise estatística foram depositados na plataforma de versionamento de códigos GitHub ¹.

3.1 Banco de dados de scRNA-seq

Para investigar a resposta imune e os mecanismos associados à doença grave por COVID-19 em pacientes do gênero masculinos e femininos, utilizamos dados públicos de sequenciamento de RNA de célula única (scRNA-seq) de amostras nasofaríngeas, obtidos através do portal COVID-19 CELL Atlas ([CONSORTIA et al., 2020](#)).

3.1.1 Critérios para escolha dos dados

Os critérios de seleção para os dados de sequenciamento de células únicas de epitélios nasofaríngeos, primeiramente tem como base estudos que evidenciaram defeitos intrínsecos na resposta imunológica do epitélio da mucosa nasal. Este tecido é um dos principais locais de estabelecimento de contato com o vírus SARS-CoV-2, e que através do aumentos da replicação viral nas vias aéreas superiores, devido uma resposta imune inata suprimida, podem evoluir para formas mais graves da doença ([ZIEGLER et al., 2021](#); [BRIDGES et al., 2022](#)). Desta forma os dados de tecido epitelial das vias aéreas superiores são de grande importância, pois podem

¹ Códigos e pipeline de análises disponível em: <https://github.com/1993bio>

evidenciar as falhas imunológicas primárias relacionadas a predisposição e evolução sintomática em casos graves de COVID-19.

Após a realização da escolha de estudos que envolveram os tecidos da mucosa nasal, outros critérios foram estabelecidos: A coorte conter pacientes do gênero feminino e masculino positivos para COVID-19, pacientes controles para serem utilizados como fator de comparação, em ambos os gêneros, e por fim, conter pacientes que foram diagnosticados com COVID-19 grave. Essas informações estando presentes, viabilizam a observação das diferenças sintomáticas entre gêneros relatado por (BUNDERS; ALTFELD, 2020; HOFFMANN *et al.*, 2020).

O conjunto de dados caracterizado por (ZIEGLER *et al.*, 2021) atendeu aos critérios de seleção, sendo escolhido para viabilizar as análises deste estudo. As matrizes de expressão, juntamente com as descrições da coorte foram depositadas no portal COVID-19 CELL Atlas². Até o momento da escrita deste estudo os dados não possui identificador de acesso dentro do banco de dados.

3.2 Coorte de Estudo

A coorte em estudo que deu origem aos dados supracitado no item 3.1.1, é composta por 58 Pacientes, os quais foram classificados de acordo com a gravidade sintomática da COVID-19, seguindo uma escala proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (ORGANIZATION *et al.*, 2020). O grupo denominado como Controle Intubado, com classificação OMS 7-8, foi retirado do conjunto de dados original pois os pacientes apresentavam um quadro de sintomas severos, embora negativos para COVID-19. Os 52 pacientes restantes foram mantidos para compor o conjunto de dado final. Detalhes da coorte pode ser visto na Tabela 1.

Os pacientes classificados como OMS 0 são aqueles que não possuem sinais de infecções virais ou sintomas relacionados à COVID-19 no momento do atendimento médico ou quando testados com PCR negativo para COVID-19. Os pacientes classificados como OMS 1-5 são aqueles que primeiro se queixam de sintomas como febre, dor de cabeça, fadiga e apresentam teste teste positivo para COVID-19. Esses pacientes podem ter um curso clínico semelhante ao da gripe, apresentando tosse, dificuldade de respirar, dor de garganta, dor de cabeça, mal estar e mialgia. Esses pacientes, também podem apresentar um quadro mais grave, compatível com pneumonia, apresentando frequência respiratória maior que 30 respirações por minuto, saturação de oxigênio menor que 93% (PaO₂) em ar ambiente, cianose, esforço respiratório grave com necessidade de internação e ventilação mecânica não invasiva (GUAN *et al.*, 2020). Já os pacientes classificados como OMS 6-8 e com teste positivo para COVID-19 possuem sintomas da síndrome do desconforto respiratório agudo, alterações radiológicas do pulmão com presença de infiltrados, opacidade bilaterais e atelectasia lobar/pulmonar ou nódulos. Também podem ser diagnosticados com edema pulmonar não explicado por insuficiência cardíaca ou

² O conjunto de dados está disponível em: <<https://www.covid19cellatlas.org/index.patient.html>>

hiper hidratação, necessitando de ventilação mecânica invasiva quando PaO₂ estiver entre 200-300 mmHg. Ainda, esses pacientes podem avançar para sintomas mais grave, apresentando um quadro de consciência alterada, linfopenia, taquicardia, coagulopatia, acidose, evoluindo clinicamente para estados mais graves seguidos de hipotensão arterial e óbito do paciente por choque séptico (HUANG *et al.*, 2020).

3.2.1 Obtenção das Matrizes de Expressão de Genes

Após a obtenção dos dados de scRNA-seq derivados do COVID-19 CELL Atlas, um fluxo de trabalho foi criado para aplicação de técnicas de ciência de dados para a extração das anotações clínicas dos pacientes sequenciados, e de uma única matriz de dados brutos a partir da estrutura de dados *anndata* (estrutura de dados adotadas para armazenamento de dados de sequenciamento de células únicas) (VIRSHUP *et al.*, 2021). Essa única matriz de contagens de transcritos continha as informações de todos os pacientes e de todas as células. Esta etapa permitiu um melhor pré-processamento dos dados e definição dos grupos de análise. Desta forma, foi possível isolar os dados de sequenciamento de células em dois grupos distintos, para homens e para mulheres, e seus respectivos grupos sintomáticos, apresentados na Tabela 1.

Gênero	COVID-19 OMS <i>Score</i>				Total
	OMS 0 Saudável	OMS 1-5 Leve	OMS 6-8 Severo	OMS 0 Recuperados	
Masculino	6	8	11	1	26
Feminino	9	6	10	1	26

Tabela 1 – Classificação da OMS para a gravidade das infecções causadas pela COVID-19 em pacientes masculinos e feminino. Os números indicam a quantidade de pacientes do gênero masculino e feminino em cada grupo sintomáticos na classificação da OMS presente na corte de estudo. Adaptado de Ziegler *et al.* (2021).

3.2.2 Clusterização, Anotação de Células e Expressão Diferencial

Após aquisições das matrizes contendo as contagens brutas dos transcritos de scRNA-seq para pacientes masculinos e femininos, todos os métodos utilizados durante a fase de pré-análise, seguiram as normas de melhores práticas de pré-processamento e análise como sugerido por (LUECKEN; THEIS, 2019) e atualizado por (HEUMOS *et al.*, 2023). O fluxo de trabalho executado e implementado para este trabalho pode ser visualizado na Figura 3.

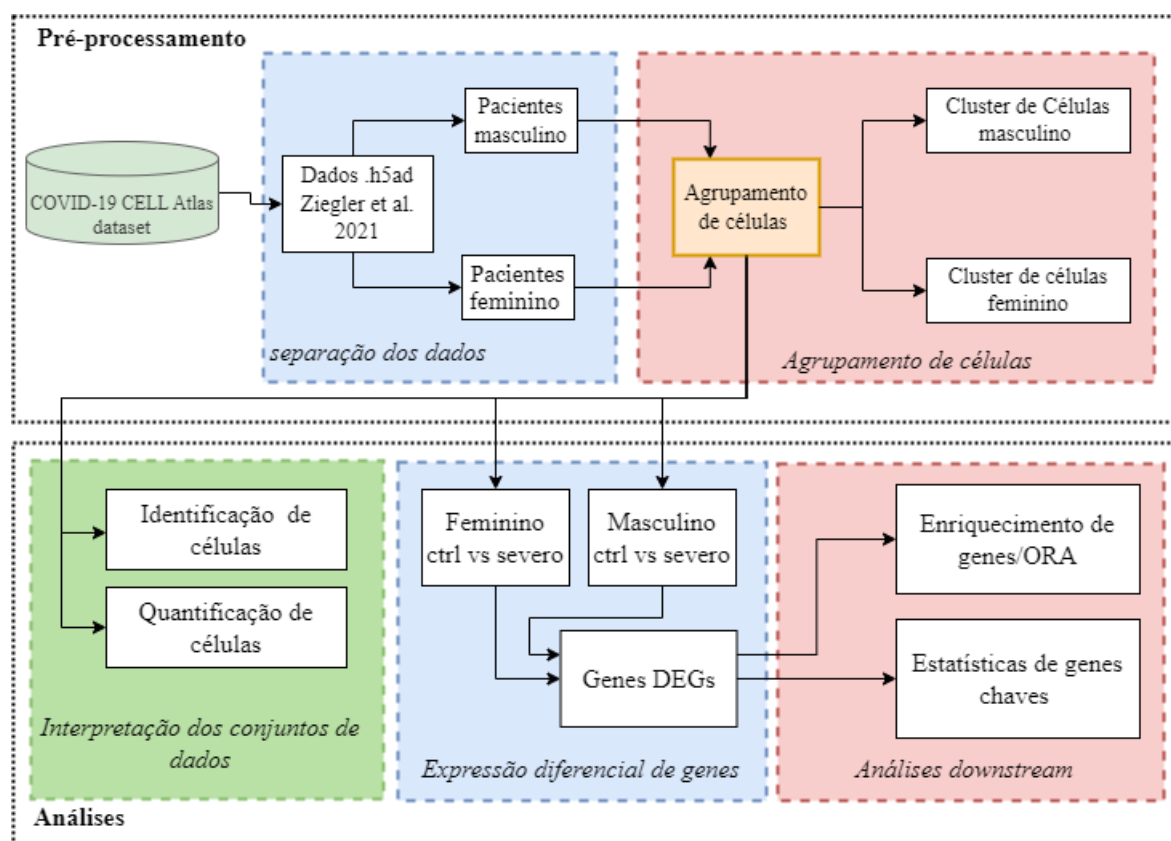


Figura 3 – Fluxograma de pré-processamento e análise para dados de sequenciamento de células únicas utilizado neste trabalho.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2.2.1 Clusterização e Anotação de Células

Para os conjuntos de dados de homens e mulheres obtidos através do fluxo de trabalho de extração de dados, foi realizado um reagrupamento de células utilizando o algoritmo UMAP (*Uniform Manifold Approximation and Projection*) implementado na ferramenta Scanpy, com o objetivo de visualizar dados em agrupamentos para posteriormente caracterizar os conjuntos de células em cada grupo com base no perfil de expressão gênica. Para uma melhor compressão dos dados e dos tipos celulares presentes nos dois conjuntos de pacientes homens e mulheres, os tipos de células epiteliais e imunes foram anotados nos agrupamentos com base nos níveis de expressão de seus respectivos genes marcadores (fenótipos celulares conhecidos) atualmente chamado de identidade celular (WAGNER; REGEV; YOSEF, 2016; ZENG, 2022). Para esta tarefa foi realizada a anotação manual de células, e para cada tipo de célula conhecida, foi criado um dicionário contendo todos os marcadores, tendo como base a anotação prévia realizadas por (ZIEGLER *et al.*, 2021).

Este tipo de anotação de células é uma abordagem clássica de anotação, baseada em um único, ou em um pequeno conjunto de genes conhecidos, que podem estar associados à um determinado tipo de célula. Os genes marcadores adquiridos para anotação de células epiteliais

e imunes foram baseados em [Zhang et al. \(2019\)](#), e também nos bancos de dados públicos BIO-RAD³, Abcam⁴, BD Biosciences⁵ e PanglaoDB⁶. Para validação dos grupos de células anotados neste trabalho, cada agrupamentos de células de pacientes masculinos e femininos foram comparados as anotação encontradas previamente, realizadas por ([ZIEGLER et al., 2021](#)) e verificado a existência ou ausências de identidade celular.

Após a identificação dos grupos celulares, e de modo a manter a homogeneidade tecidual e celular entre os grupos femininos e masculinos, foi verificada a correspondência entre todos os tipos de células encontrados entre os pacientaras masculinos e femininos. As células não correspondentes foram excluídas, de modo a evitar que conjuntos celulares não correspondente entre os grupos fossem integrados nas análises a jusante.

3.2.2.2 Expressão diferencial de genes

Geralmente em pipelines de células únicas, é discutido apenas as expressão diferencial como ferramenta para identificação de genes diferencialmente expressos para determinar a identidade celular dos agrupamentos. Ao contrário, neste trabalhos, concentramos em um caso de uso mais avançado de testes diferencias de expressão gênica, que envolvem duas ou mais condições experimentais, devido ao interesse na magnitude e significado das diferenças nos padrões de expressão gênica entre a condição de interesse (COVID-19) e uma referência (negativos para COVID-19). Para a realização da expressão diferencial, a matriz de contagem extraída anteriormente para pacientes femininos e para pacientes masculinos, descrita na sessão [3.2.1](#), foram divididas por grupo sintomático. Para a análise de expressão diferencial, o conjunto de dados de pacientes masculinos classificados como OMS Controle e masculinos classificados como OMS 6-8 (severo) tiveram todas as células agregadas em uma única matriz de expressão contendo a informação de caso afetado por COVID-19 (severo) e caso controle. Para pacientes do grupo feminino a matriz de expressão para pacientes classificadas como OMS 6-8 (severo) e classificadas como controle, também tiveram suas matrizes agregadas para formar uma única matriz de expressão de grupo controle.

Esta etapa pode ser observada no passo denominado Expressão Diferencial de Genes na Figura 3. Esta etapa gera uma matriz de expressão similar as matrizes de expressão gênica derivadas de experimentos de sequenciamentos de RNA (RNA-seq). Como resultado, obtemos o valor de alteração em log₂, p valor e o valor de p ajustado. Que pode ser analisada com mais detalhes para saber se as diferenças observadas explicam quaisquer fenótipos observados.

A expressão diferencial de genes foi realizada nos grupos masculinos e feminino utili-

³ BIO-RAD disponível em: <https://www.bio-rad-antibodies.com/human-immune-cell-markers-selection-tool.html>

⁴ Abcam disponível em: <https://www.abcam.com/primary-antibodies/immune-cell-markers-poster>

⁵ BD Biosciences disponível em: https://www.bdbiosciences.com/content/dam/bdb/marketing-documents/cd_marker_handbook.pdf

⁶ PanglaoDB disponível em: <https://www.panglaodb.se/markers.html>

zando a função do Scanpy "rank genes groups" em sua configuração padrão utilizando o teste T, *Fold change* maior que (1,5). O método de Benjamini-Hochberg foi utilizado na análise de expressão diferencial para correção do valor p. Neste experimento, foi comparado os casos severos para homens e mulheres, aos seus respectivos conjuntos de dados controles de pacientes saudáveis, como descrito anteriormente. Esse resultado teve como finalidade a determinação dos genes que potencialmente explicam a gravidade da COVID-19 em ambos os grupos. Os resultados da expressão diferencial de genes, foram avaliados e utilizados na análise de enriquecimento de conjunto de genes. Para todas as tarefas realizadas nesta sessão, foi utilizado o software Scanpy (WOLF; ANGERER; THEIS, 2018) seguindo as melhores práticas de uso da ferramenta, listadas em (LUECKEN; THEIS, 2019; HEUMOS *et al.*, 2023).

3.2.2.3 Enriquecimento de Conjunto de Genes

As listas de genes diferencialmente expressos derivadas da análise de expressão diferencial de genes foram submetidas a análise de enriquecimento de conjunto de genes, conduzida pelo GSEA e Enrichr (SUBRAMANIAN *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2013), para investigar as funções e vias biológicas. Para esta análise, utilizamos a base de dados do *Signature Database (MsigDB)*, *Gene Ontology (GO)* e *Biological Process (BP)*.

RESULTADOS DISCUSSÃO

4.1 Composição Celular do Epitélio Nasal Masculino e Feminino

O epitélio das vias aéreas estão constantemente expostos ao meio ambiente e nos protege das agressões ambientais que enfrentamos a cada respiração (ZHANG *et al.*, 2023b). Este incluem: patógenos, toxinas, alérgenos e outras partículas estranhas, necessitando de vigilância imunológica contínua (LANGE; RIVERA-BALLESTEROS; BUGGERT, 2022). Ele não apenas filtra passivamente partículas grandes, mas também detecta o perigo potencial e alerta outras células epiteliais e células do sistema imune (IWASAKI; FOXMAN; MOLONY, 2017). Juntos, esses tecidos orquestram a resposta mais apropriada, equilibrando a necessidade de eliminar o perigo com o risco de dano ao hospedeiro. Cada subconjunto de células dentro do epitélio das vias aéreas desempenha seu papel próprio e, quando prejudicado, pode contribuir para o desenvolvimento de doenças respiratórias. Desta forma, através dos agrupamentos de células do epitélio nasofaríngeo, foi possível obter a composição global de células para cada gênero.

