

COVID-19: Compreendendo a “tempestade de citocinas”

COVID-19: Understanding the cytokine storm

COVID-19: Comprensión de la tormenta de citoquinas

Recebido: 17/04/2021 | Revisado: 22/04/2021 | Aceito: 28/04/2021 | Publicado: 12/05/2021

Raffaella Neves Mont'Alverne Napoleão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7123-458X>
Centro Universitário Christus, Brasil
E-mail: raffaelamontalverne@gmail.com

Ana Beatriz Gomes Santiago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3287-3071>
Centro Universitário Inta, Brasil
E-mail: gomessantiago.beatriz@gmail.com

Mariella Almeida Moreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9602-4036>
Centro Universitário Christus, Brasil
E-mail: mariellamoreira@outlook.com

Sônia Leite da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2732-8543>
Universidade de Fortaleza, Brasil
E-mail: sonials@unifor.br

Silvia Fernandes Ribeiro da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3223-5184>
Centro Universitário Christus, Brasil
Universidade de Fortaleza, Brasil
E-mail: silviafernandes@unifor.br

Resumo

O SARS-CoV-2 espalhou-se rapidamente pela China e logo recebeu atenção mundial, levando a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar, em 30 de janeiro de 2020, a infecção pelo SARS-CoV-2 como emergência de saúde pública de interesse internacional. Trata-se de uma revisão de literatura que objetiva atualizar e ampliar as informações disponíveis acerca do SARS-CoV-2, abrangendo a resposta imune contra ele e a consequente formação da tempestade de citocinas. Em alguns indivíduos, a resposta exacerbada do sistema imunológico provoca a hiperestimulação de suas células de defesa, causando uma hiperinflamação em decorrência da tempestade de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-12 e quimiocinas). Essa hiperinflamação caracteriza a fisiopatologia da COVID-19 grave que provoca alterações patológicas principalmente nos pulmões, sendo um fator preditor de gravidade da doença devido à forte associação com a falência de múltiplos órgãos, podendo levar à morte. A dosagem dos níveis séricos de IL-6 e IL-10 foram considerados preditores da gravidade da doença e pode ser usada para o diagnóstico de pacientes com maior risco de agravamento da doença. Conclui-se que elevações dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias geralmente estão presentes na COVID-19 grave. Porém, mais estudos são necessários para estabelecer diferenças entre os pacientes com COVID-19 que desenvolvem reação inflamatória protetora e equilibrada daqueles que desenvolvem reação inflamatória exagerada, com consequente tempestade patológica de citocinas.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, COVID-19, Citocinas.

Abstract

SARS-CoV-2 spread rapidly across China and soon received worldwide attention, prompting the World Health Organization (WHO) to declare, on January 30, 2020, SARS-CoV-2 infection as a public health emergency of international interest. It is a literature review that aims to update and expand the available information about SARS-CoV-2, covering the immune response against it and the consequent formation of the cytokine storm. In some individuals, the immune system exacerbated response causes hyperstimulation of the defense cells, causing hyperinflammation due to the storm of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-12 and chemokines). This hyperinflammation characterizes the pathophysiology of severe COVID-19 that causes pathological changes mainly in the lungs, being a predictor of the disease severity due to its strong association with multiple organ failure, which can lead to death. The measurement of serum levels of IL-6 and IL-10 were considered predictors of severe disease and can be used to diagnose patients with a higher risk of worsening the disease. In conclusion, elevations in serum levels of proinflammatory cytokines are usually present in severe COVID-19. However, further studies are needed to establish differences between patients with COVID-19 who develop a protective and balanced inflammatory reaction from those who develop an exaggerated inflammatory reaction, with a consequent pathological cytokine storm.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Cytokine.

Resumen

El SARS-CoV-2 se propagó rápidamente por China y pronto recibió atención mundial, lo que llevó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a declarar, el 30 de enero de 2020, la infección por el SARS-CoV-2 como una emergencia de salud pública de interés internacional. Se trata de una revisión de la literatura que tiene como objetivo actualizar y ampliar la información disponible sobre el SARS-CoV-2, cubriendo la respuesta inmune frente a él y la consecuente formación de la tormenta de citocinas. En algunos individuos, la respuesta exacerbada del sistema inmunológico provoca una hiperestimulación de sus células de defensa, provocando hiperinflamación debido a la tormenta de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-12 y quimiocinas). Esta hiperinflamación caracteriza la fisiopatología del COVID-19 severo que ocasiona cambios patológicos principalmente en los pulmones, siendo un predictor de gravedad de la enfermedad debido a la fuerte asociación con falla multiorgánica, que puede conducir a la muerte. La medición de los niveles séricos de IL-6 e IL-10 se consideró predictores de la gravedad de la enfermedad y puede usarse para el diagnóstico de pacientes con mayor riesgo de empeorar la enfermedad. Se concluye que las elevaciones de los niveles séricos de citocinas proinflamatorias suelen estar presentes en el COVID-19 grave. Sin embargo, se necesitan más estudios para establecer diferencias entre los pacientes con COVID-19 que desarrollan una reacción inflamatoria protectora y equilibrada de aquellos que desarrollan una reacción inflamatoria exagerada, con la consecuente tormenta de citocinas patológicas.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, Citocinas.

1. Introdução

A cidade de Wuhan, capital da província de Hubei, na China, foi o epicentro de um surto de pneumonia de causa desconhecida que ocorreu em dezembro de 2019. Entretanto, no início de janeiro de 2020, um novo coronavírus, chamado de SARS-CoV-2, foi isolado por pesquisadores chineses e apontado como o responsável pelo surto e pela doença respiratória aguda, ou doença coronavírus 2019, também conhecida pela sigla COVID-19 (Zhou *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 espalhou-se rapidamente pela China e logo recebeu atenção mundial, levando a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar, em 30 de janeiro de 2020, a infecção pelo SARS-CoV-2 como emergência de saúde pública de interesse internacional. Porém, a caracterização do surto global da COVID-19 como pandemia somente foi declarada pela OMS em 11 de março de 2020 (Hu *et al.*, 2020; Subbarao & Mahanty, 2020). Segundo Ben Hu e colaboradores (2020), enquanto a COVID-19, na China, passou a ser efetivamente controlada, o número de casos na Europa, nos EUA e em outras regiões aumentou drasticamente.

