



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76

Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2023

Investigação da produção de IL-17A na Covid-19: estudo *in vivo*

Dennise de Araujo Reis¹; Michelle Miranda Lopes Falcão²; Isis Carolina Cordeiro³ e Soraya Castro Trindade⁴

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: dennisereis2@gmail.com
2. Orientadora, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mmfalcao@uefs.br
3. Participante do Núcleo de Pesquisa, Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: isiscarolinaoc@gmail.com
4. Participante do projeto Estudos *in silico*, *in vitro* e *in vivo* aplicados ao tratamento e relacionados à determinação molecular de níveis de gravidade de COVID-19, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: soraya@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: citocinas; IL-17; COVID-19

INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma doença infecciosa causada pelo vírus SARS-CoV-2, que surgiu pela primeira vez em Wuhan-China, em dezembro de 2019, e devido a rápida disseminação do vírus, se espalhou globalmente (SHIBABAW, 2020). Os sintomas da doença incluem febre, tosse e até insuficiência respiratória aguda grave, podendo levar a óbito (WANG et al., 2020).

A inflamação pulmonar da COVID-19 está associada ao aumento de níveis plasmáticos de um padrão de citocinas pró-inflamatórias que incluem interleucina a IL-17A, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF), Interferon- γ (IFN- γ) e IL-12 (HIRANO; MURAKAMI, 2020). A IL-17A é o membro mais estudado da família de citocinas IL-17, sendo produzida por linfócitos T-helper (Th)-17 e por componentes celulares inatos (IWAKURA et al., 2011), sendo altamente produzida e modulada em pacientes com doenças crônicas de base inflamatória (MAIONE, 2016).

Níveis elevados de células do perfil Th17 foram encontrados em sangue periférico de pacientes diagnosticados com síndrome respiratória aguda grave devido à infecção pelo SARS-CoV-2 (MEGNA; NAPOLITANO e FABBROCINI, 2020; BULAT et al., 2021).

Assim, existe potencial relação entre níveis elevados de IL-17A e gravidade e progressão da COVID-19. Diante da importância de se entender melhor a fisiopatologia da doença, este trabalho tem como objetivo comparar os níveis de IL-17A no soro de indivíduos com as formas leve e grave da COVID-19, o que pode auxiliar na compreensão dos mecanismos de agravamento da doença, e, conseqüentemente, na abordagem terapêutica.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente investigação clínica em humanos faz parte de um projeto maior que engloba etapas *in silico*, *in vitro* e pré-clínica. Esta etapa foi aprovada pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 30764720.1.0000.0053; parecer nº 4.014.165). A fase de coleta de dados e material biológico foram efetuadas, compondo um banco biológico com os soros identificados. Trata-se de um estudo do tipo caso-controle onde foram selecionados indivíduos maiores de 18 anos, com diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2, selecionados em serviços de saúde da cidade de Feira de Santana, Bahia, Brasil. Indivíduos com a forma grave da COVID-19 fizeram parte do grupo caso, e com a forma leve fizeram parte do grupo controle. Gestantes, pessoas com doença autoimune em atividade e/ou neoplasia maligna em tratamento não foram incluídas. Coletaram-se dados referentes ao perfil socioeconômico-demográfico, condições de saúde geral e bucal, comportamento e estilo de vida e acesso ao serviço de saúde.

A detecção da infecção ativa por SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, foi realizada com a coleta de células na mucosa nasal utilizando-se swab de Rayon. Em seguida à coleta, o material foi encaminhado para a detecção do RNA viral por biologia molecular (RT-qPCR). A definição do diagnóstico da COVID-19 foi feita por um médico experiente especialista em pneumologia (BRASIL, 2020).

Para a quantificação dos níveis séricos de IL-17A, o sangue periférico dos participantes foi coletado na fossa antecubital e, em seguida, centrifugado para a obtenção do soro, que foi armazenado a -20°C até o momento da análise através de imunoenzimático.