O reagrupamento de células, considerando o gênero dos pacientes, mostrou que ambos epitélios compartilham a mesma variedade celular. Através das identidades epiteliais e imunológicas, identificamos 17 grupos de células em pacientes do gênero masculino, e 18 grupos de células em pacientes do gênero feminino, incluindo células do sistema imunológico e células do epitélio nasal. Um agrupamento de células denominadas eritroblasto foram encontradas somente no conjunto de dados de pacientes femininos (Figura 4).

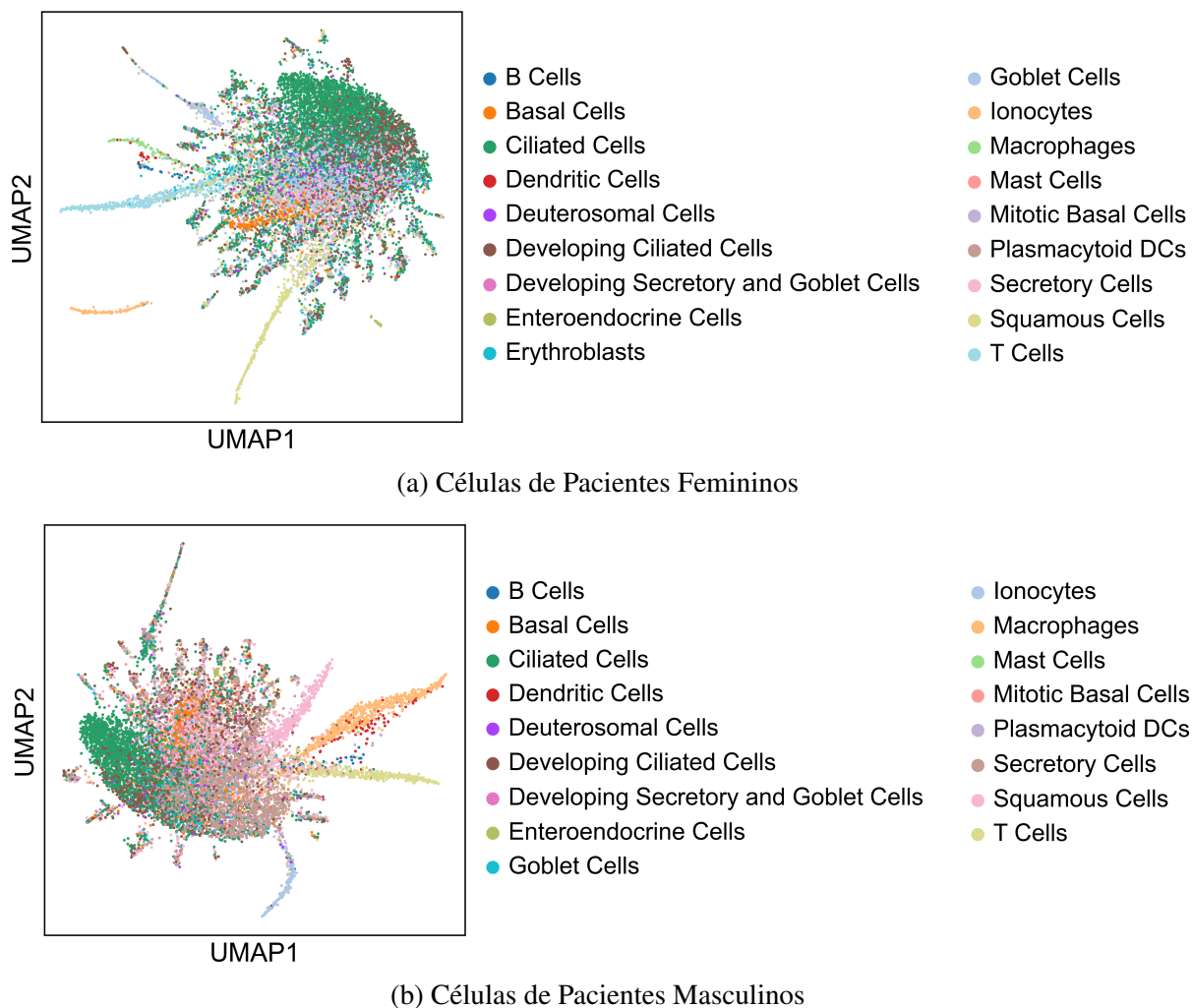


Figura 4 – Agrupamento UMAP de células epiteliais da nasofaringe derivadas do sequenciamento de células únicas scRNA-seq de pacientes do gênero masculino e feminino.

Realizamos uma avaliação da abundância global dos grupos de células com a finalidade de verificar as diferenças na composição de células no epitélio nasofaríngeo, considerando a gravidade da doença dentro dos grupos femininos e masculinos. NA Figura 5 identificamos que os pacientes do gênero feminino diagnosticadas como COVID-19 (OMS 6-8) possuem uma abundancia menor de células B, células T, e dendríticas quando comparada ao grupo de pacientes mulheres classificadas como controle (OMS 0). Da composição de células imunes em mulheres, somente os macrófagos e células dendríticas plasmocitóides tiveram uma maior abundância no grupo feminino (OMS 0).

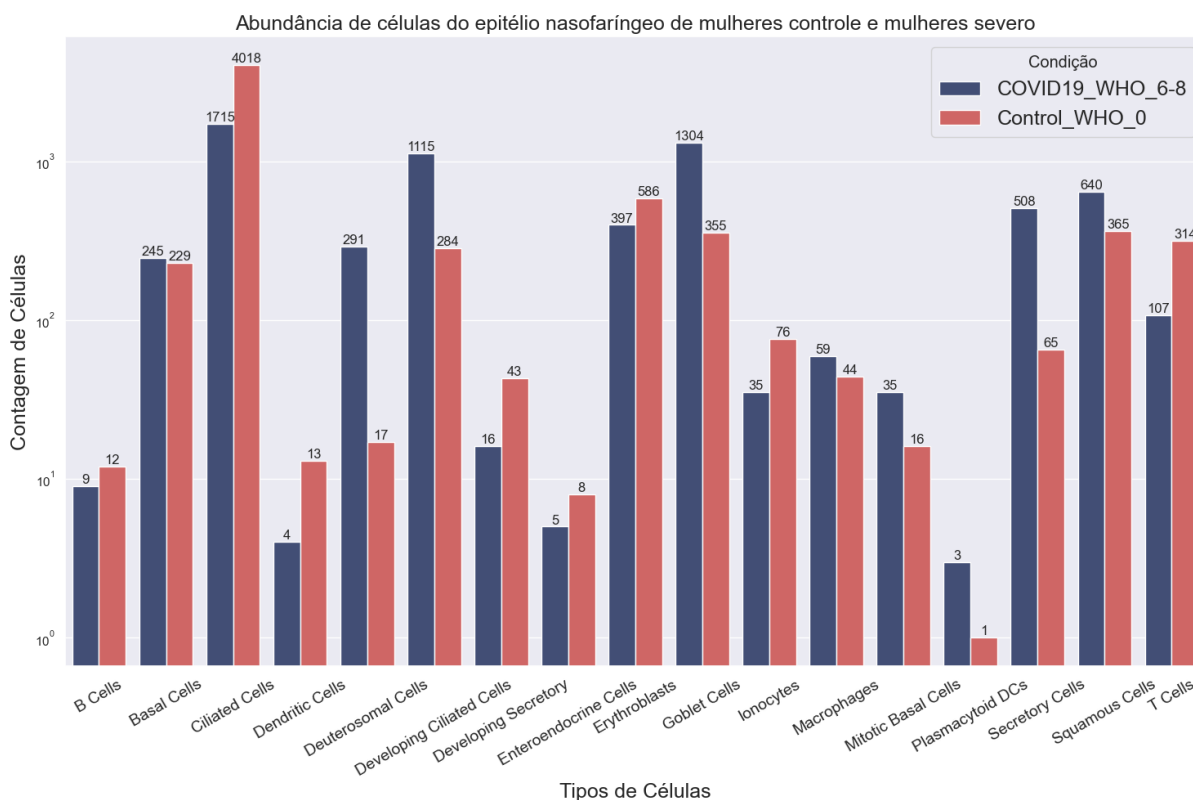


Figura 5 – Abundância global de células do epitélio nasofaríngeo de pacientes do gênero feminino nos grupos controle e severo para COVID-19.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A fim de avaliar as diferenças de células imunes de pacientes do grupo feminino, realizamos o teste estatísticos de Mann-Whitney, considerando pacientes que apresentassem grupos de células imunes concordantes entre os grupos (OMS 6-8) e(OMS 0).

Observamos uma diferença relativa em célula imunes entre mulheres classificadas como (OMS 6-8) e mulheres classificadas como Controle (OMS 0) (Figura 6), embora as diferenças observadas não foram significativas. Essa diferença relativa observada em célula imunes pode ser um indicativo de uma resposta imune menos robusta e conseqüentemente uma resposta inflamatória menos danosa em pacientes do gênero feminino severo (OMS 6-8).

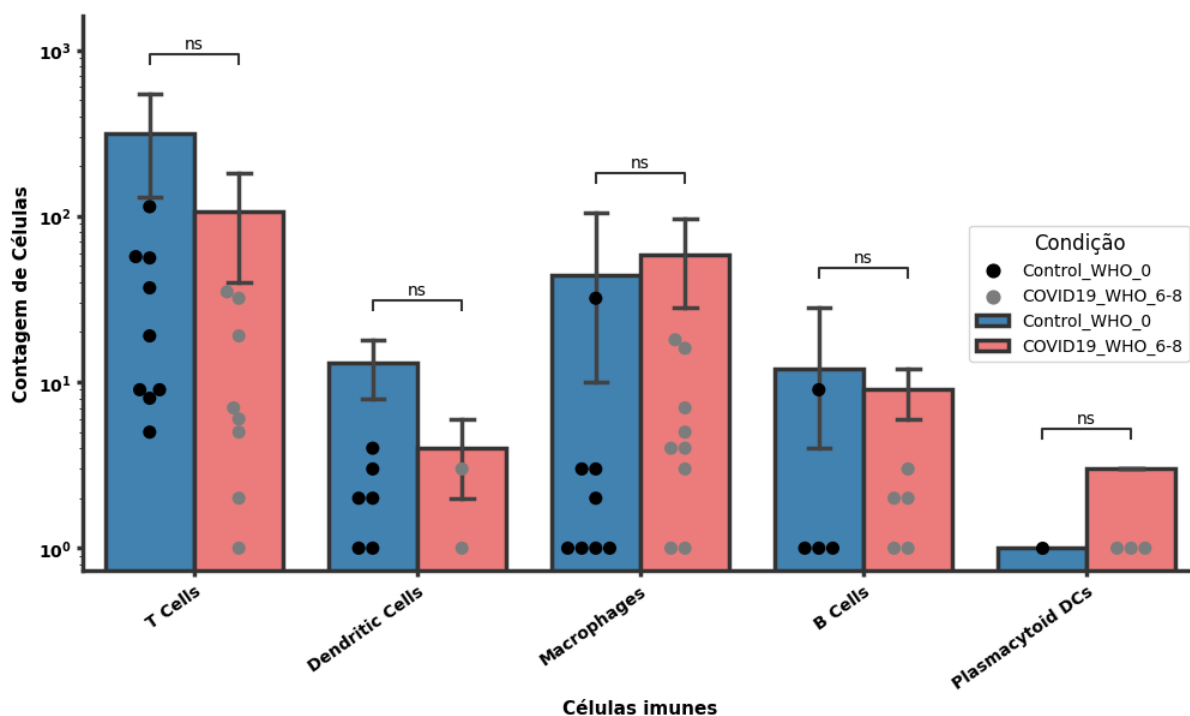


Figura 6 – Diferenças na diversidade de células imunes entre pacientes mulheres controle e mulheres diagnosticadas com COVID-19 severo. As chaves entre as Barras mostra as comparações do teste de significância estatística para os grupos de células imunes concordantes entre os grupos testados e apresentam os resultados do teste Mann-Whitney. (ns $p > 0,05$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Fonte: Elaborada pelo autor.

A abundância global de células do epitélio nasofaríngeo de pacientes do gênero masculino diagnosticadas como COVID-19 (OMS 6-8), apresentou um aumento acentuado no número de células imunes em relação aos paciente controles (OMS 0) (Figura 7). Esse resultado foi diferente da abundância global observada em pacientes do gênero feminino. Observamos também, que os tipos de células imunes B, mastócito e dendríticas plasmocitóides não foram encontradas no epitélio nasofaríngeo do grupo masculino controle (OMS-0) e, portanto, não sendo elegíveis para realização do teste estatístico, sendo estes tipos de células discordantes entre os grupos masculino COVID-19 e masculino (OMS 6-8).

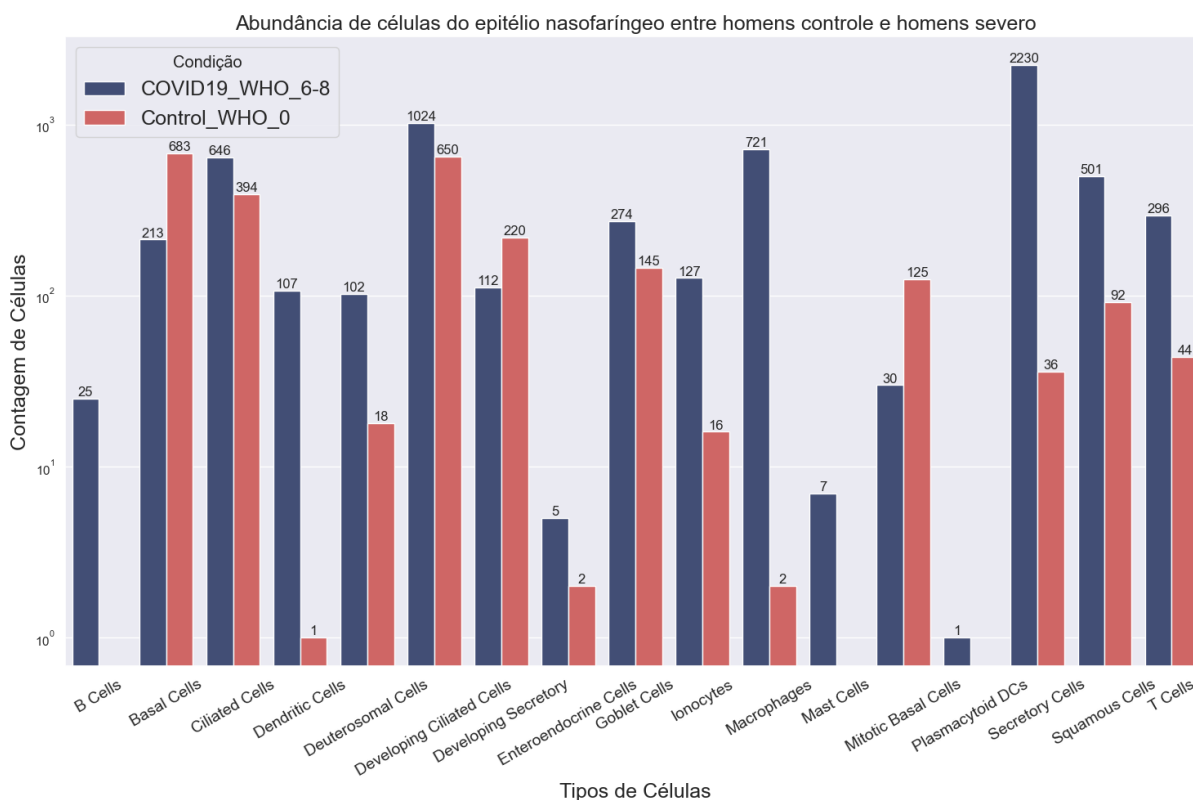


Figura 7 – Abundância global de células do epitélio nasofaríngeo de pacientes do gênero masculino nos grupos controle e severo para COVID-19

Fonte: Elaborada pelo autor.