A pandemia de COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, afetou a saúde, a economia e o cotidiano das populações em 2020 e, devido às mutações genéticas sofridas pelo vírus, a ausência de tratamento eficaz e a baixa cobertura vacinal, continua em 2021 (Berhe *et al.*, 2020; To *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2020; Overbaugh, 2020; Shereen *et al.*, 2020). À medida que o vírus se espalhou por nações, territórios e continentes, a sociedade foi obrigada a enfrentar uma situação sem precedentes. Além disso, a população foi apresentada a novas terminologias não utilizadas no cotidiano: epidemia, pandemia, quarentena, confinamento, distanciamento social, toque de recolher e serviços essenciais. Muitos países fecharam suas fronteiras, companhias aéreas reduziram as suas frotas, e houve diminuição da movimentação de transporte de veículos pessoais. O caos foi instaurado em uma escala sem precedentes sociais e econômicos (Guo *et al.*, 2020; Munjal *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Medidas de distanciamento e isolamento social mais rígido, como o confinamento, foram utilizadas para conter a propagação do vírus (Berhe *et al.*, 2020; Cavalcante *et al.*, 2020).

Segundo dados oficiais da OMS, até o dia 17 de abril de 2021, a pandemia causada pelo SARS-CoV-2 apresentou 138.688.383 casos, causando 2.978.935 mortes no mundo. Os Estados Unidos foram o país que apresentou o maior número de casos, sendo 31.103.006, com 559.010 mortes; em seguida, a Índia, com 14.291.917 casos, tendo 174.308 óbitos; e o Brasil, contando com 13.673.507 casos, tendo 361.884 evoluídos para óbito. Com referência aos estados brasileiros, o Ceará encontra-se na quinta colocação em números de casos e mortes pela COVID-19, sendo o segundo da lista em toda a Região Nordeste. De acordo com o Ministério da Saúde (2021), as estatísticas apontam para 1.735.290 casos, sendo 16.163 mortes.

Estudos têm mostrado que a gravidade da COVID-19 é modulada pela(o): a) idade, acometendo principalmente os idosos; b) sexo masculino; c) grupo sanguíneo A; d) diferença socioeconômica da população, agravada pela dificuldade de acesso a atendimento médico e hospitalar; e) deficiência de vitaminas D e zinco; f) presença de comorbidades, como obesidade, hipertensão arterial, diabetes mellitus, doenças renais, cardíacas e hematológicas (Ellinghaus *et al.*, 2020; Liang, 2020; Long *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2020; Tavares *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Além disso, a gravidade da COVID-19 pode sofrer influência da rápida replicação do vírus com consequente aumento da carga viral, evasão do sistema imunológico e desenvolvimento de resposta inflamatória aguda exacerbada, responsável pela tempestade de citocinas, do inglês *cytokine storm* (Ragab *et al.*, 2020; Soy *et al.*, 2020).

Diante do exposto, o objetivo da presente revisão foi fornecer informações acerca do SARS-CoV-2 e da fisiopatologia da COVID-19, abordando como a quebra do equilíbrio do sistema imunológico acarreta o desenvolvimento da tempestade de citocinas na COVID-19 grave.

2. Metodologia

Trata-se de uma revisão integrativa que foi realizada a partir das seguintes bases de dados em saúde: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE) e LILACS. Foram obtidos aproximadamente 19.000 resultados a partir da busca ativa de publicações que abordassem o tema principal “tempestade de citocinas na COVID-19, no período de janeiro de 2020 a março de 2021. Do total, foram excluídas referências duplicadas e com informações distintas do objetivo traçado. Quarenta e oito referências foram selecionadas para fundamentar a presente revisão.

Na etapa inicial da revisão serão descritas informações sobre os coronavírus, a morfologia e o ciclo de infecção do SARS-CoV-2. Em seguida, a resposta imune e a homeostasia do sistema imunológico serão abordadas para facilitar a compreensão da ocorrência da tempestade de citocinas na COVID-19 grave.

3. Resultados e Discussão

3.1 Sobre o coronavírus

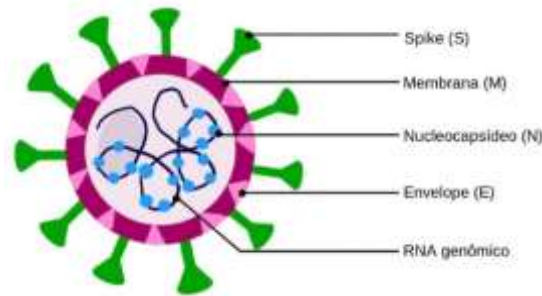
Os coronavírus (CoVs) fazem parte da família *Coronaviridae*, que podem infectar animais (morcegos e pangolins) e humanos. Uma característica em comum entre eles é que causam doenças respiratórias que vão desde o resfriado comum a doenças mais graves, como a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) e a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS). O CoV infectante humano mais recentemente identificado é o SARS-CoV-2, o vírus que causa a doença coronavírus 2019 (COVID-19), uma doença respiratória aguda (Ali & Vijayan, 2020).

O SARS-CoV-2, inicialmente chamado de coronavírus 2019, foi classificado, com base na sua filogenia e taxonomia, como coronavírus que causam a SARS (SARS-CoV), os quais são membros da subfamília taxonômica *Orthocoronavirinae* (Gorbalenya *et al.*, 2020). O gênero *Betacoronavirus* dessa subfamília é o que demonstra maior notoriedade, uma vez que possui os coronavírus responsáveis por infecções mais graves no homem, destacando-se: o MERS-CoV, causador da MERS; e o SARS-CoV, que possui duas cepas: o SARS-CoV, causador da SARS; e o SARS-CoV-2, responsável pela COVID-19 (Gorbalenya *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021).