A produção de IL-17 no soro foi mensurada por meio de kits disponíveis comercialmente (R&D, Systems, Mineapolis, EUA). Os ensaios foram realizados usando-se placas de poliestireno de alta adsorção com 96 poços de fundo chato (COSTAR, Coornig Life Science, Tewksbury, MA, EUA). As amostras foram diluídas conforme padronização prévia em diluente de reagente recomendado pelo fabricante (BIOLEGEND, CA, EUA) e todas as demais etapas foram realizadas também de acordo com as instruções do fabricante. A densidade óptica foi determinada em Leitora de ELISA (ELx 800 – Bio-Tek) ajustada para um comprimento de onda na faixa de 450 nm.

Após análise descritiva, os dados foram analisados de acordo com a distribuição da normalidade. Os testes T de Student e Mann-Whitney foram usados para os dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente, adotando a significância de 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram desse estudo 117 pessoas, sendo 38 componentes do grupo caso e 79 do grupo controle. 53% (62) dos participantes foram do sexo masculino e 47% (55) do sexo feminino. Indivíduos autodeclarados pardos foram a maioria da amostra (n= 74; 64,9%), seguido de brancos (n= 25; 21,9%), pretos (n= 12; 10,5%) e amarelos (n= 3; 2,6%). A idade dos indivíduos variou de 21 a 93 anos, tendo uma média de 52,21 anos e mediana de 21,20. Aproximadamente, 61% (n=71) dos participantes apresentaram grau de escolaridade com presença de ensino superior completo ou incompleto.

Em relação à saúde, 21,2% eram hipertensos, 15,5% diabéticos e 8,6% cardiopatas. Quanto ao estilo de vida, 84,5% eram tabagistas crônicos e 47,9% etilistas. A maioria da amostra (65%) referiu acessar o serviço de saúde apenas quando apresentava algum tipo de doença ou desconforto, não costumava realizar consultas preventivas de rotina. O acesso geralmente é nas unidades básicas de saúde vinculadas à microárea onde residia.

Foi possível observar que em indivíduos com COVID-19 grave, a concentração de IL-17 apresentou média 1,12, um valor levemente maior se comparado aos participantes com COVID na forma leve ($p=0,115$). A concentração linear de IL-17 também apresentou valores mais elevados em indivíduos que desenvolveram COVID-19 grave, porém, sem significância estatística ($p=0,115$). Da mesma forma, a densidade óptica de IL-17 apresentou valores maiores em indivíduos portadores de COVID-19 grave, com valor médio de 0,081 e $p=0,063$ (Tabela 1).

Tabela 1: Nível de IL-17 no soro de indivíduos portadores de COVID-19 grave ou leve

Variável	COVID-19 grave n=36	COVID-19 leve n=73	Valor de p
Densidade óptica IL-17	0,081 +/- 0,043	0,076 +/- 0,028	0,063

Fonte: próprio autor.

Ao comparar os grupos com as formas leve e grave da COVID-19, observa-se homogeneidade na expressão da densidade óptica de IL-17 entre os grupos ($p=0,063$), conforme demonstrado na Figura 1.