Ainda que uma diferença acentuada possa ser observada entre as células imune do epitélio nasofaríngeo de pacientes masculino (OMS 6-8) em relação aos pacientes masculinos controle (OMS 0) (Figura 7), as análises estatísticas não demonstraram uma diferenças significativas nas abundancia de células imunes entre os dois grupos como mostrado na (Figura 8). Neste estudo, a composição das células imunes no epitélio nasal de pacientes do sexo masculino com sintomas severos de COVID-19 em comparação com indivíduos controles, observamos uma notável descoberta. Apesar das expectativas iniciais de que a infecção grave por COVID-19 poderia resultar em mudanças substanciais na composição celular do epitélio nasal, nossos resultados revelaram diferenças não significativas entre os dois grupos. Isso sugere que, em termos de células imunes presentes no epitélio nasal, a gravidade dos sintomas da COVID-19 não parece ter um impacto significativo em pacientes do sexo masculino.

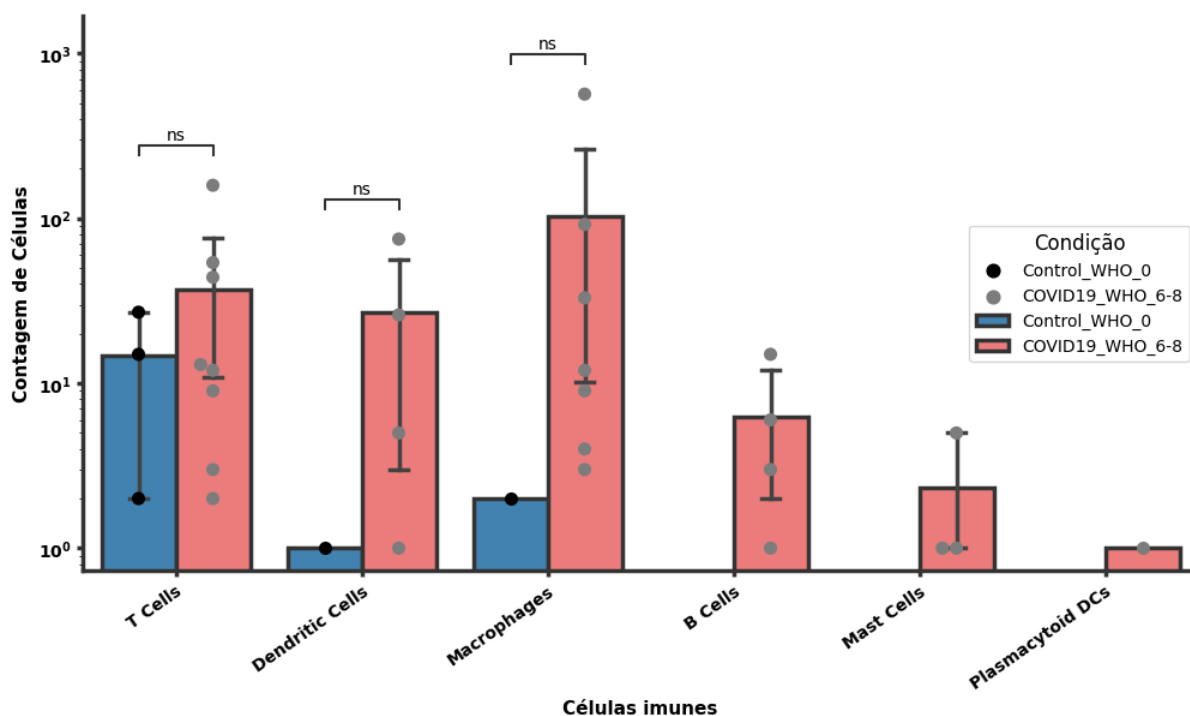


Figura 8 – Diferenças na diversidade de células imunes entre pacientes masculinos controle e masculinos diagnosticadas com COVID-19 severo. As chaves entre as Barras mostra as comparações do teste de significância estatística para os grupos de células imunes concordantes entre os grupos testados e apresentam os resultados do teste Mann-Whitney. (ns $p > 0,05$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Fonte: Elaborada pelo autor.

Outra análise comparativa entre pacientes do sexo masculino (OMS 6-8) e feminino (OMS 6-8) revelou diferenças não significativas (Figura 9). Ambos os grupos apresentaram perfis celulares semelhantes no epitélio nasal, sugerindo que a composição das células imunes nesse compartimento das vias aéreas superiores não seja significativamente influenciado pelo quadro sintomático da COVID-19 em pacientes de sexos distintos.

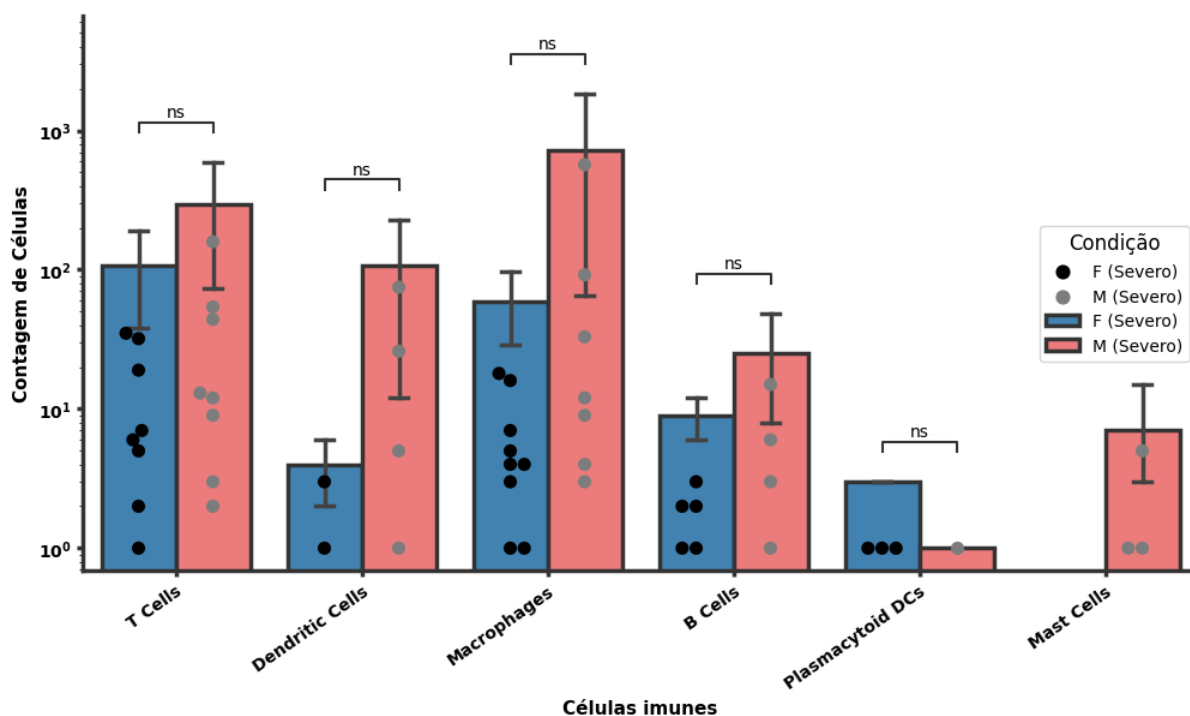


Figura 9 – Diferenças na diversidade de células imunes entre pacientes mulheres diagnosticadas com COVID-19 severo e homens diagnosticadas com COVID-19 severo.

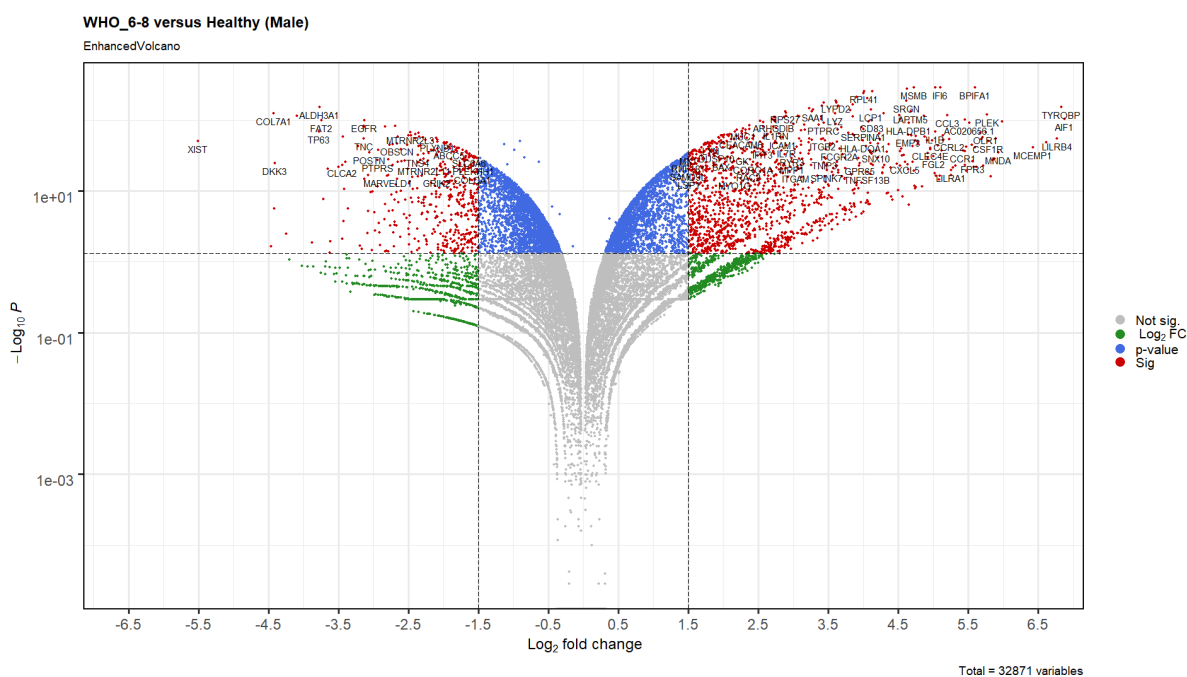
Fonte: Elaborada pelo autor.

Coletivamente, essas análises sugerem que fatores individuais e genéticos, e não a composição de células imunes no epitélio nasofaríngeo ligada à gravidade sintomática da infecção por COVID-19, podem ter um papel preponderante na variação da resposta imune em pacientes do sexo masculino. Ainda, estes achados destacam a complexidade da resposta imune à infecção por COVID-19 e indicam que fatores além do gênero podem desempenhar um papel crucial na determinação do compartimento imune e nas respostas celulares no trato respiratório superior durante a progressão da COVID-19. No entanto, é crucial ressaltar a importância de investigações adicionais para compreender completamente essa aparente homogeneidade na composição celular do epitélio nasal em pacientes masculinos e femininos com diferentes graus de gravidade da COVID-19.

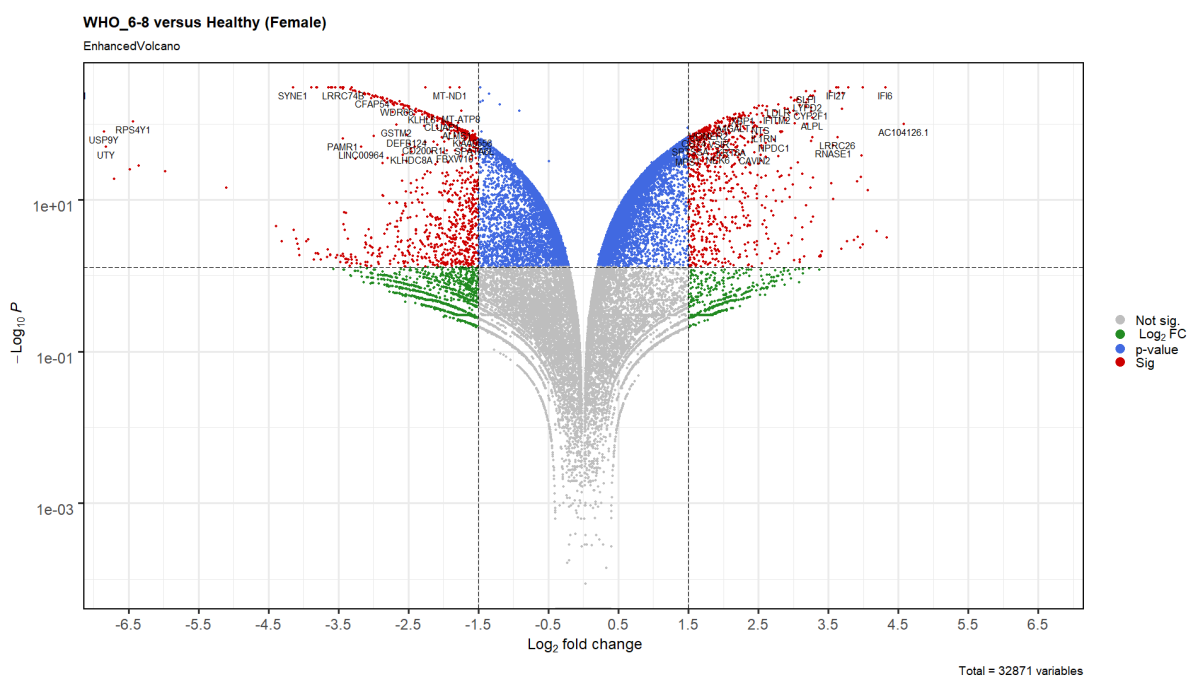
4.1.1 Análise transcriptômica e enriquecimento de genes

A análise de expressão diferencial de genes possibilitou a investigação de 2421 genes diferencialmente expressos em pacientes masculinos diagnosticados com COVID-19 severo (OMS 6-8) em relação ao seu respectivo controle masculino negativo para COVID-19 (OMS0), obtendo 456 genes regulados negativamente (*down-regulated*) e 1965 genes regulados positivamente (*up-regulated*) (Figura 10a). Já na análise de expressão diferencial de pacientes femininos diagnosticados com COVID-19 severo (OMS 6-8) em relação ao seu respectivo controle feminino negativo para COVID-19 (OMS 0), obtivemos 1701 genes diferencialmente

expressos, sendo 911 genes regulados negativamente (*down-regulated*) e 790 genes regulados positivamente (*up-regulated*) (Figura 10b).



(a) Gráfico de vulcão dos genes diferencialmente expressos no grupo masculino (OMS 6-8).



(b) Gráfico de vulcão dos genes diferencialmente expressos no grupo feminino (OMS 6-8).

Figura 10 – Gráfico de vulcão referente a análise de expressão diferencial de genes em pacientes masculino e feminino diagnosticados com COVID-19 severo (OMS 6-8).

A expressão diferencial revelou uma sobreexpressão significativa de genes no grupo masculino diagnosticado com COVID-19 (OMS 6-8), associados a resposta inflamatória, como

interleucina-6 (*IL-6*), interferon gama (*IFNG*), fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interleucina-8 (*IL-8*) e o gene amilóide sérico A1 (*SAAI*) (KUMARI *et al.*, 2016; REVA *et al.*, 2020; SHARIF *et al.*, 2020; MALLE; SODIN-SEMRL; KOVACEVIC, 2009). Isto sugere um estado pró-inflamatório exacerbado em pacientes homens. Além disso, modificações na expressão desses genes são conhecidos por estarem relacionadas a fatores que contribuem para o desenvolvimento e progressão tumoral. Nos genes regulados positivamente em pacientes mulheres (OMS 6-8), alguns estão implicados na resposta imune á infecção como genes da família *S100*, *IFI35*, *NFK-BIA*, e genes do complexo de histocompatibilidade (HLA), tais genes desempenham um papel central no sistema imunológico. A alteração na expressão destes genes podem criar um ambiente protetor com um perfil menos pró-inflamatório observado em pacientes do sexo feminino com COVID-19.

A análise de enriquecimento de conjunto de genes, realizadas a partir dos genes diferencialmente expressos (DEGs) dos grupos masculinos e femininos (Figura 11), mostrou em pacientes do sexo feminino com COVID-19 severo, várias vias biológicas desempenham um papel de destaque na resposta imune. Uma das vias cruciais é a via inflamatória mediada por citocinas, na qual a sua regulação é mediada pela superprodução de interleucina-6 (*IL-6*) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e que pode levar a uma resposta inflamatória exacerbada (SHRIHARI, 2016; HIRANO, 2021). Além disso, a ativação do sistema complemento e a resposta imune adaptativa, com ênfase na produção de anticorpos e ação de células T, são componentes fundamentais na tentativa de combater a progressão da replicação do SARS-CoV-2 (POON *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2021). A interação entre essas vias e a sua regulação podem influenciar diretamente a gravidade dos sintomas em pacientes do sexo feminino.