3.2 Morfologia do SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus de ácido ribonucleico (RNA) cujo material genético é representado por uma fita única de RNA sentido positivo (RNA+). O RNA+ pode servir como RNAs mensageiros para a síntese proteica, o que explica a maior velocidade na geração de novas cópias do vírus na célula do hospedeiro (Kumar *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020). Como mostrado

na **Figura 1**, o SARS-CoV-2 é um vírus envelopado com capsídeo helicoidal, composto por proteínas caracterizadas como replicase e proteínas estruturais, tais como: proteína **N** (nucleocapsídeo), responsável por ocultar o RNA viral do sistema imunológico; proteína **S** (*spike*), que permite a ligação do vírus a célula do hospedeiro; proteína **E** (envelope), que ajuda na disseminação da infecção celular; proteína **M** (membrana); e proteína de superfície **HE** (hemaglutinina esterase), que está presente em apenas alguns coronavírus (Ali & Vijayan, 2020; Li *et al.*, 2020).



Fonte: Adaptado de Li *et al.* (2020).

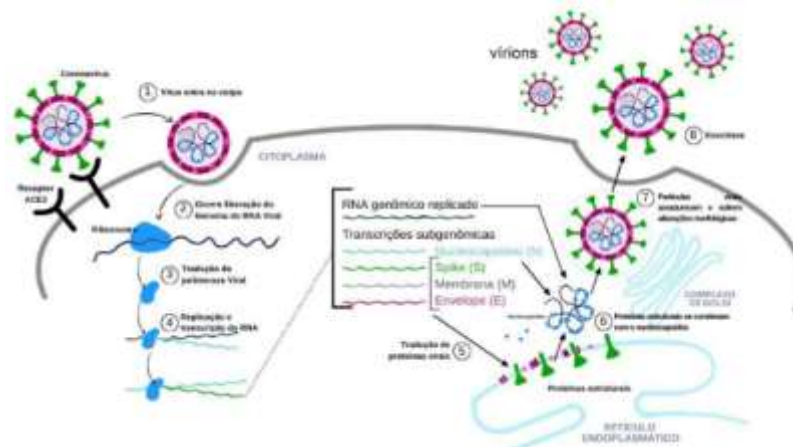
As espículas do vírus formam uma proeminência de 20 nanômetros, compostas pela proteína **S**. Essas espículas alojam-se no envelope viral, que é caracterizado por uma bicamada lipídica originada de pequenos brotos de membranas intercelulares. No interior do envelope viral, encontram-se o código genético do vírus, conhecido como genoma de RNA, e a proteína **N**, constituindo o núcleo de ribonucleoproteína (Molaei *et al.*, 2021; Subbarao & Mahanty, 2020).

3.3 O ciclo do SARS-CoV-2

Como mostra a **Figura 2**, a entrada do vírus na célula do hospedeiro tem início com a ligação da proteína **S** do envelope viral ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (**ACE2**) presente na membrana das células epiteliais do trato respiratório superior e inferior, rim, intestino e coração (**etapa 1**). A ligação da proteína **S** ao receptor **ACE2** forma um complexo que é clivado pela protease transmembrana tipo 2 (**TMPRSS2**), permitindo a ativação da proteína **S** e a fusão do envelope viral com a membrana da célula, com consequente liberação do genoma viral para o citoplasma (**etapa 2**) (Hu *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020; Rabi *et al.*, 2020).

Como citado anteriormente, os coronavírus são vírus de genoma de RNA simples positivos que utilizam o RNA ribossomal da célula do hospedeiro para tradução de algumas proteínas não estruturais, dentre elas, as replicases, que também auxiliam na síntese dos novos genomas virais. Inicialmente é produzida uma fita intermediária de RNA sentido negativo; em seguida, fitas de RNA de sentido positivo, chamados de RNAs subgenômicos, que produzem as novas partículas virais montadas no retículo endoplasmático e finalizadas no complexo de Golgi (**etapas 3 a 7 da Figura 2**). As vesículas com os vírions recém-sintetizados fundem-se com a membrana plasmática, e ocorre a sua liberação por exocitose (**etapa 8 da Figura 2**). Desse modo, os vírions ficam aptos a infectar novas células. Vale ressaltar que cada vírus pode originar entre 10 mil e 100 mil cópias (Dong *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2020).

Figura 2. Ciclo do SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptado de Kumar *et al.* (2020).

3.4 Resposta imune e a homeostasia do sistema imunológico

De forma geral, a invasão de patógenos, como vírus, bactérias e fungos, é combatida por duas grandes defesas do sistema imunológico: uma defesa inicial, comandada pela imunidade inata; e outra mais tardia, mediada pela imunidade adquirida (Abbas *et al.*, 2021; Molaei *et al.*, 2021).

A defesa inicial inata tem como premissa impedir a entrada de invasores no organismo, utilizando as barreiras físicas (pele e mucosas do trato respiratório e gastrointestinal) e peptídeos antimicrobianos (defensinas e catelicidinas) secretados por células epiteliais e por alguns leucócitos. Além disso, a defesa inata apresenta células que detectam e fagocitam o invasor (macrófagos teciduais, neutrófilos e monócitos), e células sentinelas que alertam o sistema imunológico da invasão (mastócitos e células dendríticas) (Abbas *et al.*, 2021; De Sordi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020).

Na maioria das vezes, a defesa inata destrói o invasor desenvolvendo uma reação inflamatória aguda com a participação de macrófagos, que secretam citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12 e quimiocinas), e de mastócitos, que liberam seus mediadores inflamatórios (histamina, prostaglandina e leucotrieno). Essa ação conjunta promove o recrutamento e a migração de neutrófilos do sangue para o tecido inflamado e o extravasamento de plasma rico em proteínas de fase aguda, tais como a proteína C reativa e a proteína C3 do complemento, ambas produzidas pelo fígado em resposta à ação endócrina da citocina IL-6, podendo participar também as citocinas TNF- α e a IL-1 β (De Sordi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020).