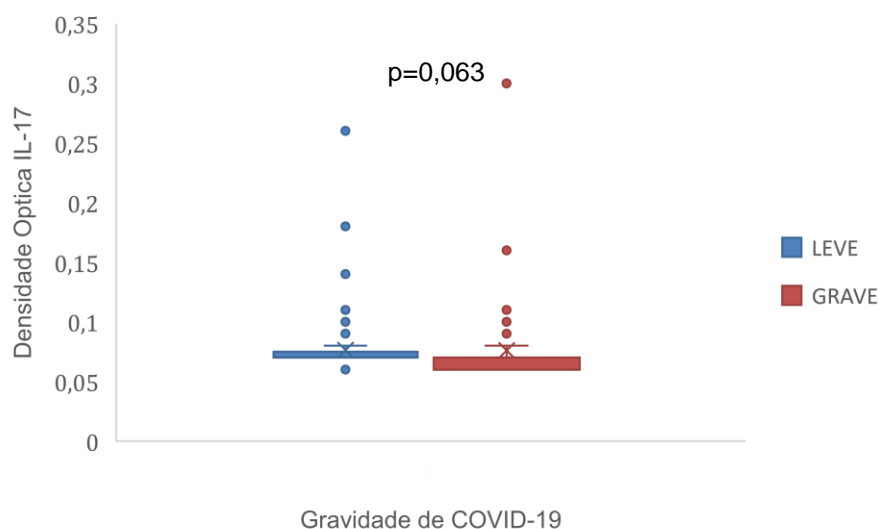


Figura 1: Comparação da densidade óptica de IL-17 entre os grupos

A partir dos resultados obtidos, foi possível observar que o nível de IL-17 se encontra mais elevado em indivíduos portadores da COVID-19 grave, o que pode exacerbar a tempestade inflamatória ocorrida no processo da doença. Segundo a literatura, a IL-17 mostra-se como um mediador predominante da inflamação pulmonar, sendo capaz de ativar diversas vias de sinalização, que por sua vez levam à produção de muitas outras citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas de células alveolares (RYZHAKOV et al., 2011).

Em uma revisão com metanálise, buscou-se examinar as vias inflamatórias envolvidas na COVID-19 com foco particular nos níveis séricos de IL-17A. Comparações foram realizadas entre pacientes portadores de COVID-19 grave ou moderada (grupo caso) e pacientes saudáveis (grupo controle). A partir disso, observaram que a IL-17A foi significativamente maior no soro de pacientes com doença grave e moderada, em comparação com os controles. Entretanto, afirmaram que além das limitações presentes no estudo, as informações presentes na

literatura ainda não tinham a robustez necessária para que a elevação da IL-17 fosse considerada um marcador confiável e consistente de gravidade da doença (FADLALLAH; SHAM EDDIN; RAHAL, 2021).

CONCLUSÃO

Existe maior nível de IL-17 entre os casos de COVID-19 do tipo grave, entretanto, não houve significância estatística entre os grupos. Sugere-se que novos estudos sejam realizados na tentativa de buscar biomarcadores que sinalizem para o risco do desenvolvimento da forma grave da doença.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. **Diretrizes para diagnóstico e tratamento da COVID-19. Brasília: Ministério da Saúde**; 2020. Disponível em: <<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/April/13/Diretrizes-COVID-13-4.pdf>>.
- BULAT, V. et al. Potential role of IL-17 blocking agents in the treatment of severe COVID-19? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 87, n. 3, p. 1578–1581, 5 mar. 2021.
- FADLALLAH, S.; SHAM EDDIN, M. S.; RAHAL, E. A. IL-17A in COVID-19 Cases: a meta-analysis. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 15, n. 11, p. 1630–1639, 30 nov. 2021.
- HIRANO, T.; MURAKAMI, M. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. **Immunity**, v. 52, n. 5, p. 731–733, maio 2020.
- IWAKURA, Y. et al. Functional Specialization of Interleukin-17 Family Members. **Immunity**, v. 34, n. 2, p. 149–162, fev. 2011.
- MAIONE, F. Commentary: IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, 11 ago. 2016.
- MEGNA, M.; NAPOLITANO, M.; FABBROCINI, G. May IL-17 have a role in COVID-19 infection? **Medical Hypotheses**, v. 140, p. 109749, jul. 2020.
- RYZHAKOV, G. et al. IL-17 Boosts Proinflammatory Outcome of Antiviral Response in Human Cells. **The Journal of Immunology**, v. 187, n. 10, p. 5357–5362, 15 nov. 2011.
- SHIBABAW, T. <p>Inflammatory Cytokine: IL-17A Signaling Pathway in Patients Present with COVID-19 and Current Treatment Strategy</p>. **Journal of Inflammation Research**, v. Volume 13, p. 673–680, out. 2020.
- WANG, Q. et al. A Unique Protease Cleavage Site Predicted in the Spike Protein of the Novel Pneumonia Coronavirus (2019-nCoV) Potentially Related to Viral Transmissibility. **Virologica Sinica**, v. 35, n. 3, p. 337–339, 20 jun. 2020.