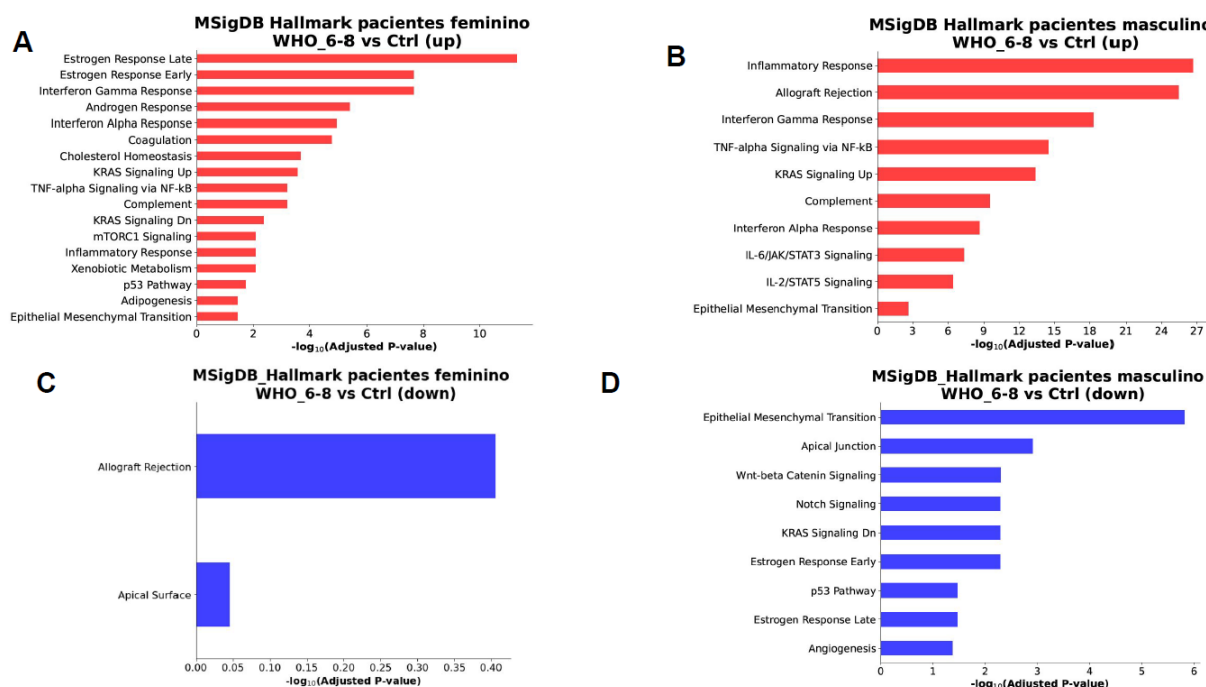


Figura 11 – Enriquecimento de vias dos DEgs homens e mulheres severos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nos pacientes do sexo masculino com COVID-19 severo, algumas vias biológicas desempenham um papel crítico na resposta imune. Destaca-se a via de resposta inflamatória sendo uma das mais relevantes neste grupo, sendo a mais expressiva em pacientes homens com sintomas críticos para COVID-19 do que em mulheres com sintomas severos para COVID-19, o que pode estar associado a uma reação inflamatória sistêmica intensa. A interação complexa entre essas vias biológicas pode ter um impacto direto na gravidade dos sintomas dependente do sexo.

DISCUSSÃO

Os tecidos do corpo humano, especialmente as membranas mucosas, enfrentam constantemente a exposição a diversos microrganismos prejudiciais e à possibilidade de doenças graves se desenvolverem (ZHANG *et al.*, 2023b). O sistema imunológico tem a tarefa de manter esses patógenos sob controle, garantindo proteção nos principais pontos de ameaça infecciosa. (LANGE; RIVERA-BALLESTEROS; BUGGERT, 2022). O SARS-CoV-2 é um vírus que inicialmente invade o trato respiratório superior, e sua primeira interação com o sistema imunológico ocorre principalmente nas membranas mucosas do sistema respiratório, que são revestida pela maior parte por células ciliadas (AHN *et al.*, 2021).

Avaliando o compartimento de células epiteliais da mucosa da nasofaringe (Figuras 5 e 7), observamos em pacientes homens e mulheres uma maior predominância de células ciliadas, ciliadas em desenvolvimento, Caliciformes. Resultados anteriores sugeriram que estas células, por estarem em maior abundância no epitélio nasofaríngeo e, ainda por expressarem altos níveis de *ACE2* e *TMPRSS2*, podendo ser os principais alvos celulares para infecção inicial do SARS-CoV-2 (ZIEGLER *et al.*, 2021; AHN *et al.*, 2021). Embora muitos estudos tratam de avaliar o tropismo viral no epitélio nasofaríngeo, ainda faltam evidências diretas sobre quais células o SARS-CoV-2 atinge preferencialmente e, como a infecção influencia o epitélio respiratório de pacientes de sexos masculino e feminino, permanece incompletamente compreendido.

A dinâmica das células imunológicas durante a doença da COVID-19, está amplamente documentada, e largamente estudada no sangue periférico e em lavado bronco-alveolar, por outro lado, é menos estudada no trato respiratório superior, onde o SARS-CoV-2 se replica nos momentos iniciais da infecção (DIAO *et al.*, 2020; MANN *et al.*, 2020; LIAO *et al.*, 2020).

Ao avaliar o compartimento celular imune da nasofaringe de pacientes mulheres e homens comparado aos seus respectivos controles (Figuras 6 e 8), é observado uma diminuição de células linfoides em mulheres com COVID-19 severo (OMS 6-8), Embora nossos resultados não tenha atingido significância estatística, estudos tem relatado um estado de linfopenia durante

a progressão da COVID-19 no sangue periférico de paciente com COVID-19 (DIAO *et al.*, 2020). No sangue de pacientes com COVID-19 grave a codificação dos longos RNAs não codificantes (*NEAT1* e *MALAT1*) estão associados a ativação de macrófagos aberrantes derivados de monócitos e na resposta prejudicada de células T (HEWITSON *et al.*, 2020). Outro estudo que investigou amostras nasofaríngeas, mostrou que macrófagos apresentaram níveis mais altos na expressão dos genes *CCL2* e *CCL3*, que são genes associados a codificação do receptor CCL3 em neutrófilos, células T e macrófagos, indicando que os macrófagos inflamatórios podem causar uma resposta inflamatória em resposta ao SARS-CoV-2 (CHUA *et al.*, 2020).

As células dendríticas são fundamentais para na resposta imune inata, e desempenham papéis importantes na resposta a infecções virais. Quando as células dendríticas entram em contato com vírus, elas são estimuladas e desempenham diferentes funções e possuindo um papel importante na resistência do organismo à invasão viral, conectando a imunidade inata e específica, orientando a resposta imune adaptativa subsequente. Avaliando as diferenças de células dendríticas em nossos resultados apresentados na Figura 6. Observamos que em mulheres com COVID-19, as células dendríticas estavam em menor número quando comparado ao controle. Estudos clínicos mostraram que a infecção por SARS-CoV-2 pode comprometer as funções das células dendríticas e diminuir sua porcentagem no sangue periférico, podendo ser resultado da citopatia em pacientes mais graves (WANG *et al.*, 2023). E Consequentemente a proliferação de células T CD4+ e CD8+ e a resposta adaptativa de células T ao SARS-CoV-2 também são prejudicadas (ZHOU *et al.*, 2020c; SAICHI *et al.*, 2021).

Em contrapartida, Ainda que esses resultados não tenham alcançado significância estatística na comparação de células imunes entre os sexos, e entre homens com COVID-19 severo seus respectivos controle. Nossos resultados mostram um aumento no compartimento de células imunes no epitélio nasofaríngeo masculino quando comparado aos seus respectivos controle (Figura 8). Além disso, também observamos um aumento de células imunes no epitélio nasofaríngeo de homens com COVID-19 severo quando comparado com pacientes do sexo feminino (Figura 9). Outro estudo realizou de uma análise longitudinal nos fenótipos de células imunes no sangue de pacientes do sexo masculino e feminino no curso de desenvolvimento da COVID-19, também revelou que não houve diferenças significativas nas frequências de conjuntos de células T entre os sexos, mas uma resposta mais significativa no sexo feminino comparado aos seus controles, apresentando um aumento de células T ativadas e células T CD8+ (TAKAHASHI *et al.*, 2020). Em conjunto esses resultados apontam para diferenças na resposta imune em diferentes tecidos. Mais estudos são necessários para determinar a composição do compartimento de células imunes em diferentes tecidos de forma a elucidar os mecanismos subjacentes relacionados a gravidade na COVID-19 entre os sexos.

A COVID-19 severa em pacientes, tanto do sexo masculino quanto feminino, está associada à ativação de várias vias biológicas que podem ter implicações no desenvolvimento de câncer a longo prazo (ZONG *et al.*, 2021). A resposta inflamatória exacerbada mediada por

citocinas, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), é uma característica proeminente em casos graves da doença, criando um ambiente pró-inflamatório crônico (PEDERSEN; HO *et al.*, 2020). Inflamação persistente tem sido associada a processos carcinogênicos em diversos contextos (COUSSENS; WERB, 2002; SINGH *et al.*, 2019). Além disso, a supressão da resposta imune adaptativa, que ocorre em alguns pacientes com COVID-19 severo, juntamente com a resposta suprimida da via p53 que desempenha um papel crucial na prevenção do câncer, podendo permitir o crescimento descontrolado de células potencialmente cancerígenas em pacientes diagnosticados previamente com câncer (VESELY *et al.*, 2011; MEEK, 2009). Embora a relação direta entre a COVID-19 severa e o câncer ainda exija estudos adicionais, a ativação dessas vias biológicas sugere a importância de monitorar e avaliar o risco de câncer em pacientes que se recuperaram de casos graves da COVID-19.

Ao comparar as vias enriquecidas positivamente entre homens e mulheres, identificamos um maior número de vias pró-inflamatórias em homens infectados, quando comparado a mulheres infectadas. Que é explicado pela via de resposta inflamatória, que foi mais significativa em homens com sintomas severos (OMS 6-8) (Figura 11). Em estudos recentes, foi relatado diferenças entre os gêneros feminino e masculino em resposta à infecções por SARS-CoV-2, com pacientes do sexo masculino necessitando de cuidados mais intensivos e com maior índice de mortalidade do que pacientes femininos (GADI *et al.*, 2020; WENHAM; SMITH; MORGAN, 2020; STADIO *et al.*, 2020)).

A literatura discute que a modulação de (AR) por andrógenos masculinos como a testosterona e dihidrotestosterona pode desempenhar um papel protetor em homens mais jovens (DAVEY; GROSSMANN, 2016), modulando negativamente a expressão e a função de citocinas inflamatórias, incluindo IL-6, IL -1 β e TNF- α (TRAISH *et al.*, 2018). com isso, ocorre o recrutamento de linfócitos T reguladores (Tregs) para sítios de infecção e diferenciação de Th17, atenuando assim a pró-inflamatória. Por outro lado, o envelhecimento pode prejudicar a resposta imune ao SARS-CoV-2, principalmente em pacientes homens, em que os níveis fisiológicos de testosterona mais baixos levam a uma resposta imune atenuada, podendo permitir uma infecção sistêmica (sepsis), levando esses pacientes a piores desfechos clínicos (SALONIA *et al.*, 2021). Esses resultados estão de acordo com nossos achados, evidenciado pelo perfil pró-inflamatório de vias enriquecidas para pacientes masculinos classificados como severos (OMS 6-8).

As vias enriquecidas à resposta de estrógenos e andrógenos para pacientes do grupo feminino demonstrada na (Figura 11), pode ter uma explicação atribuída em parte, pela sinalização por hormônios sexuais femininos, por exemplo, estradiol, progesterona, testosterona (JAILLON; BERTHENET; GARLANDA, 2019), em resposta a infecção por SARS-CoV-2. Progesterona tem a função de modular as respostas imunes, ligando-se aos seus receptores de progesterona localizados em células imunes e não imunes, como células epiteliais e endoteliais do trato respiratório, modulando a sinalização celular e a atividade contra infecções (HALL; KLEIN, 2017). Desta forma, evidenciando uma menor suscetibilidade à infecções por SARS-Cov-2 em

pacientes do gênero feminino.

A ativação da via JAK-STAT mediadas de IL-6, IFN-Alfa e IFN-gama, e estar implicada na tumorigênese do câncer, ainda podendo ser um fator comum em mecanismos de evasão imunológica em muitos tipos de cânceres, contrastando com nossos achados (Figura 11). Por exemplo, a ativação de IL-6/JAK/STAT aumenta a metástase por meio da indução de transição Epitélio Mesenquimal (EMT) pela supra regulação de fatores de transcrição indutores de EMT (EMT-TFs, Zeb1, JUNB e Twist-1) aumentando a motilidade celular via cinase de adesão focal (FAK). No Câncer de Próstata, a IL-6/JAK/STAT parácrina estimula a alça autócrina da IL-6 e promove a ativação de IGF-IR induzida por IL-6 e IGF aumenta a Transição Epitélio Mesenquimal por meio do eixo STAT3/ NANOG/Slug (ZHANG *et al.*, 2014). A relação direta entre a COVID-19 severa e o câncer ainda necessita de estudos adicionais para melhor compressão dos fatores que apresentam uma correlação entre as duas doenças. Estudos tem instigado para a produção de pratica padrão para compreensão da patologia da COVID-19 separadas por sexo, não apenas para elucidar a patogênese diferencial da doença, mas também para permitir uma compreensão mais profunda e o eventual desenvolvimento de melhores estratégias de tratamento e prevenção (TAKAHASHI; IWASAKI, 2021). Nossos resultados, são complementares a trabalhos anteriores (ZIEGLER *et al.*, 2021; SUNGNAK *et al.*, 2020; CHUA *et al.*, 2020), apresentando uma análise sistemática entre paciente do gênero masculino e feminino. Nós Realizamos uma comparação lado a lado, para investigar as diferenças na expressão de genes, e nas vias de sinalização que podem responder a estímulos androgênicos, e construindo um repertório de assinaturas genéticas associadas a gravidade da COVID-19 em homens e mulheres e que podem colaborar com o desenvolvimento do câncer, bem como elucidar alguns dos mecanismos moleculares que levam dimorfismo sexual na resposta imune ao SARS-CoV-2.

CONCLUSÃO

Este estudo abordou algumas das diferenças celulares na resposta imunológica no epitélio nasal relacionadas à gravidade em homens e mulheres com COVID-19. A modulação hormonal, particularmente envolvendo hormônios sexuais como testosterona, dihidrotestosterona, estradiol e progesterona, é conhecida por ser crucial na formação das respostas imunológicas. Androgênios, como testosterona e dihidrotestosterona, podem desempenhar um papel protetor em homens mais jovens, atenuando a resposta imunológica pró-inflamatória. No entanto, as alterações relacionadas ao envelhecimento podem prejudicar as respostas imunológicas, levando potencialmente a resultados clínicos piores para a COVID-19 em pacientes do sexo masculino. Por outro lado, hormônios sexuais femininos, incluindo estradiol e progesterona, podem contribuir para uma menor suscetibilidade às infecções por SARS-CoV-2, modulando favoravelmente as respostas imunológicas.

Além disso, constatamos que pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19 grave apresentaram a ativação de vias biológicas associadas ao desenvolvimento de câncer, sugerindo a importância de monitorar o risco de câncer em pacientes recuperados. A relação precisa entre COVID-19 grave e câncer requer investigações adicionais com base em algumas das abordagens utilizadas neste estudo. Em resumo, esta pesquisa demonstrou que a resposta imunológica à COVID-19 é altamente complexa e influenciada por vários fatores desconhecidos, incluindo hormônios sexuais e diferenças genéticas intrínsecas. Embora haja algumas variações na composição das células imunológicas entre pacientes do sexo masculino e feminino com COVID-19, essas diferenças não afetam significativamente a gravidade dos sintomas, sugerindo que determinantes como genética individual ou comorbidades desconhecidas podem estar moldando a resposta imunológica nos pacientes. A modulação hormonal, particularmente a modulação androgênica em homens e as respostas hormonais em mulheres, também pode estar contribuindo para essas variações. Finalmente, este estudo destaca a necessidade de pesquisas adicionais para compreender a possível conexão entre COVID-19 grave e câncer, uma vez que pacientes de ambos os sexos com COVID-19 grave apresentaram ativação de vias relacionadas

ao desenvolvimento de câncer.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, M.; CHAI, P.-S.; CHONG, M.-Y.; TOHIT, E. R. M.; RAMASAMY, R.; PEI, C. P.; VIDYADARAN, S. Gender effect on in vitro lymphocyte subset levels of healthy individuals. **Cellular immunology**, Elsevier, v. 272, n. 2, p. 214–219, 2012. Citado na página 32.