Vale ressaltar que citocinas são moléculas de comunicação entre as células do sistema imune, sendo produzidas e secretadas por diferentes tipos celulares. Na defesa inata inicial à infecção ou à lesão tecidual, a secreção de citocinas pró-inflamatórias é uma das primeiras respostas do sistema imune inato (De Sordi *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021). As alterações que ocorrem no vaso sanguíneo próximo ao tecido infectado ou que sofreu lesão, incluindo fluxo sanguíneo aumentado para o tecido, decorrente da vasodilatação; o rolamento e aumento da aderência dos neutrófilos circulantes as células endoteliais das vênulas; e a permeabilidade aumentada dos capilares e vênulas aos neutrófilos e proteínas de fase aguda, são induzidas por citocinas secretadas inicialmente por células teciduais (macrófagos, células dendríticas e mastócitos) em resposta à estimulação por PAMPs (padrões moleculares associados à patógenos) e DAMPs (padrões moleculares associados à dano) (Li *et al.*, 2020). À medida que a reação inflamatória aguda se desenvolve, citocinas podem ser também produzidas por células endoteliais e os mediadores inflamatórios podem ser derivados dos leucócitos recém-chegados ao foco inflamatório, bem como de proteínas da via alternativa do sistema complemento (Abbas *et al.*, 2021; De Sordi *et al.*, 2020).

Após a fagocitose dos invasores pelos neutrófilos recém-chegado ao tecido inflamado e a resolução da inflamação, tem início o reparo tecidual, com a fagocitose dos neutrófilos mortos em combate e dos restos dos invasores por macrófagos. Por fim, ocorre o retorno do equilíbrio interno, e a homeostase se reestabelece. Além da resposta inflamatória aguda, há a defesa inata antiviral: a) o interferon alfa (IFN- α), citocina secretada pelas células infectadas, que desempenha importante papel na inibição da replicação viral das células vizinhas e na disseminação do vírus; e b) as células Natural Killer (NK), que matam células infectadas por vírus pela degranulação de seus grânulos citotóxicos (perforinas e granzimas) e secretam interferon gama (IFN- γ), principal citocina ativadora de macrófagos (De Sordi *et al.*, 2020; Frieman *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021).

Porém, caso a defesa inicial citada não tenha obtido êxito na eliminação do invasor, a célula dendrítica, que se encontra à espreita no tecido inflamado, captura o invasor, degrada-o em peptídeos e migra para o linfonodo mais próximo. No linfonodo, apresenta o peptídeo antigênico associado ao MHC de classe II para os linfócitos T *helper* ou T CD4+ *naive*. O reconhecimento do complexo peptídeo/MHC II pelo TCR do linfócito T CD4+ corresponde ao primeiro sinal necessário para o início da sua ativação (Abbas *et al.*, 2021). Em seguida, ocorre a interação da molécula CD28 do linfócito com a molécula coestimuladora B7 presente na membrana da célula dendrítica, gerando o segundo sinal de ativação. Como consequência, o T CD4+, agora ativado, passa a secretar a citocina IL-2, que induz a sua expansão clonal e a expressão da molécula CD40L. Esta, por sua vez, ao se ligar à molécula CD40 da célula dendrítica, potencializa a sua ação apresentadora de antígeno por aumentar a expressão das moléculas do MHC e B7, e estimula a secreção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6 e IL-12). As citocinas IL-12 e IFN- γ participam da diferenciação do T CD4+ ativado no subtipo Th1, com potencial de secretar as citocinas IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α e quimiocinas (Abbas *et al.*, 2021; Molaei *et al.*, 2021). Entre as funções do Th1, destacam-se: a) ativação dos macrófagos pela secreção de IFN- γ ; b) ativação e diferenciação dos T CD8+ pela secreção de IL-2; c) indução pelo IFN- γ da mudança de classe das imunoglobulinas M (IgM) para subclasses de IgG; e d) secreção de TNF- α e quimiocinas, que contribuem para o recrutamento de leucócitos intensificando a reação inflamatória. Porém, vale ressaltar que, após a eliminação do invasor, cessam os sinais coestimuladores, bem como a secreção de citocinas que estimulavam a expansão clonal e a diferenciação dos linfócitos TCD4+. Diante disso, os linfócitos Th1 entram em apoptose, a resposta mediada pelo Th1 cessa, e a homeostasia do sistema imunológico é restabelecida (Catanzaro *et al.*, 2020; De Biasi *et al.*, 2020; De Sordi *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021; Ong *et al.*, 2020).

3.5 Resposta imune exacerbada e a tempestade de citocinas

A replicação rápida e intensa do SARS-CoV-2 é observada em alguns indivíduos sobretudo quando a cepa infectante inibe a produção do IFN- α pelas células iniciais infectadas. A não produção de IFN- α possibilita a disseminação mais rápida do vírus, com consequente aumento da carga viral. A alta carga viral desregula o sistema imune inato, acarretando elevada produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-12 e quimiocinas) por macrófagos e células dendríticas ativadas (Ragab *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2020; Soy *et al.*, 2020). Essa hiperinflamação caracteriza a fisiopatologia da forma grave da infecção pelo SARS-CoV-2, provocando alterações patológicas principalmente nos pulmões. Sabe-se que a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias está intrinsecamente relacionada com o quadro clínico do paciente, sendo um fator preditor de gravidade da doença devido à forte associação com a falência de múltiplos órgãos, podendo levar à morte (Fajgenbaum & June, 2020; Jose & Manuel, 2020; Molaei *et al.*, 2021; Ong *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2020; Rothan & Byrareddy, 2020).

Han e colaboradores (2020) determinaram o perfil de citocinas séricas em pacientes com COVID-19 e observaram que esses pacientes tinham níveis séricos elevados das citocinas: TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10. Porém, os níveis de IL-6 e IL-10 foram significativamente maiores nos pacientes com COVID-19 grave, quando comparado com os níveis

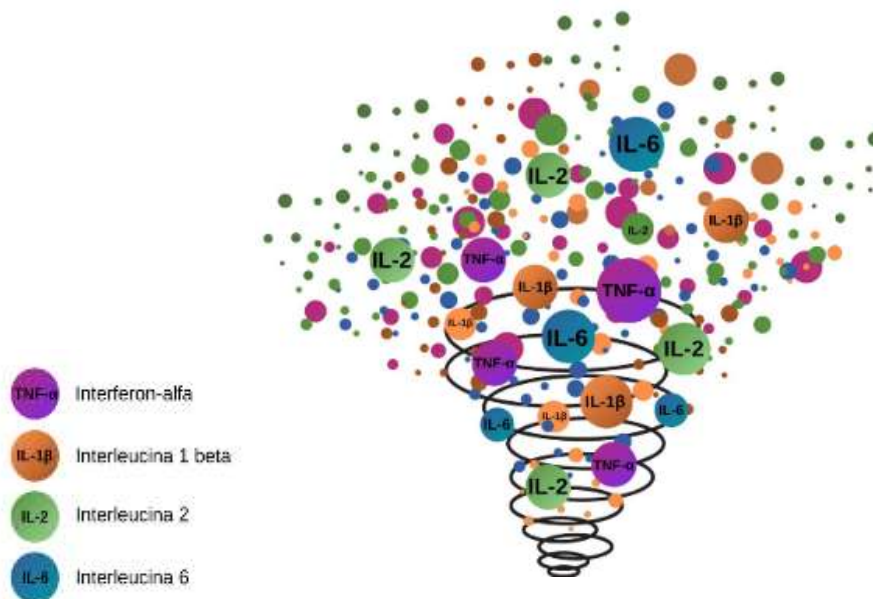
encontrados em pacientes com COVID-19 leve e moderada. Assim, a dosagem dos níveis séricos de IL-6 e IL-10 foram considerados preditores da gravidade da doença e pode ser usada para o diagnóstico rápido de pacientes com maior risco de agravamento da doença (Han *et al.*, 2020). Um outro estudo mostrou uma correlação positiva entre os níveis séricos elevados de IL-6 e da proteína C reativa. Porém, a IL-6 se comportou como um melhor preditor de progressão da doença no grupo de pacientes não sobreviventes, quando comparado à idade e a proteína C reativa. Assim, mais uma vez a dosagem sérica de IL-6 foi considerada como uma ferramenta relevante para avaliação prognóstica, principalmente como um preditor de resultado (Cruz *et al.*, 2021; Hagab *et al.*, 2020).

A busca incessante por explicações plausíveis que mostrem por que alguns pacientes desenvolvem a COVID-19 grave contribuiu para o reconhecimento de que é a própria resposta imune desenvolvida contra o SARS-CoV-2, e não a ação direta do vírus, que causa a tempestade de citocinas e a disfunção de múltiplos órgãos (Cao, 2020; Fajgenbaum & June, 2020; Molaei *et al.*, 2021). A resposta intensa do sistema imunológico no combate ao vírus provoca a hiperestimulação de suas células de defesa, causando uma tempestade de citocinas pró-inflamatórias e hiperinflamação. A compreensão desses fatos possibilitou a busca ativa de anti-inflamatórios que inibissem ou diminuíssem a tempestade de citocinas. Como elevados níveis séricos de IL-6 foram fortemente associados à baixa sobrevivência do paciente com COVID-19 grave teve início o tratamento de pacientes com o anticorpo monoclonal anti-IL-6, conhecido como Tocilizumabe®, que reduziu os casos de morte de pacientes hospitalizados com COVID-19 grave em 14%. Esses resultados reforçaram o papel patológico do excesso de citocinas pró-inflamatórias que culminam na tempestade de citocinas, e estimularam a busca por outros anti-inflamatórios com o mesmo objetivo de reduzir os níveis de citocinas no tecido inflamado (Cortegiani *et al.*, 2020; Cruz *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2020; Hermine *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020).

Além dos macrófagos, outras células da imunidade inata, como neutrófilos, células dendríticas e células NK, estão envolvidas na patogênese da tempestade de citocinas (Cao, 2020; Qin *et al.*, 2020). Em geral, os neutrófilos, o principal leucócito da inflamação aguda, eliminam os invasores por fagocitose, degranulação e formação das NETs (armadilhas extracelulares de neutrófilos). As NETs são estruturas intracelulares constituídas por: a) cromatina nuclear descondensada; b) proteínas citoplasmáticas, como a histona; e c) proteínas derivadas de seus grânulos. Os neutrófilos que migram para o tecido pulmonar inflamado podem ser estimulados pelos SARS-CoV-2 a liberar as NETs que, por sua vez, podem causar dano quando não são destruídas e eliminadas do tecido. Além disso, as NETs podem contribuir para a formação de trombos e amplificar ainda mais a produção de citocinas pró-inflamatórias durante a tempestade de citocinas (De Sordi *et al.*, 2020; Veras *et al.*, 2020).

As células dendríticas, assim como os macrófagos, são ativadas pelo reconhecimento de PAMPs (padrões moleculares associados ao patógeno) e, em resposta a esse reconhecimento, secretam citocinas pró-inflamatórias. Assim, quanto maior a carga viral, maior a ativação dessas células e maior a produção de citocinas para tentar conter o invasor. Já as células NK, ativadas pela IL-12, secretadas por macrófagos e células dendríticas, secretam o IFN- γ , que amplifica ainda mais a ativação dos macrófagos, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias. Assim, a hiperativação descontrolada dessas células da defesa inicial contribuiu para a formação e exacerbação da tempestade de citocinas (**Figura 3**), com consequente agravamento do paciente com COVID-19 (Cao, 2020; Fajgenbaum & June, 2020; Hu *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021)

Figura 3. Tempestade de citocinas.