AHN, J. H.; KIM, J.; HONG, S. P.; CHOI, S. Y.; YANG, M. J.; JU, Y. S.; KIM, Y. T.; KIM, H. M.; RAHMAN, M. T.; CHUNG, M. K. *et al.* Nasal ciliated cells are primary targets for sars-cov-2 replication in the early stage of covid-19. **The Journal of clinical investigation**, Am Soc Clin Investig, v. 131, n. 13, 2021. Citado na página 53.

ALI, A.; FEU, A. D.; OLIVEIRA, P.; CHOUDHURY, A.; BRISTOW, R. G.; BAENA, E. Prostate zones and cancer: lost in transition? **Nature Reviews Urology**, Nature Publishing Group UK London, v. 19, n. 2, p. 101–115, 2022. Citado nas páginas 33 e 34.

ARBOUR, N.; DAY, R.; NEWCOMBE, J.; TALBOT, P. J. Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses. **Journal of virology**, Am Soc Microbiol, v. 74, n. 19, p. 8913–8921, 2000. Citado na página 19.

ARUNACHALAM, P. S.; WIMMERS, F.; MOK, C. K. P.; PERERA, R. A.; SCOTT, M.; HAGAN, T.; SIGAL, N.; FENG, Y.; BRISTOW, L.; TSANG, O. T.-Y. *et al.* Systems biological assessment of immunity to mild versus severe covid-19 infection in humans. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 369, n. 6508, p. 1210–1220, 2020. Citado nas páginas 28 e 29.

ASSIRI, A.; AL-TAWFIQ, J. A.; AL-RABEEAH, A. A.; AL-RABIAH, F. A.; AL-HAJJAR, S.; AL-BARRAK, A.; FLEMBAN, H.; AL-NASSIR, W. N.; BALKHY, H. H.; AL-HAKEEM, R. F. *et al.* Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of middle east respiratory syndrome coronavirus disease from saudi arabia: a descriptive study. **The Lancet infectious diseases**, Elsevier, v. 13, n. 9, p. 752–761, 2013. Citado na página 24.

AYOUB, H. H.; CHEMAITELLY, H.; MUMTAZ, G. R.; SEEDAT, S.; AWAD, S. F.; MAKHOUL, M.; ABU-RADDAD, L. J. Characterizing key attributes of covid-19 transmission dynamics in china’s original outbreak: model-based estimations. **Global Epidemiology**, Elsevier, v. 2, p. 100042, 2020. Citado na página 25.

BAROUCH, D. H. Covid-19 vaccines—immunity, variants, boosters. **New England Journal of Medicine**, Mass Medical Soc, v. 387, n. 11, p. 1011–1020, 2022. Citado na página 20.

BLANCO-MELO, D.; NILSSON-PAYANT, B. E.; LIU, W.-C.; UHL, S.; HOAGLAND, D.; MØLLER, R.; JORDAN, T. X.; OISHI, K.; PANIS, M.; SACHS, D. *et al.* Imbalanced host response to sars-cov-2 drives development of covid-19. **Cell**, Elsevier, v. 181, n. 5, p. 1036–1045, 2020. Citado nas páginas 28 e 29.

BRANCHFIELD, K.; NANTIE, L.; VERHEYDEN, J. M.; SUI, P.; WIENHOLD, M. D.; SUN, X. Pulmonary neuroendocrine cells function as airway sensors to control lung immune response. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 351, n. 6274, p. 707–710, 2016. Citado na página 34.

BRICEÑO, O.; LISSINA, A.; WANKE, K.; AFONSO, G.; BRAUN, A. V.; RAGON, K.; MIQUEL, T.; GOSTICK, E.; PAPAGNO, L.; STIASNY, K. *et al.* Reduced naïve cd 8+ t-cell priming efficacy in elderly adults. **Aging cell**, Wiley Online Library, v. 15, n. 1, p. 14–21, 2016. Citado nas páginas 30 e 31.

BRIDGES, J. P.; VLADAR, E. K.; HUANG, H.; MASON, R. J. Respiratory epithelial cell responses to sars-cov-2 in covid-19. **Thorax**, BMJ Publishing Group Ltd, v. 77, n. 2, p. 203–209, 2022. Citado nas páginas 28 e 37.

BROUWER, P. J.; CANIELS, T. G.; STRATEN, K. van der; SNITSELAAR, J. L.; ALDON, Y.; BANGARU, S.; TORRES, J. L.; OKBA, N. M.; CLAIREAUX, M.; KERSTER, G. *et al.* Potent neutralizing antibodies from covid-19 patients define multiple targets of vulnerability. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 369, n. 6504, p. 643–650, 2020. Citado na página 30.

BUNDERS, M. J.; ALTFELD, M. Implications of sex differences in immunity for sars-cov-2 pathogenesis and design of therapeutic interventions. **Immunity**, Elsevier, v. 53, n. 3, p. 487–495, 2020. Citado nas páginas 31 e 38.

BUTLER, M. J.; BARRIENTOS, R. M. The impact of nutrition on covid-19 susceptibility and long-term consequences. **Brain, behavior, and immunity**, Elsevier, v. 87, p. 53–54, 2020. Citado na página 25.

CAMPBELL, G. R.; TO, R. K.; HANNA, J.; SPECTOR, S. A. Sars-cov-2, sars-cov-1, and hiv-1 derived ssrna sequences activate the nlrp3 inflammasome in human macrophages through a non-classical pathway. **Isience**, Elsevier, v. 24, n. 4, p. 102295, 2021. Citado na página 29.

CARVALHO, T.; KRAMMER, F.; IWASAKI, A. The first 12 months of covid-19: a timeline of immunological insights. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group UK London, v. 21, n. 4, p. 245–256, 2021. Citado na página 19.

CASANOVA, J.-L.; SU, H. C.; ABEL, L.; AIUTI, A.; ALMUHSEN, S.; ARIAS, A. A.; BASTARD, P.; BIGGS, C.; BOGUNOVIC, D.; BOISSON, B. *et al.* A global effort to define the human genetics of protective immunity to sars-cov-2 infection. **Cell**, Elsevier, v. 181, n. 6, p. 1194–1199, 2020. Citado na página 28.

CAVANAGH, D. Nidovirales: a new order comprising coronaviridae and arteriviridae. **Archives of virology**, v. 142, n. 3, p. 629–633, 1997. Citado na página 19.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. 03 2023. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>>. Citado na página 20.

CHAKRABORTY, S.; GONZALEZ, J.; EDWARDS, K.; MALLAJOSYULA, V.; BUZZANCO, A. S.; SHERWOOD, R.; BUFFONE, C.; KATHALE, N.; PROVIDENZA, S.; XIE, M. M. *et al.* Proinflammatory igg fc structures in patients with severe covid-19. **Nature immunology**, Nature Publishing Group US New York, v. 22, n. 1, p. 67–73, 2021. Citado na página 31.

CHAKRABORTY, S.; MALLAJOSYULA, V.; TATO, C. M.; TAN, G. S.; WANG, T. T. Sars-cov-2 vaccines in advanced clinical trials: Where do we stand? **Advanced drug delivery reviews**, Elsevier, v. 172, p. 314–338, 2021. Citado na página 25.

- CHAN, J. F.-W.; KOK, K.-H.; ZHU, Z.; CHU, H.; TO, K. K.-W.; YUAN, S.; YUEN, K.-Y. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting wuhan. **Emerging microbes & infections**, Taylor & Francis, v. 9, n. 1, p. 221–236, 2020. Citado na página 22.
- CHEN, E. Y.; TAN, C. M.; KOU, Y.; DUAN, Q.; WANG, Z.; MEIRELLES, G. V.; CLARK, N. R.; MA'AYAN, A. Enrichr: interactive and collaborative html5 gene list enrichment analysis tool. **BMC bioinformatics**, BioMed Central, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2013. Citado na página 42.
- CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X.; QU, J.; GONG, F.; HAN, Y.; QIU, Y.; WANG, J.; LIU, Y.; WEI, Y. *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in wuhan, china: a descriptive study. **The lancet**, Elsevier, v. 395, n. 10223, p. 507–513, 2020. Citado nas páginas 23 e 24.
- CHLAMYDAS, S.; MARKOULI, M.; STREPKOS, D.; PIPERI, C. Epigenetic mechanisms regulate sex-specific bias in disease manifestations. **Journal of Molecular Medicine**, Springer, v. 100, n. 8, p. 1111–1123, 2022. Citado na página 27.
- CHUA, R. L.; LUKASSEN, S.; TRUMP, S.; HENNIG, B. P.; WENDISCH, D.; POTT, F.; DEBNATH, O.; THÜRMAN, L.; KURTH, F.; VÖLKER, M. T. *et al.* Covid-19 severity correlates with airway epithelium–immune cell interactions identified by single-cell analysis. **Nature biotechnology**, Nature Publishing Group US New York, v. 38, n. 8, p. 970–979, 2020. Citado nas páginas 54 e 56.
- CIARAMBINO, T.; PARA, O.; GIORDANO, M. Immune system and covid-19 by sex differences and age. **Women's Health**, SAGE Publications Sage UK: London, England, v. 17, p. 17455065211022262, 2021. Citado na página 31.
- CONSORTIA, C. Z. I. S.-C. C.-.; BALLESTAR, E.; FARBER, D. L.; GLOVER, S.; HORWITZ, B.; MEYER, K.; NIKOLIĆ, M.; ORDOVAS-MONTANES, J.; SIMS, P.; SHALEK, A. *et al.* Single cell profiling of covid-19 patients: an international data resource from multiple tissues. **MedRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory Press, p. 2020–11, 2020. Citado na página 37.
- COSAR, B.; KARAGULLEOGLU, Z. Y.; UNAL, S.; INCE, A. T.; UNCUOGLU, D. B.; TUNCER, G.; KILINC, B. R.; OZKAN, Y. E.; OZKOC, H. C.; DEMIR, I. N. *et al.* Sars-cov-2 mutations and their viral variants. **Cytokine & growth factor reviews**, Elsevier, v. 63, p. 10–22, 2022. Citado na página 20.
- COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, Nature Publishing Group UK London, v. 420, n. 6917, p. 860–867, 2002. Citado na página 55.
- DAVEY, R. A.; GROSSMANN, M. Androgen receptor structure, function and biology: from bench to bedside. **The clinical biochemist reviews**, Australasian Association for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, v. 37, n. 1, p. 3, 2016. Citado na página 55.
- DAVIS, J. D.; WYPYCH, T. P. Cellular and functional heterogeneity of the airway epithelium. **Mucosal immunology**, Elsevier, v. 14, n. 5, p. 978–990, 2021. Citado nas páginas 33 e 34.
- DIAO, B.; WANG, C.; TAN, Y.; CHEN, X.; LIU, Y.; NING, L.; CHEN, L.; LI, M.; LIU, Y.; WANG, G. *et al.* Reduction and functional exhaustion of t cells in patients with coronavirus disease 2019 (covid-19). **Frontiers in immunology**, Frontiers, p. 827, 2020. Citado nas páginas 53 e 54.

- DUFFY, S.; SHACKELTON, L. A.; HOLMES, E. C. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. **Nature Reviews Genetics**, Nature Publishing Group UK London, v. 9, n. 4, p. 267–276, 2008. Citado na página 20.
- FAN, H.; DONG, G.; ZHAO, G.; LIU, F.; YAO, G.; ZHU, Y.; HOU, Y. Gender differences of b cell signature in healthy subjects underlie disparities in incidence and course of sle related to estrogen. **Journal of immunology research**, Hindawi, v. 2014, 2014. Citado na página 32.
- FAUCI, A. S.; LANE, H. C.; REDFIELD, R. R. **Covid-19—navigating the uncharted**. [S.l.]: Mass Medical Soc, 2020. 1268–1269 p. Citado nas páginas 19 e 25.
- FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. **Coronaviruses: methods and protocols**, Springer, p. 1–23, 2015. Citado na página 21.
- GADI, N.; WU, S. C.; SPIHLMAN, A. P.; MOULTON, V. R. What’s sex got to do with covid-19? gender-based differences in the host immune response to coronaviruses. **Frontiers in immunology**, Frontiers, v. 11, p. 2147, 2020. Citado na página 55.
- GAO, Y.; LI, T.; HAN, M.; LI, X.; WU, D.; XU, Y.; ZHU, Y.; LIU, Y.; WANG, X.; WANG, L. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe covid-19. **Journal of medical virology**, Wiley Online Library, v. 92, n. 7, p. 791–796, 2020. Citado na página 25.
- GAO, Y.-d.; DING, M.; DONG, X.; ZHANG, J.-j.; AZKUR, A. K.; AZKUR, D.; GAN, H.; SUN, Y.-l.; FU, W.; LI, W. *et al.* Risk factors for severe and critically ill covid-19 patients: a review. **Allergy**, Wiley Online Library, v. 76, n. 2, p. 428–455, 2021. Citado nas páginas 25 e 26.
- GEBHARD, C.; REGITZ-ZAGROSEK, V.; NEUHAUSER, H. K.; MORGAN, R.; KLEIN, S. L. Impact of sex and gender on covid-19 outcomes in europe. **Biology of sex differences**, Springer, v. 11, p. 1–13, 2020. Citado na página 31.
- GIAGULLI, V. A.; GUASTAMACCHIA, E.; MAGRONE, T.; JIRILLO, E.; LISCO, G.; PERGOLA, G. D.; TRIGGIANI, V. Worse progression of covid-19 in men: is testosterone a key factor? **Andrology**, Wiley Online Library, v. 9, n. 1, p. 53–64, 2021. Citado na página 31.
- GORBALENYA, A. E.; BAKER, S. C.; BARIC, R. S.; GROOT, R. J. de; DROSTEN, C.; GULYAEVA, A. A.; HAAGMANS, B. L.; LAUBER, C.; LEONTOVICH, A. M.; NEUMAN, B. W. *et al.* The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-ncov and naming it sars-cov-2. **Nature microbiology**, Nature Publishing Group, v. 5, n. 4, p. 536–544, 2020. Citado na página 18.
- GRALINSKI, L. E.; MENACHERY, V. D. Return of the coronavirus: 2019-ncov. **Viruses**, MDPI, v. 12, n. 2, p. 135, 2020. Citado na página 18.
- GRIFONI, A.; WEISKOPF, D.; RAMIREZ, S. I.; MATEUS, J.; DAN, J. M.; MODERBACHER, C. R.; RAWLINGS, S. A.; SUTHERLAND, A.; PREMKUMAR, L.; JADI, R. S. *et al.* Targets of t cell responses to sars-cov-2 coronavirus in humans with covid-19 disease and unexposed individuals. **Cell**, Elsevier, v. 181, n. 7, p. 1489–1501, 2020. Citado na página 29.
- GUAN, W.-j.; NI, Z.-y.; HU, Y.; LIANG, W.-h.; OU, C.-q.; HE, J.-x.; LIU, L.; SHAN, H.; LEI, C.-l.; HUI, D. S. *et al.* Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in china. **New England journal of medicine**, Mass Medical Soc, v. 382, n. 18, p. 1708–1720, 2020. Citado nas páginas 24, 25 e 38.

GUO, Q.; ZHAO, Y.; LI, J.; LIU, J.; YANG, X.; GUO, X.; KUANG, M.; XIA, H.; ZHANG, Z.; CAO, L. *et al.* Induction of alarmin s100a8/a9 mediates activation of aberrant neutrophils in the pathogenesis of covid-19. **Cell host & microbe**, Elsevier, v. 29, n. 2, p. 222–235, 2021. Citado na página 28.

HALL, O. J.; KLEIN, S. L. Progesterone-based compounds affect immune responses and susceptibility to infections at diverse mucosal sites. **Mucosal Immunology**, Elsevier, v. 10, n. 5, p. 1097–1107, 2017. Citado na página 55.

HENRY, G. H.; MALEWSKA, A.; JOSEPH, D. B.; MALLADI, V. S.; LEE, J.; TORREALBA, J.; MAUCK, R. J.; GAHAN, J. C.; RAJ, G. V.; ROEHRBORN, C. G. *et al.* A cellular anatomy of the normal adult human prostate and prostatic urethra. **Cell reports**, Elsevier, v. 25, n. 12, p. 3530–3542, 2018. Citado nas páginas 32 e 33.