Fonte: Autores.

A infecção pelo SARS-CoV-2 veio reforçar a compreensão da diferença entre uma resposta imune bem-sucedida e a resposta imune sem controle, com efeitos devastadores e consequências graves para o indivíduo. Porém, vale ressaltar que, além da participação das células de defesa da imunidade inata, observa-se o envolvimento da imunidade adquirida na COVID-19 grave, com a participação dos linfócitos T CD4+, dos subtipos Th1 e Th17. Os linfócitos Th1 promovem também a liberação de citocinas pró-inflamatórias, enquanto o Th17 secreta a IL-17, que participa intensamente do recrutamento de neutrófilos para o tecido inflamado, intensificando ainda mais a reação inflamatória e causando a síndrome inflamatória sistêmica (Cao, 2020; Fajgenbaum & June, 2020; Soy *et al.*, 2020).

Além disso, tanto o linfócito Th1 quanto o linfócito T CD8 efetor secretam o IFN- γ , que causa febre, calafrios, dor de cabeça, tontura e fadiga. Além do IFN- γ , outras citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) também induzem febre (Cao, 2020; Molaei *et al.*, 2021). O IFN- γ é uma citocina crítica para a imunidade inata e adquirida contra infecções virais, exercendo um importante efeito imunomodulador. Porém, como na COVID-19 grave essa citocina pode ser produzida em grande quantidade, alguns pesquisadores utilizaram o anticorpo monoclonal Emapalumabe® para neutralizar a resposta hiperinflamatória desencadeada à nível pulmonar e a tempestade de citocinas, uma vez que esse anticorpo se liga e neutraliza o IFN- γ (Poti *et al.*, 2020).

Em geral, o conceito de tempestade de citocinas é antigo, abrangente e envolve vários distúrbios que evidenciam a desregulação do sistema imunológico, caracterizada por inflamação sistêmica que, quando não controlada, pode levar à insuficiência de múltiplos órgãos (Mirtaleb *et al.*, 2021; Soy *et al.*, 2020). Os pacientes podem apresentar febre, cefaleia, fadiga, mialgia, artralgia, anorexia, diarreia, perda do olfato e paladar. Esses sintomas podem ser devido a danos no tecido provocado pelas citocinas pró-inflamatórias ou podem resultar de respostas mediadas por células de defesa, como a intensa migração de neutrófilos e a liberação de NETs. Em alguns casos, o quadro pode evoluir para a coagulação intravascular disseminada (CIVD), com oclusão vascular, dispneia, hipoxemia, hipotensão, desequilíbrio hemostático, choque e morte. Muitos pacientes apresentam sintomas respiratórios, como tosse e taquipneia, que podem progredir para a síndrome do desconforto respiratório agudo, com hipoxemia e necessidade de ventilação mecânica (Cao, 2020; Han *et al.*, 2020; Soy *et al.*, 2020).

A incapacidade do sistema imunológico de controlar a tempestade de citocinas levou à morte muitos pacientes com COVID-19. Assim, diante desse fato, uma atenção urgente foi direcionada para pôr em prática protocolos que minimizem a disseminação do SARS-CoV-2 e fornecer tratamento com agentes anti-inflamatórios com eficácia no controle de várias citocinas da síndrome de tempestade de citocinas. O alvo dessas drogas é geralmente a IL-1, IL-6, IL-18 e IFN- γ (Mirtaleb *et al.*, 2021). Entretanto, embora não haja um medicamento definitivo para o tratamento da tempestade de citocinas em pacientes com COVID-19, a administração de agentes anti-inflamatórios requer mais investigação. Enquanto isso, o Tocilizumabe® e o Emapalumabe® têm sido usados em pacientes com COVID-19 (Nile *et al.*, 2020; Poti *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020).

Em geral, a combinação de hiperinflamação, coagulopatia e baixa contagem de plaquetas coloca os pacientes com tempestade de citocinas em alto risco de hemorragia espontânea (Hu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021; Soy *et al.*, 2020). A hemostasia primária tem início com a lesão vascular, que imediatamente desencadeia vasoconstricção e formação do tampão plaquetário. Em seguida, ocorre a hemostasia secundária que é responsável pela ativação dos fatores de coagulação e trombina, com consequente transformação do fibrinogênio em fibrina. A cascata da coagulação é finalizada com a fibrinólise do trombo formado e, ocorre o retorno a hemostasia fisiológica (Marinho, 2021).

No entanto, na COVID-19 pode ocorrer uma quebra da hemostasia, gerando um estado pró-trombótico em razão da inflamação sistêmica exacerbada. Essa quebra da hemostasia, denominada coagulopatia induzida pela sepse, precede a CIVD. A resposta inflamatória sistêmica pode resultar em lesão endotelial e aumento na geração de trombina, seguida da redução de fibrinólise endógena. A trombina, além de promover a coagulação, é uma serino-protease que produz inflamação via PARs (proteínase-receptores ativados), principalmente a PARs-1.5, com aumento de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6). Esse estado pró-inflamatório exagerado e constante aumenta o consumo de anticoagulantes e diminui a sua produção, por meio do bloqueio do HF1-alpha. A soma desses fatores leva ao estado pró-trombótico, justificando a ocorrência da CIVD observada na COVID-19 grave. Como consequência, ocorre aumento do D-dímero, o qual tem sido associado a maior taxa de mortalidade e utilizado como fator prognóstico, tendo em vista que a elevação de seu nível circulante é indicativa de uma maior exacerbação da infecção. Visando esse estado pró-trombótico, faz-se necessário uma abordagem profilática com o uso de doses de heparina de baixo peso molecular nos pacientes em hospitalização para prevenção de eventos tromboembólicos, associado ao tratamento com corticoide na fase inflamatória da doença para redução dessa inflamação (Hu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Molaei *et al.*, 2021; Soy *et al.*, 2020).

4. Considerações Finais

Elevações dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias geralmente estão presentes na COVID-19 grave. Porém, a determinação dos seus níveis séricos e a identificação da(s) citocina(s) envolvida(s) não é uma tarefa fácil, pois a maioria dos serviços de saúde não apresentam laboratórios equipados para esse fim, e aqueles que o fazem são laboratórios experimentais voltados para a pesquisa. Além disso, as citocinas têm meia-vida curta, e a dosagem dos seus níveis séricos podem não fornecer dados precisos do nível de citocinas presentes no tecido inflamado e que estão envolvidas na tempestade de citocinas. Alguns estudos apontam fatores inerentes ao paciente, como hipertensão, diabetes e obesidade, que apresentam um estado inflamatório crônico preexistente, podem estar associados ao fenótipo da tempestade de citocinas. Assim, mais estudos são necessários para estabelecer diferenças entre os pacientes com COVID-19 que desenvolvem reação inflamatória protetora e equilibrada daqueles que desenvolvem reação inflamatória exagerada.

Referências

Abbas, A. K., Lichtman, A. H. Pillai, S. (2021). *Cellular and Molecular Immunology* (10a ed.). Oxford. Elsevier. 43- 89.

- Ali, A., & Vijayan, R. (2020). Dynamics of the ACE2–SARS-CoV-2/SARS-CoV spike protein interface reveal unique mechanisms. *Scientific reports*, *10*(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71188-3>
- Berhe, B., Legese, H., Degefa, H., Adhanom, G., Gebrewahd, A., Mardu, F., & Negash, H. (2020). Global epidemiology, pathogenesis, immune response, diagnosis, treatment, economic and psychological impact, challenges, and future prevention of COVID-19: A scoping review. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.02.20051052>
- Cao, X. (2020). COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature reviews immunology*, *20*(5), 269-270. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0308-3>
- Catanzaro, M., Fagiani, F., Racchi, M., Corsini, E., Govoni, S., & Lanni, C. (2020). Immune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2. *Signal transduction and targeted therapy*, *5* (1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0191-1>
- Cavalcante, J. R., Cardoso-dos-Santos, A. C., Bremm, J. M., Lobo, A. D. P., Macário, E. M., Oliveira, W. K. D., & França, G. V. A. D. (2020). COVID-19 em Brasil: evolução de la epidemia hasta la semana epidemiológica 20 de 2020. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, *29*(4). <https://doi.org/10.5123/s1679-49742020000400010>
- Cortegiani, A., Ippolito, M., Greco, M., Granone, V., Protti, A., Gregoretti, C., Giarratano, A., Einav, S., & Cecconi, M. (2020). Rationale and evidence on the use of tocilizumab in COVID-19: a systematic review. *Pulmonology*. <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2020.07.003>
- Cruz, A. S., Mendes-Frias, A., Oliveira, A. I., Dias, L., Matos, A. R., Carvalho, A., Capela, C., Pedrosa, J., Castro, A. G., & Silvestre, R. (2021). Interleukin-6 is a biomarker for the development of fatal fatal severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 pneumonia. *Frontiers in immunology*, *12*, 263. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.613422>
- De Biasi, S., Meschiari, M., Gibellini, L., Bellinazzi, C., Borella, R., Fidanza, L., Gozzi, L., Iannone, A., Lo Tartaro, D., Mattioli, M., Paolini, A., Menozzi, M., Milic, J., Franceschi, G., Fantini, R., Tonelli, R., Sita, M., Sarti, M., Trenti, T., & Cossarizza, A. (2020). Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia. *Nature communications*, *11*(1), 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17292-4>
- De Sordi, L. H. S., Magalhães, I. S. O., Casselhas, D. A., & Andrade, M. C. (2020). The Role of Innate Immunity in COVID-19. *Health Sciences Journal*, *10*(3), 5-8. <https://doi.org/10.21876/rchsci.v10i3.997>
- Dong, X., Tian, Z., Shen, C., & Zhao, C. (2020). An overview of potential therapeutic agents to treat COVID-19. *Bioscience trends*, *14*(5), 318-327. <https://doi.org/10.5582/bst.2020.03345>
- Ellinghaus, D., Degenhardt, F., Bujanda, L., Buti, M., Albillos, A., Invernizzi, P. & Kayhan, S. (2020). Genomewide association study of severe Covid-19 with respiratory failure. *New England Journal of Medicine*, *383*(16), 1522-1534. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2020283>
- Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine storm. *New England Journal of Medicine*, *383*(23), 2255-2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>
- Frieman, M., Heise, M., & Baric, R. (2008). SARS coronavirus and innate immunity. *Virus research*, *133* (1), 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.03.015>
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R., Groot, R. J. D., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020). Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. *Nature Microbiology*. <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.937862>
- Guo, Y. R., Cao, Q. D., Hong, Z. S., Tan, Y. Y., Chen, S. D., Jin, H. J., Tan, K. S., Wang, D. Y., & Yan, Y. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. *Military Medical Research*, *7*(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>
- Han, H., Ma, Q., Li, C., Liu, R., Zhao, L., Wang, W., Zhang, P., Liu, X., Gao, G., Liu, F., Jiang, Y., Cheng, X., Zhu, C., & Xia, Y. (2020). Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerging microbes & infections*, *9*(1), 1123-1130. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129>
- Hermine, O., Mariette, X., Tharaux, P. L., Resche-Rigon, M., Porcher, R., & Ravaud, P. (2021). Effect of tocilizumab vs usual care in adults hospitalized with COVID-19 and moderate or severe pneumonia: a randomized clinical trial. *JAMA internal medicine*, *181*(1), 32-40. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.6820>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2020). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Jose, R. J., & Manuel, A. (2020). COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *The Lancet Respiratory Medicine*, *8*(6), e46-e47. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30216-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30216-2)
- Kumar, S., Nyodu, R., Maurya, V. K., & Saxena, S. K. (2020). Morphology, genome organization, replication, and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). In *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)* (pp. 23-31). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7_3
- Li, G., Fan, Y., Lai, Y., Han, T., Li, Z., Zhou, P., Pan, P., Wang, W., Hu, D., Liu, X., Zhang, Q., & Wu, J. (2020). Coronavirus infections and immune responses. *Journal of medical virology*, *92*(4), 424-432. <https://doi.org/10.1002/jmv.25685>
- Liang, X. (2020). Is COVID-19 more severe in older men? *Postgraduate medical journal*, *96*(1137), 426-426. <http://dx.doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-137867>
- Lin, L., Lu, L., Cao, W., & Li, T. (2020). Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerging microbes & infections*, *9*(1), 727-732. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1746199>