HEUMOS, L.; SCHAAR, A. C.; LANCE, C.; LITINETSKAYA, A.; DROST, F.; ZAPPIA, L.; LÜCKEN, M. D.; STROBL, D. C.; HENAO, J.; CURION, F. *et al.* Best practices for single-cell analysis across modalities. **Nature Reviews Genetics**, Nature Publishing Group UK London, p. 1–23, 2023. Citado nas páginas 39 e 42.

HEWITSON, J. P.; WEST, K. A.; JAMES, K. R.; RANI, G. F.; DEY, N.; ROMANO, A.; BROWN, N.; TEICHMANN, S. A.; KAYE, P. M.; LAGOS, D. Malat1 suppresses immunity to infection through promoting expression of maf and il-10 in th cells. **The Journal of Immunology**, American Association of Immunologists, v. 204, n. 11, p. 2949–2960, 2020. Citado na página 54.

HEWITT, R. J.; LLOYD, C. M. Regulation of immune responses by the airway epithelial cell landscape. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group UK London, v. 21, n. 6, p. 347–362, 2021. Citado na página 32.

HIRANO, T. Il-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. **International immunology**, Oxford University Press UK, v. 33, n. 3, p. 127–148, 2021. Citado na página 51.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; KRÜGER, N.; HERRLER, T.; ERICHSEN, S.; SCHIERGENS, T. S.; HERRLER, G.; WU, N.-H.; NITSCHKE, A. *et al.* Sars-cov-2 cell entry depends on ace2 and tmprss2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **cell**, Elsevier, v. 181, n. 2, p. 271–280, 2020. Citado nas páginas 22, 26 e 38.

HOLTER, J. C.; PISCHKE, S. E.; BOER, E. de; LIND, A.; JENUM, S.; HOLTEN, A. R.; TONBY, K.; BARRATT-DUE, A.; SOKOLOVA, M.; SCHJALM, C. *et al.* Systemic complement activation is associated with respiratory failure in covid-19 hospitalized patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 117, n. 40, p. 25018–25025, 2020. Citado na página 30.

HU, J.; HE, C.-L.; GAO, Q.-Z.; ZHANG, G.-J.; CAO, X.-X.; LONG, Q.-X.; DENG, H.-J.; HUANG, L.-Y.; CHEN, J.; WANG, K. *et al.* D614g mutation of sars-cov-2 spike protein enhances viral infectivity. **BioRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory, p. 2020–06, 2020. Citado na página 20.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y.; ZHANG, L.; FAN, G.; XU, J.; GU, X. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in wuhan, china. **The lancet**, Elsevier, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020. Citado nas páginas 23, 24, 26 e 39.

ISABEL, S.; GRAÑA-MIRAGLIA, L.; GUTIERREZ, J. M.; BUNDALOVIC-TORMA, C.; GROVES, H. E.; ISABEL, M. R.; ESHAGHI, A.; PATEL, S. N.; GUBBAY, J. B.; POUTANEN, T. *et al.* Evolutionary and structural analyses of sars-cov-2 d614g spike protein mutation now documented worldwide. **Scientific reports**, Nature Publishing Group UK London, v. 10, n. 1, p. 14031, 2020. Citado na página 20.

IWASAKI, A.; FOXMAN, E. F.; MOLONY, R. D. Early local immune defences in the respiratory tract. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group UK London, v. 17, n. 1, p. 7–20, 2017. Citado na página 43.

JACKSON, C. B.; FARZAN, M.; CHEN, B.; CHOE, H. Mechanisms of sars-cov-2 entry into cells. **Nature reviews Molecular cell biology**, Nature Publishing Group UK London, v. 23, n. 1, p. 3–20, 2022. Citado na página 23.

JACOBS, J. L.; HAIDAR, G.; MELLORS, J. W. Covid-19: challenges of viral variants. **Annual Review of Medicine**, Annual Reviews, v. 74, p. 31–53, 2023. Citado na página 20.

JAILLON, S.; BERTHENET, K.; GARLANDA, C. Sexual dimorphism in innate immunity. **Clinical reviews in allergy & immunology**, Springer, v. 56, p. 308–321, 2019. Citado na página 55.

JO, E.-K.; KIM, J. K.; SHIN, D.-M.; SASAKAWA, C. Molecular mechanisms regulating nlrp3 inflammasome activation. **Cellular & molecular immunology**, Nature Publishing Group, v. 13, n. 2, p. 148–159, 2016. Citado na página 29.

JOHNSON, N. P.; MUELLER, J. Updating the accounts: global mortality of the 1918–1920 "spanish" influenza pandemic. **Bulletin of the History of Medicine**, JSTOR, p. 105–115, 2002. Citado na página 19.

KAIN, T.; FOWLER, R. Preparing intensive care for the next pandemic influenza. **Critical Care**, BioMed Central, v. 23, n. 1, p. 1–9, 2019. Citado na página 19.

KANEKO, N.; KUO, H.-H.; BOUCAU, J.; FARMER, J. R.; ALLARD-CHAMARD, H.; MAHAJAN, V. S.; PIECHOCKA-TROCHA, A.; LEFTERI, K.; OSBORN, M.; BALS, J. *et al.* Loss of bcl-6-expressing t follicular helper cells and germinal centers in covid-19. **Cell**, Elsevier, v. 183, n. 1, p. 143–157, 2020. Citado na página 30.

KANNEGANTI, T.-D. Intracellular innate immune receptors: Life inside the cell. **Immunological reviews**, NIH Public Access, v. 297, n. 1, p. 5, 2020. Citado na página 27.

KARTHAUS, W. R.; HOFREE, M.; CHOI, D.; LINTON, E. L.; TURKEKUL, M.; BEJNOOD, A.; CARVER, B.; GOPALAN, A.; ABIDA, W.; LAUDONE, V. *et al.* Regenerative potential of prostate luminal cells revealed by single-cell analysis. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 368, n. 6490, p. 497–505, 2020. Citado na página 33.

KESWANI, A.; DHANA, K.; ROSENTHAL, J. A.; MOORE, D.; MAHDAVINIA, M. Atopy is predictive of a decreased need for hospitalization for coronavirus disease 2019. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, Elsevier, v. 125, n. 4, p. 479–481, 2020. Citado na página 25.

KHANMOHAMMADI, S.; REZAEI, N. Role of toll-like receptors in the pathogenesis of covid-19. **Journal of medical virology**, Wiley Online Library, v. 93, n. 5, p. 2735–2739, 2021. Citado na página 27.

KIRTIPAL, N.; BHARADWAJ, S.; KANG, S. G. From sars to sars-cov-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. **Infection, Genetics and Evolution**, Elsevier, v. 85, p. 104502, 2020. Citado nas páginas 13, 19, 21, 22 e 23.

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group UK London, v. 16, n. 10, p. 626–638, 2016. Citado nas páginas 26, 31 e 32.

KLEIN, S. L.; MARRIOTT, I.; FISH, E. N. Sex-based differences in immune function and responses to vaccination. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford University Press, v. 109, n. 1, p. 9–15, 2015. Citado na página 31.

KORBER, B.; FISCHER, W. M.; GNANAKARAN, S.; YOON, H.; THEILER, J.; ABFALTERER, W.; HENGARTNER, N.; GIORGI, E. E.; BHATTACHARYA, T.; FOLEY, B. *et al.* Tracking changes in sars-cov-2 spike: evidence that d614g increases infectivity of the covid-19 virus. **Cell**, Elsevier, v. 182, n. 4, p. 812–827, 2020. Citado na página 20.

KUMAR, S.; NYODU, R.; MAURYA, V. K.; SAXENA, S. K. Host immune response and immunobiology of human sars-cov-2 infection. **Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutics**, Springer, p. 43–53, 2020. Citado na página 28.

KUMARI, N.; DWARAKANATH, B.; DAS, A.; BHATT, A. N. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. **Tumor Biology**, Springer, v. 37, p. 11553–11572, 2016. Citado na página 51.

KURI-CERVANTES, L.; PAMPENA, M. B.; MENG, W.; ROSENFELD, A. M.; ITTNER, C. A.; WEISMAN, A. R.; AGYEKUM, R. S.; MATHEW, D.; BAXTER, A. E.; VELLA, L. A. *et al.* Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe covid-19. **Science immunology**, American Association for the Advancement of Science, v. 5, n. 49, p. eabd7114, 2020. Citado na página 30.

KURIAKOSE, T.; MAN, S. M.; MALIREDDI, R. S.; KARKI, R.; KESAVARDHANA, S.; PLACE, D. E.; NEALE, G.; VOGEL, P.; KANNEGANTI, T.-D. Zbp1/dai is an innate sensor of influenza virus triggering the nlrp3 inflammasome and programmed cell death pathways. **Science immunology**, American Association for the Advancement of Science, v. 1, n. 2, p. aag2045–aag2045, 2016. Citado na página 27.

KWON, O.-J.; ZHANG, L.; JIA, D.; XIN, L. Sox2 is necessary for androgen ablation-induced neuroendocrine differentiation from pten null sca-1+ prostate luminal cells. **Oncogene**, Nature Publishing Group UK London, v. 40, n. 1, p. 203–214, 2021. Citado na página 34.

LAILAW, B. J.; ELLEBEDY, A. H. The germinal centre b cell response to sars-cov-2. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group UK London, v. 22, n. 1, p. 7–18, 2022. Citado na página 30.

LAING, A. G.; LORENC, A.; BARRIO, I. D. M. D.; DAS, A.; FISH, M.; MONIN, L.; MUÑOZ-RUIZ, M.; MCKENZIE, D. R.; HAYDAY, T. S.; FRANCOS-QUIJORNA, I. *et al.* A dynamic covid-19 immune signature includes associations with poor prognosis. **Nature medicine**, Nature Publishing Group US New York, v. 26, n. 10, p. 1623–1635, 2020. Citado na página 26.

LANGE, J.; RIVERA-BALLESTEROS, O.; BUGGERT, M. Human mucosal tissue-resident memory t cells in health and disease. **Mucosal immunology**, Elsevier, v. 15, n. 3, p. 389–397, 2022. Citado nas páginas 43 e 53.

LAURING, A. S.; MALANI, P. N. Variants of SARS-CoV-2. **JAMA**, v. 326, n. 9, p. 880–880, 09 2021. ISSN 0098-7484. Disponível em: <<https://doi.org/10.1001/jama.2021.14181>>. Citado na página 20.

LEE, M. H.; PERL, D. P.; STEINER, J.; PASTERNAK, N.; LI, W.; MARIC, D.; SAFAVI, F.; HORKAYNE-SZAKALY, I.; JONES, R.; STRAM, M. N. *et al.* Neurovascular injury with complement activation and inflammation in covid-19. **Brain**, Oxford University Press, v. 145, n. 7, p. 2555–2568, 2022. Citado na página 30.

LEE, N.; HUI, D.; WU, A.; CHAN, P.; CAMERON, P.; JOYNT, G. M.; AHUJA, A.; YUNG, M. Y.; LEUNG, C.; TO, K. *et al.* A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in hong kong. **New England Journal of Medicine**, Mass Medical Soc, v. 348, n. 20, p. 1986–1994, 2003. Citado na página 24.

LEI, Q.; YU, C.-z.; LI, Y.; HOU, H.-y.; XU, Z.-w.; YAO, Z.-j.; LAI, D.-y.; NDZOUBOUKOU, J.-L. B.; ZHANG, B.; CHEN, H. *et al.* Anti-sars-cov-2 igg responses are powerful predicting signatures for the outcome of covid-19 patients. **Journal of Advanced Research**, Elsevier, v. 36, p. 133–145, 2022. Citado na página 30.

LI, L.-q.; HUANG, T.; WANG, Y.-q.; WANG, Z.-p.; LIANG, Y.; HUANG, T.-b.; ZHANG, H.-y.; SUN, W.; WANG, Y. Covid-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. **Journal of medical virology**, Wiley Online Library, v. 92, n. 6, p. 577–583, 2020. Citado na página 25.

LI, S.; JIANG, L.; LI, X.; LIN, F.; WANG, Y.; LI, B.; JIANG, T.; AN, W.; LIU, S.; LIU, H. *et al.* Clinical and pathological investigation of patients with severe covid-19. **JCI insight**, American Society for Clinical Investigation, v. 5, n. 12, 2020. Citado na página 30.

LIAO, M.; LIU, Y.; YUAN, J.; WEN, Y.; XU, G.; ZHAO, J.; CHENG, L.; LI, J.; WANG, X.; WANG, F. *et al.* Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with covid-19. **Nature medicine**, Nature Publishing Group US New York, v. 26, n. 6, p. 842–844, 2020. Citado nas páginas 29 e 53.

LIU, S.; CADANEANU, R. M.; ZHANG, B.; HUO, L.; LAI, K.; LI, X.; GALET, C.; GROGAN, T. R.; ELASHOFF, D.; FREEDLAND, S. J. *et al.* Keratin 13 is enriched in prostate tubule-initiating cells and may identify primary prostate tumors that metastasize to the bone. **PloS one**, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 11, n. 10, p. e0163232, 2016. Citado na página 33.

LIU, Y.-C.; KUO, R.-L.; SHIH, S.-R. Covid-19: The first documented coronavirus pandemic in history. **Biomedical journal**, Elsevier, v. 43, n. 4, p. 328–333, 2020. Citado na página 19.

LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; NIU, P.; YANG, B.; WU, H.; WANG, W.; SONG, H.; HUANG, B.; ZHU, N. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **The lancet**, Elsevier, v. 395, n. 10224, p. 565–574, 2020. Citado nas páginas 19 e 21.

LUDWIG, S.; ZARBOCK, A. Coronaviruses and sars-cov-2: a brief overview. **Anesthesia and analgesia**, Wolters Kluwer Health, 2020. Citado na página 19.

LUECKEN, M. D.; THEIS, F. J. Current best practices in single-cell rna-seq analysis: a tutorial. **Molecular systems biology**, v. 15, n. 6, p. e8746, 2019. Citado nas páginas 39 e 42.

MA, L.; SAHU, S. K.; CANO, M.; KUPPUSWAMY, V.; BAJWA, J.; MCPHATTER, J.; PINE, A.; MEIZLISH, M. L.; GOSHUA, G.; CHANG, C. H. *et al.* Increased complement activation is a distinctive feature of severe sars-cov-2 infection. **Science Immunology**, American Association for the Advancement of Science, v. 6, n. 59, p. eabh2259, 2021. Citado na página 51.

MAGLEBY, R.; WESTBLADE, L. F.; TRZEBUCKI, A.; SIMON, M. S.; RAJAN, M.; PARK, J.; GOYAL, P.; SAFFORD, M. M.; SATLIN, M. J. Impact of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 viral load on risk of intubation and mortality among hospitalized patients with coronavirus disease 2019. **Clinical infectious diseases**, Oxford University Press US, v. 73, n. 11, p. e4197–e4205, 2021. Citado na página 30.

MALLE, E.; SODIN-SEMRL, S.; KOVACEVIC, A. Serum amyloid a: an acute-phase protein involved in tumour pathogenesis. **Cellular and molecular life sciences**, Springer, v. 66, p. 9–26, 2009. Citado na página 51.

MANN, E. R.; MENON, M.; KNIGHT, S. B.; KONKEL, J. E.; JAGGER, C.; SHAW, T. N.; KRISHNAN, S.; RATTRAY, M.; USTIANOWSKI, A.; BAKERLY, N. D. *et al.* Longitudinal immune profiling reveals key myeloid signatures associated with covid-19. **Science immunology**, American Association for the Advancement of Science, v. 5, n. 51, p. eabd6197, 2020. Citado na página 53.

MEEK, D. W. Tumour suppression by p53: a role for the dna damage response? **Nature Reviews Cancer**, Nature Publishing Group UK London, v. 9, n. 10, p. 714–723, 2009. Citado na página 55.

MERAD, M.; BLISH, C. A.; SALLUSTO, F.; IWASAKI, A. The immunology and immunopathology of covid-19. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 375, n. 6585, p. 1122–1127, 2022. Citado na página 26.

MITTELBRUNN, M.; KROEMER, G. Hallmarks of t cell aging. **Nature immunology**, Nature Publishing Group US New York, v. 22, n. 6, p. 687–698, 2021. Citado nas páginas 30 e 31.

MODERBACHER, C. R.; RAMIREZ, S. I.; DAN, J. M.; GRIFONI, A.; HASTIE, K. M.; WEISKOPF, D.; BELANGER, S.; ABBOTT, R. K.; KIM, C.; CHOI, J. *et al.* Antigen-specific adaptive immunity to sars-cov-2 in acute covid-19 and associations with age and disease severity. **Cell**, Elsevier, v. 183, n. 4, p. 996–1012, 2020. Citado nas páginas 29 e 30.