- Long, Q. X., Tang, X. J., Shi, Q. L., Li, Q., Deng, H. J., Yuan, J., Hu, J. L., Xu, W., Zhang, Y., Lv, F. J., Su, K., Zhang, F., Gong, J., Wu, B., Liu, X. M., Li, J. J., Qiu, J. F., Chen, J., & Huang, A. L. (2020). Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature medicine*, 26(8), 1200-1204. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L. & Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The lancet*, 395(10224), 565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Marinho, D. S. (2021). Hiperfibrinólise perioperatória—fisiologia e fisiopatologia. *Brazilian Journal of Anesthesiology*, 71(65), 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.bjane.2020.12.007>
- Ministério da Saúde. (2021). COVID-19 no Brasil. *Banco de dados do Sistema Único de Saúde-DATASUS*. https://susanalitico.saude.gov.br/extensions/covid-19_html/covid-19_html.html
- Mirtaleb, M. S., Mirtaleb, A. H., Nosrati, H., Heshmatnia, J., Falak, R., & Emameh, R. Z. (2021). Potential therapeutic agents to COVID-19: An update review on antiviral therapy, immunotherapy, and cell therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111518. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111518>
- Molaei, S., Dadkhah, M., Asghariazar, V., Karami, C., & Safarzadeh, E. (2021). The immune response and immune evasion characteristics in SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2: Vaccine design strategies. *International immunopharmacology*, 107051. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107051>
- Munjal, M., Das, S., Chatterjee, N., Setra, A. E., & Govil, D. (2020). Systemic Involvement of Novel Coronavirus (COVID-19): A Review of Literature. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 24(7), 565. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23498>
- Nile, S. H., Nile, A., Qiu, J., Li, L., Jia, X., & Kai, G. (2020). COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine & growth factor reviews*, 53, 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.002>
- Ong, E. Z., Chan, Y. F. Z., Leong, W. Y., Lee, N. M. Y., Kalimuddin, S., Mohideen, S. M. H., Chan, K. S., Tan, A. T., Bertoletti, A., Ooi, E. E., & Low, J. G. H. (2020). A dynamic immune response shapes COVID-19 progression. *Cell host & microbe*, 27(6), 879-882. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.021>
- Overbaugh, J. (2020). Understanding protection from SARS-CoV-2 by studying reinfection. *Nature Medicine*, 26(11), 1680-1681. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1121-z>
- Poti, F., Pozzoli, C., Adami, M., Poli, E., & Costa, L. G. (2020). Treatments for COVID-19: emerging drugs against the coronavirus. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 91(2), 118. <https://doi.org/10.23750/abm.v9i1i2.9639>
- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D. S. (2020). Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical infectious diseases*, 71(15), 762-768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
- Rabi, F. A., Al Zoubi, M. S., Kasasbeh, G. A., Salameh, D. M., & Al-Nasser, A. D. (2020). SARS-CoV-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far. *Pathogens*, 9(3), 231. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030231>
- Ragab, D., Salah Eldin, H., Taemah, M., Khattab, R., & Salem, R. (2020). The COVID-19 cytokine storm; what we know so far. *Frontiers in immunology*, 11, 1446. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01446>
- Rothan, H. A., & Byrareddy, S. N. (2020). The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of autoimmunity*, 109, 102433. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>
- Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R. (2020, July). COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*, 24(2020), 91-98. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>
- Soy, M., Keser, G., Atagündüz, P., Tabak, F., Atagündüz, I., & Kayhan, S. (2020). Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clinical rheumatology*, 39, 2085-2094. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05190-5>
- Subbarao, K., & Mahanty, S. (2020). Respiratory virus infections: understanding COVID-19. *Immunity*, 52(6), 905-909. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.05.004>
- Tavares, C. D. A. M., Avelino-Silva, T. J., Benard, G., Cardozo, F. A. M., Fernandes, J. R., Girardi, A. C. C., & Jacob Filho, W. (2020). Alterações da ECA2 e Fatores de Risco para Gravidade da COVID-19 em Pacientes com Idade Avançada. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 115(4), 701-707. <https://doi.org/10.36660/abc.20200487>
- To, K. K. W., Hung, I. F. N., Ip, J. D., Chu, A. W. H., Chan, W. M., Tam, A. R., & Yuen, K. Y. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) re-infection by a phylogenetically distinct severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clinical Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1275>
- Veras, F. P., Pontelli, M. C., Silva, C. M., Toller-Kawahisa, J. E., de Lima, M., Nascimento, D. C., Schneider, A. H., Caetite, D., Tavares, L. A., Paiva, I. M., Rosales, R., Colon, D., Martins, R., Castro, I. A., Almeida, G. M., Lopes, M. I. F., Benatti, M. N., Bonjorno, L. P., Giannini, M. G. & Cunha, F. Q. (2020). SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *Journal of Experimental Medicine*, 217(12). <https://doi.org/10.1084/jem.20201129>
- World Health Organization. (2021). *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*. <https://covid19.who.int>
- Zhang, W., Zhang, C., Bi, Y., Yuan, L., Jiang, Y., Hasi, C., & Kong, X. (2021). Analysis of COVID-19 epidemic and clinical risk factors of patients under epidemiological Markov model. *Results in Physics*, 22, 103881. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2021.103881>

Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The lancet*, 395(10229), 1054-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)