MOENS, L.; MEYTS, I. Recent human genetic errors of innate immunity leading to increased susceptibility to infection. **Current Opinion in Immunology**, Elsevier, v. 62, p. 79–90, 2020. Citado na página 28.

MONTORO, D. T.; HABER, A. L.; BITON, M.; VINARSKY, V.; LIN, B.; BIRKET, S. E.; YUAN, F.; CHEN, S.; LEUNG, H. M.; VILLORIA, J. *et al.* A revised airway epithelial hierarchy includes cftr-expressing ionocytes. **Nature**, Nature Publishing Group UK London, v. 560, n. 7718, p. 319–324, 2018. Citado nas páginas 32 e 33.

MOULTON, V. R. Sex hormones in acquired immunity and autoimmune disease. **Frontiers in immunology**, Frontiers Media SA, v. 9, p. 2279, 2018. Citado na página 31.

- MOUSAVIZADEH, L.; GHASEMI, S. Genotype and phenotype of covid-19: Their roles in pathogenesis. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, Elsevier, v. 54, n. 2, p. 159–163, 2021. Citado na página 21.
- MURPHY, K.; WEAVER, C. **Janeway's immunobiology**. [S.l.]: Garland science, 2016. Citado na página 29.
- NAQVI, A. A. T.; FATIMA, K.; MOHAMMAD, T.; FATIMA, U.; SINGH, I. K.; SINGH, A.; ATIF, S. M.; HARIPRASAD, G.; HASAN, G. M.; HASSAN, M. I. Insights into sars-cov-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, Elsevier, v. 1866, n. 10, p. 165878, 2020. Citado nas páginas 22 e 27.
- NAQVI, I.; GIROUX, N.; OLSON, L.; MORRISON, S. A.; LLANGA, T.; AKINADE, T. O.; ZHU, Y.; ZHONG, Y.; BOSE, S.; ARVAI, S. *et al.* Damps/pamps induce monocytic tlr activation and tolerance in covid-19 patients; nucleic acid binding scavengers can counteract such tlr agonists. **Biomaterials**, Elsevier, v. 283, p. 121393, 2022. Citado na página 28.
- NG, O.-W.; TAN, Y.-J. Understanding bat sars-like coronaviruses for the preparation of future coronavirus outbreaks—implications for coronavirus vaccine development. **Human vaccines & immunotherapeutics**, Taylor & Francis, v. 13, n. 1, p. 186–189, 2017. Citado na página 20.
- NORIS, M.; BENIGNI, A.; REMUZZI, G. The case of complement activation in covid-19 multiorgan impact. **Kidney international**, Elsevier, v. 98, n. 2, p. 314–322, 2020. Citado na página 30.
- ORAN, D. P.; TOPOL, E. J. Prevalence of asymptomatic sars-cov-2 infection: a narrative review. **Annals of internal medicine**, American College of Physicians, v. 173, n. 5, p. 362–367, 2020. Citado na página 29.
- ORGANIZATION, W. H. *et al.* Who r&d blueprint novel coronavirus covid-19 therapeutic trial synopsis. **World Heal Organ**, p. 1–9, 2020. Citado nas páginas 24 e 38.
- ORTONA, E.; PIERDOMINICI, M.; RIDER, V. Sex hormones and gender differences in immune responses. **Frontiers in immunology**, Frontiers Media SA, v. 10, p. 1076, 2019. Citado na página 31.
- PEDERSEN, S. F.; HO, Y.-C. *et al.* Sars-cov-2: a storm is raging. **The Journal of clinical investigation**, Am Soc Clin Investig, v. 130, n. 5, p. 2202–2205, 2020. Citado na página 55.
- PENE, F.; MERLAT, A.; VABRET, A.; ROZENBERG, F.; BUZYN, A.; DREYFUS, F.; CARIU, A.; FREYMUTH, F.; LEBON, P. Coronavirus 229e-related pneumonia in immunocompromised patients. **Clinical infectious diseases**, The University of Chicago Press, v. 37, n. 7, p. 929–932, 2003. Citado na página 19.
- PIJLS, B. G.; JOLANI, S.; ATHERLEY, A.; DERCKX, R. T.; DIJKSTRA, J. I.; FRANSSSEN, G. H.; HENDRIKS, S.; RICHTERS, A.; VENEMANS-JELLEMA, A.; ZALPURI, S. *et al.* Demographic risk factors for covid-19 infection, severity, icu admission and death: a meta-analysis of 59 studies. **BMJ open**, British Medical Journal Publishing Group, v. 11, n. 1, p. e044640, 2021. Citado na página 26.

PLANTE, J. A.; LIU, Y.; LIU, J.; XIA, H.; JOHNSON, B. A.; LOKUGAMAGE, K. G.; ZHANG, X.; MURUATO, A. E.; ZOU, J.; FONTES-GARFIAS, C. R. *et al.* Spike mutation d614g alters sars-cov-2 fitness. **Nature**, Nature Publishing Group, v. 592, n. 7852, p. 116–121, 2021. Citado na página 20.

POON, M. M.; RYBKINA, K.; KATO, Y.; KUBOTA, M.; MATSUMOTO, R.; BLOOM, N. I.; ZHANG, Z.; HASTIE, K. M.; GRIFONI, A.; WEISKOPF, D. *et al.* Sars-cov-2 infection generates tissue-localized immunological memory in humans. **Science immunology**, American Association for the Advancement of Science, v. 6, n. 65, p. eabl9105, 2021. Citado na página 51.

QI, S.; NGWA, C.; SCHEIHING, D. A. M.; MAMUN, A. A.; AHNSTEDT, H. W.; FINGER, C. E.; COLPO, G. D.; SHARMEEN, R.; KIM, Y.; CHOI, H. A. *et al.* Sex differences in the immune response to acute covid-19 respiratory tract infection. **Biology of sex differences**, BioMed Central, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2021. Citado na página 32.

RADERMECKER, C.; DETREMBLEUR, N.; GUIOT, J.; CAVALIER, E.; HENKET, M.; D'EMAL, C.; VANWINGE, C.; CATALDO, D.; OURY, C.; DELVENNE, P. *et al.* Neutrophil extracellular traps infiltrate the lung airway, interstitial, and vascular compartments in severe covid-19. **Journal of Experimental Medicine**, The Rockefeller University Press, v. 217, n. 12, 2020. Citado na página 30.

REVA, B. A.; OMELCHENKO, T.; NAIR, S. S.; TEWARI, A. K. Immune escape in prostate cancer: known and predicted mechanisms and targets. **Urologic Clinics**, Elsevier, v. 47, n. 4, p. e9–e16, 2020. Citado na página 51.

ROH, J. S.; SOHN, D. H. Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. **Immune network**, The Korean Association of Immunobiologists, v. 18, n. 4, 2018. Citado na página 28.

RUIZ-ARAVENA, M.; MCKEE, C.; GAMBLE, A.; LUNN, T.; MORRIS, A.; SNEDDEN, C. E.; YINDA, C. K.; PORT, J. R.; BUCHHOLZ, D. W.; YEO, Y. Y. *et al.* Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. **Nature Reviews Microbiology**, Nature Publishing Group UK London, v. 20, n. 5, p. 299–314, 2022. Citado na página 20.

SAICHI, M.; LADJEMI, M. Z.; KORNIOTIS, S.; ROUSSEAU, C.; HAMOU, Z. A.; MASSENET-REGAD, L.; AMBLARD, E.; NOEL, F.; MARIE, Y.; BOUTEILLER, D. *et al.* Single-cell rna sequencing of blood antigen-presenting cells in severe covid-19 reveals multi-process defects in antiviral immunity. **Nature Cell Biology**, Nature Publishing Group UK London, v. 23, n. 5, p. 538–551, 2021. Citado na página 54.

SALINA, A. C.; DOS-SANTOS, D.; RODRIGUES, T. S.; FORTES-ROCHA, M.; FREITAS-FILHO, E. G.; ALZAMORA-TERREL, D. L.; CASTRO, I. M.; SILVA, T. F. F. da; LIMA, M. H. de; NASCIMENTO, D. C. *et al.* Efferocytosis of sars-cov-2-infected dying cells impairs macrophage anti-inflammatory functions and clearance of apoptotic cells. **Elife**, eLife Sciences Publications Limited, v. 11, p. e74443, 2022. Citado na página 28.

SALONIA, A.; PONTILLO, M.; CAPOGROSSO, P.; GREGORI, S.; TASSARA, M.; BOERI, L.; CARENZI, C.; ABBATE, C.; CIGNOLI, D.; FERRARA, A. M. *et al.* Severely low testosterone in males with covid-19: A case-control study. **Andrology**, Wiley Online Library, v. 9, n. 4, p. 1043–1052, 2021. Citado na página 55.

- SHARIF, P. M.; JABBARI, P.; RAZI, S.; KESHAVARZ-FATHI, M.; REZAEI, N. Importance of tnf-alpha and its alterations in the development of cancers. **Cytokine**, Elsevier, v. 130, p. 155066, 2020. Citado na página 51.
- SHAW, A. C.; JOSHI, S.; GREENWOOD, H.; PANDA, A.; LORD, J. M. Aging of the innate immune system. **Current opinion in immunology**, Elsevier, v. 22, n. 4, p. 507–513, 2010. Citado na página 25.
- SHI, H.; ZUO, Y.; YALAVARTHI, S.; GOCKMAN, K.; ZUO, M.; MADISON, J. A.; BLAIR, C.; WOODWARD, W.; LEZAK, S. P.; LUGOGO, N. L. *et al.* Neutrophil calprotectin identifies severe pulmonary disease in covid-19. **Journal of Leucocyte Biology**, Oxford University Press, v. 109, n. 1, p. 67–72, 2021. Citado na página 28.
- SHRIHARI, T. Inflammation related cancer-highlights. **J Carcinog Mutagen**, v. 7, n. 269, p. 2, 2016. Citado na página 51.
- SIMMONS, G.; ZMORA, P.; GIERER, S.; HEURICH, A.; PÖHLMANN, S. Proteolytic activation of the sars-coronavirus spike protein: cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. **Antiviral research**, Elsevier, v. 100, n. 3, p. 605–614, 2013. Citado na página 22.
- SIMONSEN, L.; CLARKE, M. J.; SCHONBERGER, L. B.; ARDEN, N. H.; COX, N. J.; FUKUDA, K. Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution. **Journal of infectious diseases**, The University of Chicago Press, v. 178, n. 1, p. 53–60, 1998. Citado na página 19.
- SINGH, M. K.; MOBEEN, A.; CHANDRA, A.; JOSHI, S.; RAMACHANDRAN, S. A meta-analysis of comorbidities in covid-19: Which diseases increase the susceptibility of sars-cov-2 infection? **Computers in Biology and Medicine**, Elsevier, v. 130, p. 104219, 2021. Citado na página 26.
- SINGH, N.; BABY, D.; RAJGURU, J. P.; PATIL, P. B.; THAKKANNAVAR, S. S.; PUJARI, V. B. Inflammation and cancer. **Annals of African medicine**, Wolters Kluwer–Medknow Publications, v. 18, n. 3, p. 121, 2019. Citado na página 55.
- SODEIFIAN, F.; NIKFARJAM, M.; KIAN, N.; MOHAMED, K.; REZAEI, N. The role of type i interferon in the treatment of covid-19. **Journal of medical virology**, Wiley Online Library, v. 94, n. 1, p. 63–81, 2022. Citado na página 27.
- SOLA, I.; ALMAZAN, F.; ZÚÑIGA, S.; ENJUANES, L. Continuous and discontinuous rna synthesis in coronaviruses. **Annual review of virology**, Annual Reviews, v. 2, p. 265–288, 2015. Citado na página 23.
- SONG, H.; SEDDIGHZADEH, B.; COOPERBERG, M. R.; HUANG, F. W. Expression of ace2, the sars-cov-2 receptor, and tmprss2 in prostate epithelial cells. **European urology**, Elsevier, v. 78, n. 2, p. 296, 2020. Citado na página 32.
- SONG, H.; WEINSTEIN, H. N.; ALLEGAKOEN, P.; WADSWORTH, M. H.; XIE, J.; YANG, H.; CASTRO, E. A.; LU, K. L.; STOHR, B. A.; FENG, F. Y. *et al.* Single-cell analysis of human primary prostate cancer reveals the heterogeneity of tumor-associated epithelial cell states. **Nature communications**, Nature Publishing Group UK London, v. 13, n. 1, p. 141, 2022. Citado na página 33.

STADIO, A. D.; RICCI, G.; GRECO, A.; VINCENZI, M. D.; RALLI, M. Mortality rate and gender differences in covid-19 patients dying in italy: a comparison with other countries. **European review for medical and pharmacological sciences**, Verduci, v. 24, n. 8, p. 4066–4067, 2020. Citado na página 55.

STEEG, L. G. V.; KLEIN, S. L. Sex and sex steroids impact influenza pathogenesis across the life course. In: SPRINGER. **Seminars in immunopathology**. [S.l.], 2019. v. 41, p. 189–194. Citado na página 32.

STOYANOVA, T.; COOPER, A. R.; DRAKE, J. M.; LIU, X.; ARMSTRONG, A. J.; PIENTA, K. J.; ZHANG, H.; KOHN, D. B.; HUANG, J.; WITTE, O. N. *et al.* Prostate cancer originating in basal cells progresses to adenocarcinoma propagated by luminal-like cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 110, n. 50, p. 20111–20116, 2013. Citado na página 33.

SU, S.; WONG, G.; SHI, W.; LIU, J.; LAI, A. C.; ZHOU, J.; LIU, W.; BI, Y.; GAO, G. F. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. **Trends in microbiology**, Elsevier, v. 24, n. 6, p. 490–502, 2016. Citado na página 20.

SUBRAMANIAN, A.; TAMAYO, P.; MOOTHA, V. K.; MUKHERJEE, S.; EBERT, B. L.; GILLETTE, M. A.; PAULOVICH, A.; POMEROY, S. L.; GOLUB, T. R.; LANDER, E. S. *et al.* Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 102, n. 43, p. 15545–15550, 2005. Citado na página 42.

SUNGNAK, W.; HUANG, N.; BÉCAVIN, C.; BERG, M.; QUEEN, R.; LITVINUKOVA, M.; TALAVERA-LÓPEZ, C.; MAATZ, H.; REICHAERT, D.; SAMPAZIOTIS, F. *et al.* Sars-cov-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. **Nature medicine**, Nature Publishing Group, v. 26, n. 5, p. 681–687, 2020. Citado nas páginas 32 e 56.

TAKAHASHI, T.; ELLINGSON, M. K.; WONG, P.; ISRAELOW, B.; LUCAS, C.; KLEIN, J.; SILVA, J.; MAO, T.; OH, J. E.; TOKUYAMA, M. *et al.* Sex differences in immune responses that underlie covid-19 disease outcomes. **Nature**, Nature Publishing Group UK London, v. 588, n. 7837, p. 315–320, 2020. Citado na página 54.

TAKAHASHI, T.; IWASAKI, A. Sex differences in immune responses. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 371, n. 6527, p. 347–348, 2021. Citado nas páginas 26 e 56.

TAKAOKA, A.; YAMADA, T. Regulation of signaling mediated by nucleic acid sensors for innate interferon-mediated responses during viral infection. **International Immunology**, Oxford University Press UK, v. 31, n. 8, p. 477–488, 2019. Citado na página 27.

TANG, J.; ZENG, C.; COX, T. M.; LI, C.; SON, Y. M.; CHEON, I. S.; WU, Y.; BEHL, S.; TAYLOR, J. J.; CHAKARABORTY, R. *et al.* Mucosal immunity against sars-cov-2 variants of concern including omicron following vaccination. **medRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory Press, p. 2022–01, 2022. Citado na página 30.

THORNE, L. G.; REUSCHL, A.-K.; ZULIANI-ALVAREZ, L.; WHELAN, M. V.; TURNER, J.; NOURSADEGHI, M.; JOLLY, C.; TOWERS, G. J. Sars-cov-2 sensing by rig-i and mda5 links epithelial infection to macrophage inflammation. **The EMBO journal**, v. 40, n. 15, p. e107826, 2021. Citado na página 28.

TRAISH, A.; BOLANOS, J.; NAIR, S.; SAAD, F.; MORGENTALER, A. Do androgens modulate the pathophysiological pathways of inflammation? appraising the contemporary evidence. **Journal of clinical medicine**, MDPI, v. 7, n. 12, p. 549, 2018. Citado na página 55.

TSANKOV, B. K.; ALLAIRE, J. M.; IRVINE, M. A.; LOPEZ, A. A.; SAUVE, L. J.; VALLANCE, B. A.; JACOBSON, K. Severe covid-19 infection and pediatric comorbidities: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, Elsevier, v. 103, p. 246–256, 2021. Citado na página 25.

VESELY, M. D.; KERSHAW, M. H.; SCHREIBER, R. D.; SMYTH, M. J. Natural innate and adaptive immunity to cancer. **Annual review of immunology**, Annual Reviews, v. 29, p. 235–271, 2011. Citado na página 55.

VIBOUD, C.; SIMONSEN, L.; FUENTES, R.; FLORES, J.; MILLER, M. A.; CHOWELL, G. Global mortality impact of the 1957–1959 influenza pandemic. **The Journal of infectious diseases**, Oxford University Press, v. 213, n. 5, p. 738–745, 2016. Citado na página 19.

VIRSHUP, I.; RYBAKOV, S.; THEIS, F. J.; ANGERER, P.; WOLF, F. A. anndata: Annotated data. **BioRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory, p. 2021–12, 2021. Citado na página 39.

WAGNER, A.; REGEV, A.; YOSEF, N. Revealing the vectors of cellular identity with single-cell genomics. **Nature biotechnology**, Nature Publishing Group US New York, v. 34, n. 11, p. 1145–1160, 2016. Citado na página 40.

WALSH, E. E.; SHIN, J. H.; FALSEY, A. R. Clinical impact of human coronaviruses 229e and oc43 infection in diverse adult populations. **The Journal of infectious diseases**, Oxford University Press, v. 208, n. 10, p. 1634–1642, 2013. Citado na página 19.

WANG, B.; CARDENAS, M.; BEDOYA, M.; COLIN, A. A.; ROSSI, G. A. Upregulation of neuropeptides and obstructive airway disorder in infancy: A review with focus on post-rsv wheezing and nehi. **Pediatric pulmonology**, Wiley Online Library, v. 56, n. 6, p. 1297–1306, 2021. Citado na página 34.

WANG, D.; HU, B.; HU, C.; ZHU, F.; LIU, X.; ZHANG, J.; WANG, B.; XIANG, H.; CHENG, Z.; XIONG, Y. *et al.* Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in wuhan, china. **jama**, American Medical Association, v. 323, n. 11, p. 1061–1069, 2020. Citado na página 24.

WANG, X.; GUAN, F.; MILLER, H.; BYAZROVA, M. G.; CANDOTTI, F.; BENLAGHA, K.; CAMARA, N. O. S.; LEI, J.; FILATOV, A.; LIU, C. The role of dendritic cells in covid-19 infection. **Emerging Microbes & Infections**, Taylor & Francis, v. 12, n. 1, p. 2195019, 2023. Citado na página 54.

WANG, Z. A.; MITROFANOVA, A.; BERGREN, S. K.; ABATE-SHEN, C.; CARDIFF, R. D.; CALIFANO, A.; SHEN, M. M. Lineage analysis of basal epithelial cells reveals their unexpected plasticity and supports a cell-of-origin model for prostate cancer heterogeneity. **Nature cell biology**, Nature Publishing Group UK London, v. 15, n. 3, p. 274–283, 2013. Citado na página 33.

WEI, X.; LI, X.; CUI, J. Evolutionary perspectives on novel coronaviruses identified in pneumonia cases in china. **National Science Review**, Oxford University Press, v. 7, n. 2, p. 239–242, 2020. Citado na página 19.

WENHAM, C.; SMITH, J.; MORGAN, R. Covid-19: the gendered impacts of the outbreak. **The lancet**, Elsevier, v. 395, n. 10227, p. 846–848, 2020. Citado na página 55.

WERTHEIMER, A. M.; BENNETT, M. S.; PARK, B.; UHRLAUB, J. L.; MARTINEZ, C.; PULKO, V.; CURRIER, N. L.; NIKOLICH-ŽUGICH, D.; KAYE, J.; NIKOLICH-ŽUGICH, J. Aging and cytomegalovirus infection differentially and jointly affect distinct circulating t cell subsets in humans. **The Journal of Immunology**, American Association of Immunologists, v. 192, n. 5, p. 2143–2155, 2014. Citado nas páginas 30 e 31.

WOLF, F. A.; ANGERER, P.; THEIS, F. J. Scanpy: large-scale single-cell gene expression data analysis. **Genome biology**, Springer, v. 19, p. 1–5, 2018. Citado na página 42.

World Health Organization (WHO). **Statement on the fifteenth meeting of the IHR (2005) Emergency Committee on the COVID-19 pandemic**. 2023. Último acesso em 08 de maio de 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news>>. Citado na página 19.

_____. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. 2023a. Último acesso em 08 de maio de 2023. Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Citado na página 19.

WU, Z.; MCGOOGAN, J. Feb 24. characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (covid-19) outbreak in china: summary of a report of 72 314 cases from the chinese center for disease control and prevention. **JAMA**. <https://doi.org/10.1001/jama>, 2020. Citado nas páginas 23 e 24.

XU, G.; QI, F.; LI, H.; YANG, Q.; WANG, H.; WANG, X.; LIU, X.; ZHAO, J.; LIAO, X.; LIU, Y. *et al.* The differential immune responses to covid-19 in peripheral and lung revealed by single-cell rna sequencing. **Cell discovery**, Springer Singapore Singapore, v. 6, n. 1, p. 73, 2020. Citado na página 26.

XU, H.; AKINYEMI, I. A.; CHITRE, S. A.; LOEB, J. C.; LEDNICKY, J. A.; MCINTOSH, M. T.; BHADURI-MCINTOSH, S. Sars-cov-2 viroporin encoded by orf3a triggers the nlrp3 inflammatory pathway. **Virology**, Elsevier, v. 568, p. 13–22, 2022. Citado na página 29.

YAMADA, T.; TAKAOKA, A. Innate immune recognition against sars-cov-2. **Inflammation and Regeneration**, Springer, v. 43, n. 1, p. 7, 2023. Citado na página 26.

YAN, W.; ZHENG, Y.; ZENG, X.; HE, B.; CHENG, W. Structural biology of sars-cov-2: open the door for novel therapies. **Signal transduction and targeted therapy**, Nature Publishing Group UK London, v. 7, n. 1, p. 26, 2022. Citado na página 21.

YANG, X.; YU, Y.; XU, J.; SHU, H.; LIU, H.; WU, Y.; ZHANG, L.; YU, Z.; FANG, M.; YU, T. *et al.* 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**, Elsevier, v. 8, n. 5, p. 475–481, 2020. Citado na página 26.

YAO, H.; SONG, Y.; CHEN, Y.; WU, N.; XU, J.; SUN, C.; ZHANG, J.; WENG, T.; ZHANG, Z.; WU, Z. *et al.* Molecular architecture of the sars-cov-2 virus. **Cell**, Elsevier, v. 183, n. 3, p. 730–738, 2020. Citado nas páginas 13 e 21.

YIN, X.; RIVA, L.; PU, Y.; MARTIN-SANCHO, L.; KANAMUNE, J.; YAMAMOTO, Y.; SAKAI, K.; GOTOH, S.; MIORIN, L.; JESUS, P. D. D. *et al.* Mda5 governs the innate immune response to sars-cov-2 in lung epithelial cells. **Cell reports**, Elsevier, v. 34, n. 2, p. 108628, 2021. Citado na página 28.

YURKOVETSKIY, L.; WANG, X.; PASCAL, K. E.; TOMKINS-TINCH, C.; NYALILE, T. P.; WANG, Y.; BAUM, A.; DIEHL, W. E.; DAUPHIN, A.; CARBONE, C. *et al.* Structural and functional analysis of the d614g sars-cov-2 spike protein variant. **Cell**, Elsevier, v. 183, n. 3, p. 739–751, 2020. Citado na página 20.

ZENG, H. What is a cell type and how to define it? **Cell**, Elsevier, v. 185, n. 15, p. 2739–2755, 2022. Citado na página 40.

ZHANG, J.; TIAN, X.-J.; ZHANG, H.; TENG, Y.; LI, R.; BAI, F.; ELANKUMARAN, S.; XING, J. Tgf- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition proceeds through stepwise activation of multiple feedback loops. **Science signaling**, American Association for the Advancement of Science, v. 7, n. 345, p. ra91–ra91, 2014. Citado na página 56.

ZHANG, J.-j.; DONG, X.; LIU, G.-h.; GAO, Y.-d. Risk and protective factors for covid-19 morbidity, severity, and mortality. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, Springer, v. 64, n. 1, p. 90–107, 2023. Citado na página 25.

ZHANG, R.; ZHANG, L.; LI, P.; PANG, K.; LIU, H.; TIAN, L. Epithelial barrier in the nasal mucosa, related risk factors and diseases. **International Archives of Allergy and Immunology**, Karger Publishers, v. 184, n. 5, p. 481–501, 2023. Citado nas páginas 43 e 53.

ZHANG, X.; LAN, Y.; XU, J.; QUAN, F.; ZHAO, E.; DENG, C.; LUO, T.; XU, L.; LIAO, G.; YAN, M. *et al.* Cellmarker: a manually curated resource of cell markers in human and mouse. **Nucleic acids research**, Oxford University Press, v. 47, n. D1, p. D721–D728, 2019. Citado na página 41.

ZHENG, M.; KARKI, R.; WILLIAMS, E. P.; YANG, D.; FITZPATRICK, E.; VOGEL, P.; JONSSON, C. B.; KANNEGANTI, T.-D. Tlr2 senses the sars-cov-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines. **Nature immunology**, Nature Publishing Group US New York, v. 22, n. 7, p. 829–838, 2021. Citado na página 29.

ZHOU, B.; THAO, T. T. N.; HOFFMANN, D.; TADDEO, A.; EBERT, N.; LABROUSSAA, F.; POHLMANN, A.; KING, J.; STEINER, S.; KELLY, J. N. *et al.* Sars-cov-2 spike d614g change enhances replication and transmission. **Nature**, Nature Publishing Group UK London, v. 592, n. 7852, p. 122–127, 2021. Citado na página 20.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R.; FAN, G.; LIU, Y.; LIU, Z.; XIANG, J.; WANG, Y.; SONG, B.; GU, X. *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with covid-19 in wuhan, china: a retrospective cohort study. **The lancet**, Elsevier, v. 395, n. 10229, p. 1054–1062, 2020. Citado na página 25.

ZHOU, P.; YANG, X.-L.; WANG, X.-G.; HU, B.; ZHANG, L.; ZHANG, W.; SI, H.-R.; ZHU, Y.; LI, B.; HUANG, C.-L. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **nature**, Nature Publishing Group, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 2020. Citado na página 20.

ZHOU, R.; TO, K. K.-W.; WONG, Y.-C.; LIU, L.; ZHOU, B.; LI, X.; HUANG, H.; MO, Y.; LUK, T.-Y.; LAU, T. T.-K. *et al.* Acute sars-cov-2 infection impairs dendritic cell and t cell responses. **Immunity**, Elsevier, v. 53, n. 4, p. 864–877, 2020. Citado nas páginas 31 e 54.

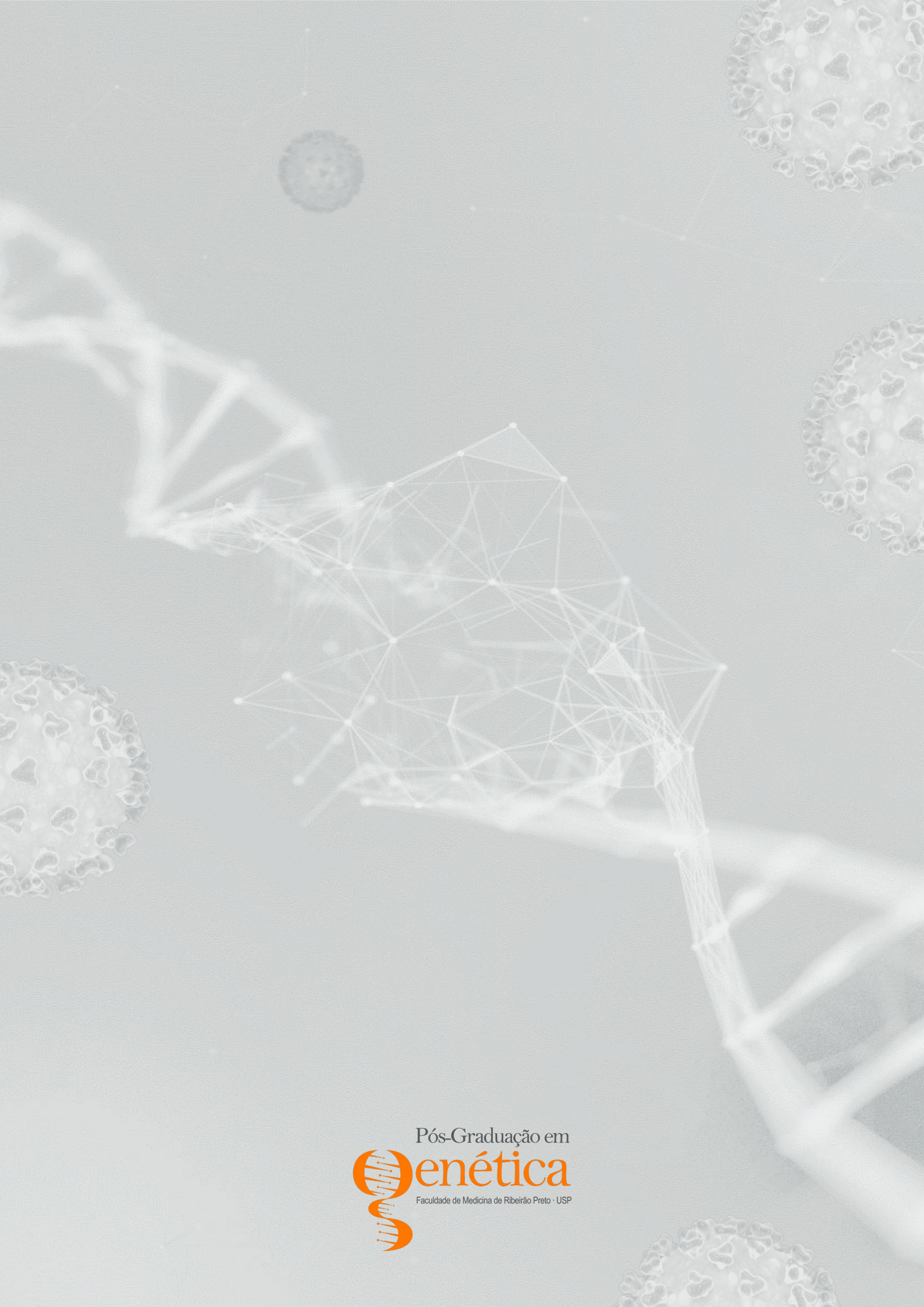
ZHOU, Z.; ZHAO, N.; SHU, Y.; HAN, S.; CHEN, B.; SHU, X. Effect of gastrointestinal symptoms in patients with covid-19. **Gastroenterology**, Elsevier, v. 158, n. 8, p. 2294–2297, 2020. Citado na página 19.

ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; LI, X.; YANG, B.; SONG, J.; ZHAO, X.; HUANG, B.; SHI, W.; LU, R. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in china, 2019. **New England journal of medicine**, Mass Medical Soc, 2020. Citado na página [18](#).

ZIEGLER, C. G.; MIAO, V. N.; OWINGS, A. H.; NAVIA, A. W.; TANG, Y.; BROMLEY, J. D.; LOTFY, P.; SLOAN, M.; LAIRD, H.; WILLIAMS, H. B. *et al.* Impaired local intrinsic immunity to sars-cov-2 infection in severe covid-19. **Cell**, Elsevier, v. 184, n. 18, p. 4713–4733, 2021. Citado nas páginas [33](#), [37](#), [38](#), [40](#), [41](#), [53](#) e [56](#).

ZIEGLER, S. M.; ALTFELD, M. Human immunodeficiency virus 1 and type i interferons—where sex makes a difference. **Frontiers in immunology**, Frontiers Media SA, v. 8, p. 1224, 2017. Citado na página [32](#).

ZONG, Z.; WEI, Y.; REN, J.; ZHANG, L.; ZHOU, F. The intersection of covid-19 and cancer: signaling pathways and treatment implications. **Molecular cancer**, BioMed Central, v. 20, n. 1, p. 1–19, 2021. Citado na página [54](#).



Pós-Graduação em
Genética
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP