

CENTRO UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO - UNIBRA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

LAÍS DE OLIVEIRA SILVA  
VIVIANE MARIA BARBOSA DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMARCADORES PARA A  
COVID-19: EXPECTATIVAS E REALIDADES**

RECIFE/2021

LAÍS DE OLIVEIRA SILVA  
VIVIANE MARIA BARBOSA DE SOUZA

## **DESENVOLVIMENTO DE BIOMARCADORES PARA A COVID-19: EXPECTATIVAS E REALIDADES**

Artigo apresentado ao Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA,  
como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em  
Farmácia.

Professor Orientador: Prof. Dr. Raul Emídio de Lima

RECIFE/2021

S586d

Silva, Laís de Oliveira

Desenvolvimento de Biomarcadores para a covid-19  
Expectativas e Realidades / Laís de Oliveira Silva; Viviane Maria  
Barbosa de Souza. - Recife: O Autor, 2021

36 p.

Orientador: Dr. Raul Emídio de Lima

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro  
Universitário Brasileiro – UNIBRA. Bacharelado Farmácia  
bacharelado, 2021

1. SARS-COV-2. 2. Infecção viral. 3. Diagnóstico  
laboratorial. I. Centro Universitário Brasileiro - UNIBRA. II.  
Título.

CDU: 615

*Dedicamos esse trabalho a nossos pais.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus por toda força que Ele nos tem dado, fazendo com que chegássemos até este momento.

A instituição por todo suporte fornecido durante a graduação.

Aos professores, por todas as contribuições, e em especial ao nosso orientador por todo o suporte.

*“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo.  
Todos nós sabemos alguma coisa. Todos  
nós ignoramos alguma coisa. Por isso  
aprendemos sempre.”  
(Paulo Freire)*

## Lista de abreviaturas

**2-HG** – 2-hidroxi-glutarato

**AIDS** – *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

**BRCA** – *Breast Cancer Gene*

**COVID-19** – Doença do coronavírus 19

**CK** – Creatina Kinase

**ECA-2** – Enzima Conversora de Angiotensina 2

**EGFR** – *Epidermic Growth Factor Receptor*

**GM-CSF** – Fator Estimulador de Colônias Granulocíticas

**IFN** – Interferon

**IL** – Interleucina

**LDH** – Lactato Desidrogenase

**MERS-CoV** – Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio

**NFAT** – Fator ativador de Células T

**PCR** – Proteína C reativa

**PCR** – *Polimerase Chain Reaction*

**RBD** – *Region Binding Domain*

**RBM** – *Region Binding Motif*

**TNF** – *Tumoral Necrosis Factor*

**TGP** – Transaminase Glutâmico Pirúvica

**TMPRSS2** – Proteína Serina Protease Transmembrana 2

**TP** – Tempo de Pró-trombina

**TTPA** – Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

**VGFR** – *Vascular Growth Factor Receptor*

**SARS-CoV-2** – *Several Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2*

**WHO** – *World Health Organization.*

## **Lista de figuras**

<b>Figura 1</b> – Gráfico retirado diretamente da plataforma World Health Organization Dashborad, a qual mostra os dados de número de casos notificados descritos por região global.....	<b>11</b>
<b>Figura 2</b> – Vacinação entre países do continente americano e europeu.....	<b>12</b>
<b>Figura 3</b> – Genoma do SARS-CoV-2 .....	<b>13</b>
<b>Figura 4</b> – Árvore filogenética dos betacoronavírus .....	<b>13</b>
<b>Figura 5</b> – Mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 comprovado experimentalmente.....	<b>16</b>
<b>Figura 6</b> – Lista de artigos sobre biomarcadores classificados por área.....	<b>19</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Objetivos específicos .....</b>	<b>10</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 <i>Epidemiologia da COVID-19</i>.....</b>	<b>11</b>
<b>3.4 <i>Relevantes achados laboratoriais</i>.....</b>	<b>16</b>
<b>3.5 <i>Biomarcadores: conceitos e aplicações</i>.....</b>	<b>18</b>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>18</b>
<b>5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>28</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>29</b>

## DESENVOLVIMENTO DE BIOMARCADORES PARA A COVID-19: EXPECTATIVAS E REALIDADES

Laís de Oliveira Silva  
Viviane Maria Barbosa de Souza  
Prof. Dr. Raul Emídio da Silva<sup>1</sup>

**Resumo:** Entender como o Coronavírus tipo 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês, Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavírus-2) se comporta durante seu processo de infecção é uma estratégia fundamental não só para conter propagação do vírus, mas também para propor estratégias de tratamento e diagnóstico. Neste sentido, o uso de biomarcadores uma das estratégias de controle ou monitoramento já a bastante tempo empregadas, seja nesta ou em outras doenças infecciosas, permitindo mensurar qual tipo de doença acomete o indivíduo, a partir de metabólitos gerados no organismo, oriundos direta e indiretamente da doença que está em curso. Dessa forma o objetivo dessa revisão foi de explanar sobre as expectativas e realidades quanto ao uso de biomarcadores para a COVID-19. Foram selecionados os artigos de maior relevância publicados no ano de 2020 até 2021, utilizando as palavras “laboratory biomarkers” e “COVID-19” como descritores para busca. De acordo com o levantamento feito através da base de dados Scopus (Elsevier), foram encontradas 20 publicações relacionadas com o uso de biomarcadores para COVID-19. É possível vislumbrar que em breve novos tipos de biomarcadores poderão ser empregados tanto para o monitoramento da doença como para monitoramento da terapia, que vem sendo desenvolvida pela indústria bem como centros de pesquisa. Ainda assim, mais estudos precisam ser realizados para avaliar a especificidade dos biomarcadores descritos nessa revisão.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2. Infecção viral. Diagnóstico laboratorial.

---

<sup>1</sup>Graduado pela Universidade de Pernambuco (UPE) e pós-graduado pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Professor do núcleo de Farmácia no Centro Universitário Brasileiro (UNIBRA). E-mail: raul.emidio@grupounibra.com

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os mais diversos tipos de doenças existentes a nível mundial, as infecções virais estão entre as mais comuns de ocorrerem, devido a uma variedade de fatores externos como o ambiente propício para proliferação dos vírus, e internos, como a susceptibilidade do hospedeiro. Essa afirmação é apoiada firmemente pelos dados epidemiológicos, que descrevem as infecções virais como uma das principais responsáveis pela promoção de doenças, seja de níveis mais simples até níveis mais complexos de saúde (HOLMES *et al.*, 2017; JEFFERSON *et al.*, 2020; HOUGHTON *et al.*, 2020; ONG *et al.*, 2020; HAY *et al.*, 2021).

Atualmente, uma das infecções virais que demonstra a grande virulência e patogenicidade dos vírus, colocou em xeque uma questão que merece ser levada em consideração: como uma doença de origem viral deve ser realmente manejada? Bem, sabemos agora, que a ciência ainda está longe de ter a melhor resposta para essa questão. A pandemia da COVID-19 mostra que a ciência é construída dia após dia, não é à toa que toda ciência, para ser considerada como tal, precisa demonstrar que suas hipóteses podem ser confirmadas experimentalmente. E no caso, deste tipo de doença, é fundamental a presença de parâmetros específicos, capazes de mensurar que o indivíduo acometido, está realmente infectado por uma doença de origem viral (ALAM, 2020; MEDEIROS, 2020; AMANKWAH-AMOA; KHAN; WOOD, 2021).

Entretanto, por se tratar de uma nova cepa com características inclusive bem diferentes da cepa que originou sua mutação (SARS-Cov-1), grande parte das metodologias anteriores utilizadas para identificação do patógeno tiveram que ser modificadas, considerando as novas características dessa cepa, sendo esse um fator que dificultou a realização de diagnósticos eficazes no início da pandemia. Dessa forma, houve a necessidade de que esta nova cepa fosse isolada, para que respostas pudessem ser obtidas sobre a maneira com que o SARS-CoV-2 era capaz de se replicar e promover uma rápida propagação da doença de forma a se espalhar para diversas regiões que eram distantes ao seu território de origem (ARAUJO *et al.*, 2020).

Entender como o Coronavírus tipo 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês, Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavírus-2) se comportava durante seu processo de infecção é uma estratégia fundamental não só para conter a propagação do vírus no mundo, mas também para propor estratégias de tratamento e diagnóstico (LOPEZ-DOLADO; GIL-AGUDO, 2020; MACKENZIE; SMITH, 2020; MORENS *et al.*, 2021; KANNE *et al.*, 2021).

Neste sentido, uma das estratégias de controle ou monitoramento já há bastante tempo empregadas, seja nesta ou em outras doenças infecciosas, é o uso de biomarcadores laboratoriais, que permitem mensurar qual tipo de doença acomete o indivíduo, a partir de metabólitos gerados no organismo, oriundos direta e indiretamente da doença que está em curso no indivíduo. Dessa forma, estes componentes do sistema do próprio hospedeiro, podem ajudar a compreender qual tipo de agente etiológico é o responsável pela doença bem como entender em qual quadro clínico o paciente se apresenta (HWANG; HWANG; BUENO, 2018; TRIBOLET *et al.*, 2020).

## **2 OBJETIVO GERAL**

Explicar sobre as expectativas e realidades associadas ao desenvolvimento de biomarcadores laboratoriais utilizados para a COVID-19.

### **2.1 Objetivos específicos**

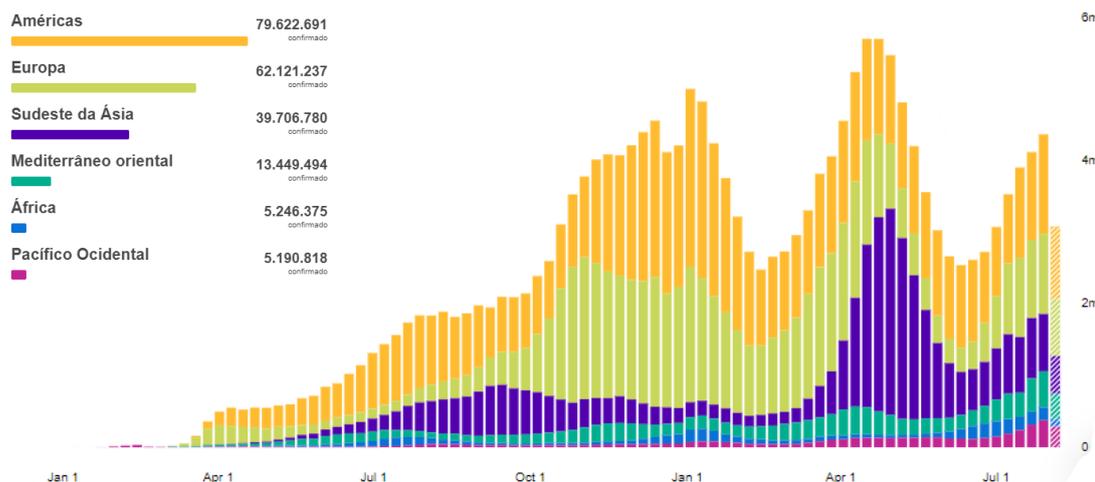
- Descrever de maneira geral as características biológicas do SARS-Cov-2;
- Destacar os principais biomarcadores indicados para COVID-19, seja para fins de prognóstico;
- Descrever o uso destes biomarcadores, destacando a fase de estudo em que foram aplicados bem como sua correlação com a doença.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Epidemiologia da COVID-19

De acordo com os dados obtidos diretamente a partir da plataforma World Health Organization Dashborad, para o ano de 2021, o número atual de casos até o mês de agosto foi de cerca de mais de 205 milhões de novos casos, com mais de 4 milhões de mortes. Deste número, mais de 38% do número de casos se concentra no continente americano (Figura 1).

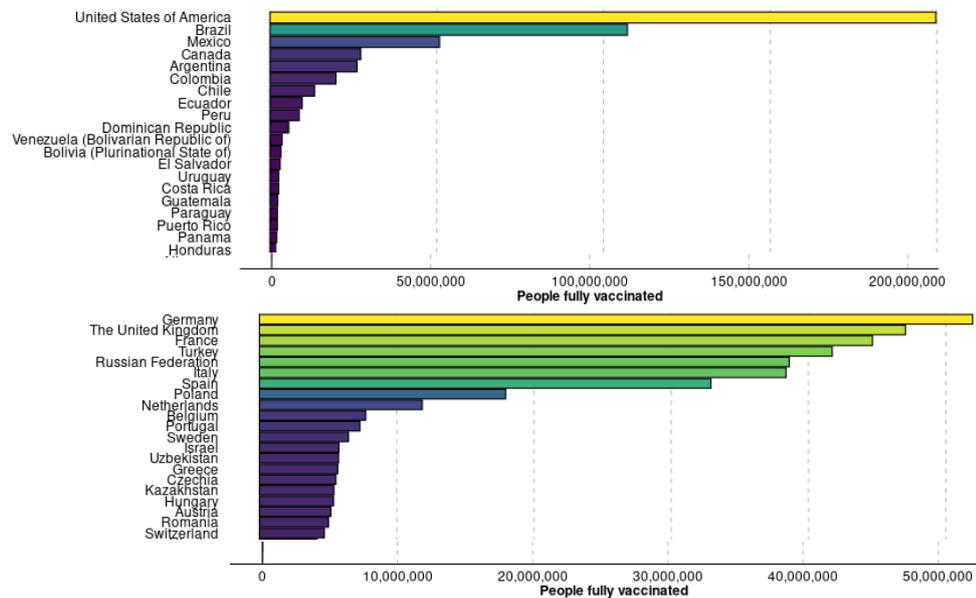
**Figura 1** – Gráfico retirado diretamente da plataforma World Health Organization Dashborad, a qual mostra os dados de número de casos notificados descritos por região global.



Fonte: WHO, 2021.

Grande parte dessas infecções detectadas nas Américas são decorrentes de países como Estados Unidos e Brasil, que juntos correspondem a mais de 70% do número de casos no continente (WHO, 2021). Em relação ao número de mortes, o comportamento é bastante semelhante, onde mais de 17% dos óbitos se concentraram até o momento, nestes dois países. Em relação a taxa de vacinação há uma completa mudança de cenário não só entre os dois países, mas entre vários países desenvolvidos do continente europeu, como mostra a figura 2 (WHO, 2021).

**Figura 2** – Vacinação entre países do continente americano e europeu. Dados obtidos no dia 14 de agosto de 2021.



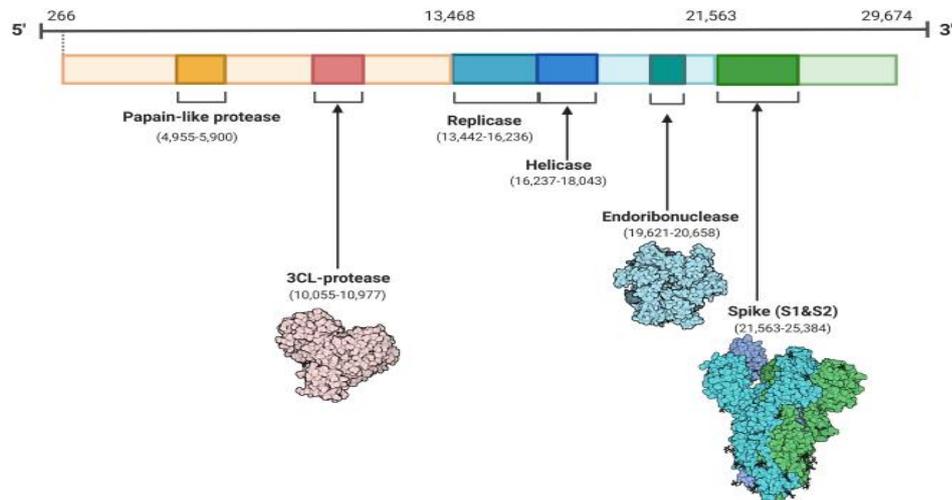
Fonte: WHO, 2021.

Estes resultados são alarmantes para o Brasil, pois evidenciam que o número de pessoas completamente vacinadas (i. e., pessoas que vacinadas com todas as doses) considerando toda a população do território, está bem abaixo do esperado. É claro que a população do Brasil em relação aos outros países Europeus é bem maior, mas isso ainda assim não justifica o baixo número de vacinados, visto que os Estados Unidos mesmo apresentando uma população bem acima dos outros países está bem à frente do Brasil (WHO, 2021).

### 3.2 Características do SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um coronavírus pertencente a ordem das *betacoronaviruses*, uma classificação feita com base na organização de seu genoma, que é bastante semelhante ao SARS-CoV-1 e ao MERS-CoV (Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio). Todos estes vírus possuem seis estruturas básicas: enzimas de hidrólise de proteínas (proteases) e replicação (replicases), proteína Spike (S), nucleocapsídeo, membrana e envelope. A semelhança entre SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 acontece até mesmo em relação ao proteoma, havendo uma conservação de mais de 90% dos aminoácidos (SHANG; LI; NING, 2020; HU *et al.*, 2021). A figura 3 mostra o genoma do SARS-CoV-2 e as proteínas resultantes de sua codificação.

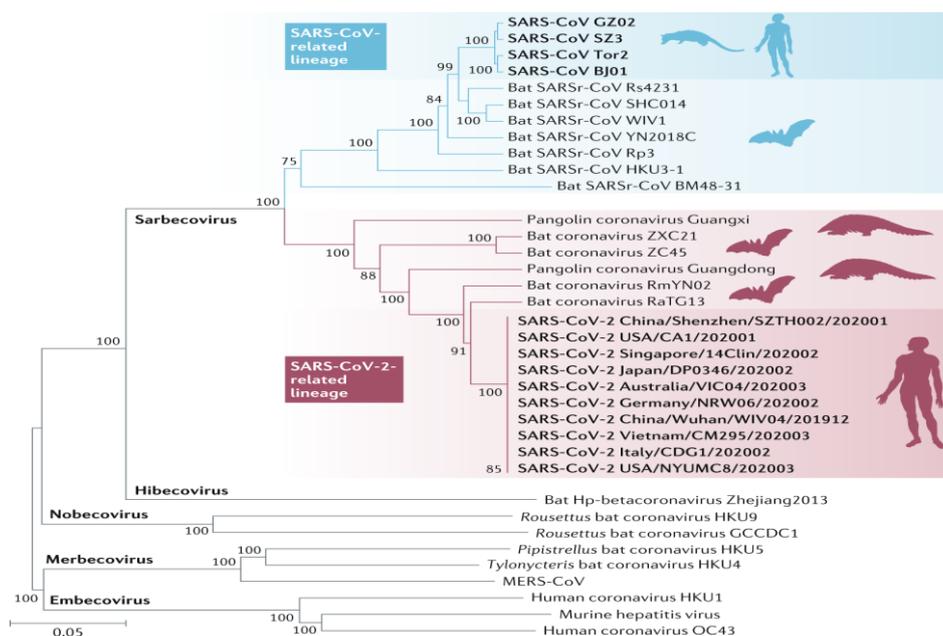
**Figura 3 – Genoma do SARS-CoV-2**  
Single Stranded RNA genome of SARS CoV-2  
(~30kb length)



Fonte: CASCELLA *et al.*, 2021

Estudos filogenéticos (figura 4) evidenciaram o alto grau de similaridade dessa nova cepa em relação ao SARS-CoV-1 e demais coronavírus através de análises realizadas em morcegos. Esta avaliação fez com que o SARS-CoV-2 fosse agrupado em um subgênero dos betacoronavírus e classificado filogeneticamente como um coronavírus relacionado com o SARS (SARS-CoV), que são cepas presentes exclusivamente em morcegos (CIOTTI *et al.*, 2020; KOZLOVSKAYA *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020).

**Figura 4 – Árvore filogenética dos betacoronavírus**



Fonte: HU *et al.*, 2021.

A principal diferença encontrada nestas análises ocorre no número de total de aminoácidos, que é mais elevado para o SARS-CoV-2 de todas estas outras cepas virais. Embora esse número não seja tão distante (1.273 aminoácidos) em relação as outras espécies (SARS-CoV (1.255) e SARSr-CoVs (1.245 até 1.269)), suas características podem sim ser bem diferentes, ainda mais no que diz respeito a patogenicidade bem como a virulência desta nova espécie (HU *et al.*, 2021). É justamente neste aspecto que o SARS-CoV-2 consegue apresentar características peculiares, como o tipo de proteína S, que apresenta quatro resíduos de aminoácidos (prolina, arginina, arginina e alanina) característicos em sua superfície que apresentam uma complementariedade molecular com biomacromoléculas presentes nas células humanas, facilitando o processo de penetração neste organismo (HU *et al.*, 2021).

### **3.3 Principais características fisiopatológicas da COVID-19**

O SARS-CoV-2 assim como outros coronavírus, é capaz de infectar uma variedade de células de um indivíduo, no entanto, sabe-se que uma das principais características dessa classe de vírus é a promoção de infecções das vias respiratórias, devido ao tropismo que estes agentes apresentam pelas células que compõem esse tecido (BONNY *et al.*, 2020). Devido as características únicas apresentadas anteriormente nesta espécie (SARS-CoV-2); ao chegar no tecido pulmonar, sua capacidade replicativa está bastante aumentada, gerando elevados danos celulares que culminam na morte das células pulmonares (BONNY *et al.*, 2020; COSTELA-RUIZ *et al.*, 2020).

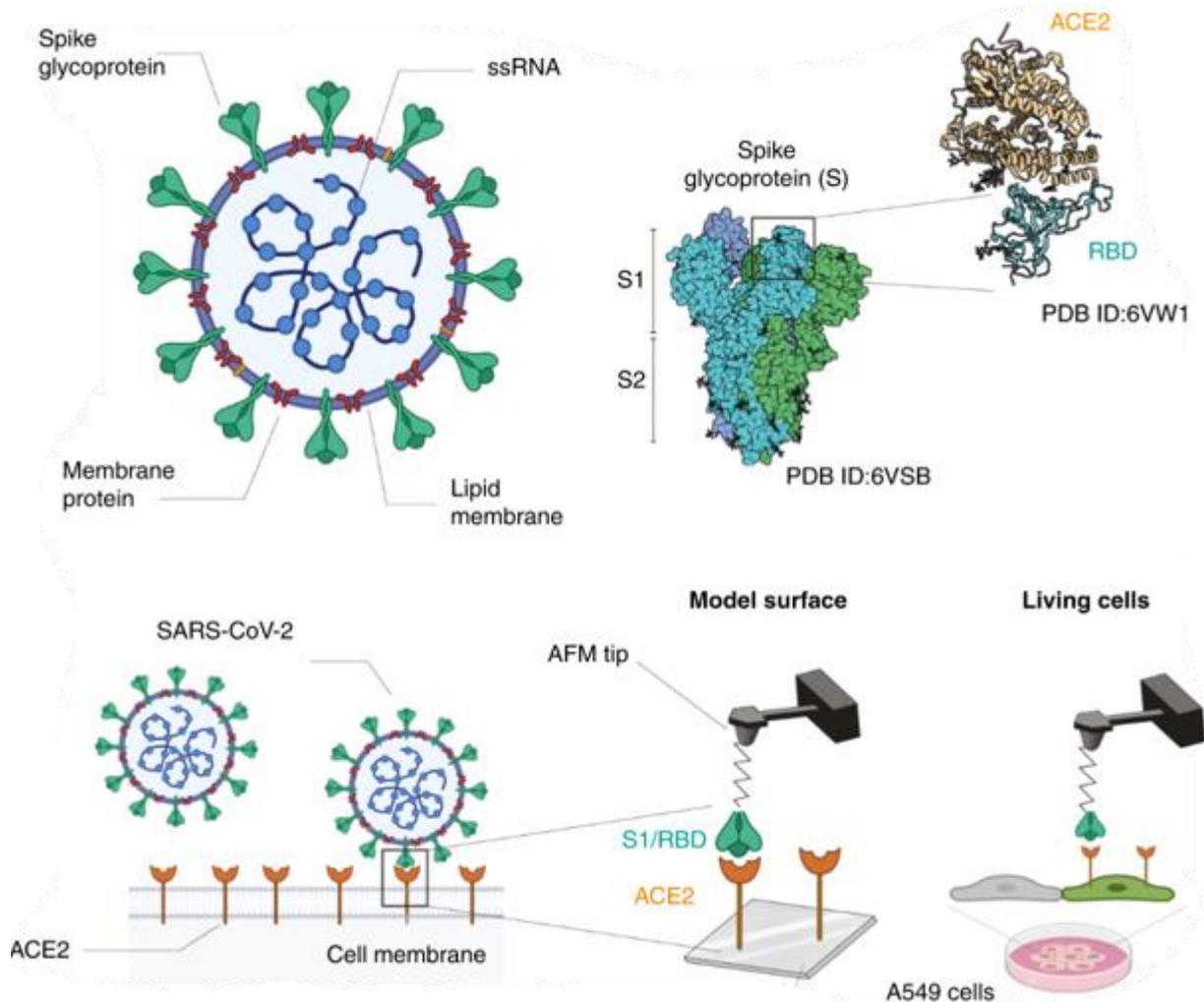
Outros tecidos como coração, fígado, vasos sanguíneos e cérebro, também estão sujeitos a infecção pelo SARS-CoV-2, e isso se dá devido ao alvo utilizado pelo vírus como “porta de entrada”, que é a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA-2), que apresenta isoformas presentes em outras espécies como porcos, macacos, coelhos e cachorros; razão pela qual estes organismos também podem ser infectados por este vírus, mas sem a possibilidade transmissão da doença. Estudos realizados com estruturas cristalográficas mostram as regiões de domínio de ligação (*Region Binding Domain*) bem como os motivos proteicos (principais aminoácidos) de ligação ao receptor (*Receptor Binding Motif*) ECA-2 com o SARS-CoV-2. Estes estudos mostram que o vírus apresenta 5 resíduos de aminoácidos (leucina 445, fenilalanina 486, glutamina 493, serina 494 e asparagina 501) que proporcionam uma interação

de maior afinidade com a ECA2 humana (BOSSO *et al.*, 2020; HU *et al.*, 2021; MUSAVI *et al.*, 2021).

Após a ligação ao receptor da ECA-2, o vírus precisa ter suas subunidades proteicas clivadas para então ser capaz de penetrar na célula, sendo necessário o uso de proteases do hospedeiro para catalisar o processo de entrada. A proteína serina protease transmembrana 2 (TMPRSS2) realiza essa função, utilizando o resíduo de serina, que é um grupamento nucleofílico capaz de promover o ataque no carbono da carbonila que compõe os resíduos de aminoácidos presentes na subunidade 1 da proteína S. Tecidos como o pulmão, apresentam células epiteliais, que possuem um elevado número de TMPRSS2 bem como ECA-2 em sua superfície, justificando o porquê que o SARS-CoV-2 tem uma grande afinidade pelo sistema respiratório (STOPSCAK *et al.*, 2020; STROPE; CHAU, 2020).

Como consequência, o vírus consegue entrar facilmente nas células epiteliais do pulmão, chegando aos alvéolos pulmonares rapidamente, no qual sua replicação nesta região causa uma rápida resposta por parte do sistema imune do hospedeiro, promovendo a produção de citocinas pró-inflamatórias que gerando um alto estresse oxidativo, que destrói o vírus, mas, ao mesmo tempo provoca danos irreversíveis para as células do trato respiratório (ZIEHR *et al.*, 2020). O fenômeno denominado síndrome respiratória aguda grave (*Syndrome Acute Respiratory Severe*), é justamente esse comprometimento da troca gasosa devido a essa proliferação e consequentemente destruição dos alvéolos pulmonares, que se não tratado com medidas de intervenção, pode levar morte a dos indivíduos em questão de dias (ZINI *et al.*, 2020; CARCATERRA; CARUSO, 2021). A figura 5 mostra como o vírus utiliza a ECA-2 para conseguir penetrar a célula humana.

**Figura 5** – Mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 comprovado experimentalmente.



Fonte: YANG *et al.*, 2020.

### 3.4 Relevantes achados laboratoriais

Para que casos de SARS não venham a ocorrer, é imperativo que intervenções sejam realizadas bem antes do comprometimento do sistema respiratório, e para isso, a realização de análises laboratoriais são fundamentais, pois permitem determinar níveis circulantes do vírus, através de parâmetros analíticos obtidos de amostras de fluidos do hospedeiro. A partir destes dados, é possível determinar em qual fase de infecção o indivíduo se encontra, no qual resultados presentes na literatura, demonstram importantes achados laboratoriais já definidos com relação a infecção provocada pelo SARS-CoV-2 (STALLARD *et al.*, 2020; TSOUNGUI *et al.*, 2021).

Em relação às dosagens de células imunológicas e hematológicas, sabe-se que indivíduos infectados podem apresentar uma produção diminuída dessas células, devido indução de apoptose mediada pela produção de interleucina-1 (IL-1), havendo

também a supressão de células precursoras tanto de origem mieloide quanto linfoide. Linfócitos CD4+ e CD8+ e células assassinas naturais (NK), mas nesse caso em altos níveis (PIZZOL *et al.*, 2020; XAVIER *et al.*, 2020; GOUDOURIS, 2021).

Para parâmetros bioquímicos, há um grande aumento dos níveis de proteína C reativa (PCR), D-dímero, ferritina, lactato-desidrogenase (LDH), tempo de pró-trombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), proteína amiloide sérica, creatinina cinase (CK), ureia e creatinina. IL-6, IL-8, IL-10, interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e o fator estimulador de colônias granulocíticas (GM-CSF), são biomarcadores da resposta imunológica encontrados em níveis elevados (LOU *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2020; GOUDORIS, 2021).

Exames de imagem, como raio-X, tomografia computadorizada e ultrassonografia pulmonar, são ferramentas eficazes lançadas a mão, que possuem uma grande eficácia seja para o diagnóstico bem como para determinação do quadro clínico dos pacientes (KHUZANI; HEIDARI; SHARIATI, 2021; SHAH *et al.*, 2021).

Embora já estas ferramentas sejam eficazes para determinação da grande maioria das infecções, estas análises ainda não apresentam parâmetros que sejam específicos para o diagnóstico da COVID-19. As dosagens laboratoriais por exemplo, se baseiam em parâmetros que estão presentes em diversas doenças inflamatórias, de forma que indivíduos com comorbidades, que é o principal grupo de risco da doença, acabam não sendo avaliados da melhor maneira possível. Além disso, diversas outras doenças de origem viral como é o caso das arboviroses, podem ser as responsáveis pelas alterações dos parâmetros fisiológicos, gerando resultados falso-positivos. E no caso dos testes por imagem, embora seja uma ferramenta chave para o diagnóstico, seu uso restrito a pacientes graves e os elevados custos de realização desse exame tornam essa ferramenta uma alternativa dispendiosa, devido também ao tempo de análise realizada em cada paciente (ALBAHRI *et al.*, 2020; APOSTOPOULOS; MPESIANA, 2020; GOMES *et al.*, 2020).

Dessa maneira, uma alternativa cada vez mais promissora é o uso de biomarcadores específicos para a COVID-19, que possam ser futuramente incorporados em exames laboratoriais de rotina. Além disso, a cada dia novos relatos sobre características fisiopatológicas evidenciam a busca por biomarcadores que melhor se correlacionem com todos os dados encontrados (NUÑO *et al.*, 2020; PONTI *et al.*, 2020; DEVAUX; LAGIER *et al.*, 2021; PIOTROWICZ *et al.*, 2021).

### **3.5 Biomarcadores: conceitos e aplicações**

Um biomarcador, também chamado de marcador biológico, trata-se de uma ampla classe de sinais apresentados pelo paciente durante um percurso de uma doença, no qual esses sinais devem ter uma relação direta com o processo patológico, fisiológico e até mesmo com uma resposta farmacológica, sendo passível de medição e que apresente reprodutibilidade. Resumidamente, um biomarcador é então, qualquer substância produzida pelo corpo ou um parâmetro físico mensurável, desde que a mesma tenha uma relação direta com a predição de um dado clínico de um indivíduo. A partir desta definição, pode-se considerar diversos de parâmetros clínicos como exemplos de biomarcadores, sejam eles agentes físicos, como a pressão dos vasos sanguíneos ocasionada pelo bombeamento de sangue através do coração ou agentes químicos sejam eles substâncias inorgânicas, como a determinação de eletrólitos ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ), ou orgânicos (proteínas plasmáticas) (STRIMBU; TAVEL, 2010).

Ainda assim, o termo biomarcadores é geralmente atrelado a compostos em sua maioria orgânicos, que de preferência estejam relacionados com vias bioquímicas e transcricionais relacionadas com o a doença de interesse. Dessa forma, grande parte dos estudos que vêm sendo feitos atualmente para descoberta e desenvolvimento de biomarcadores tem como foco a análise proteômica e expressão gênica, de forma a descrever marcadores biológicos estritamente relacionados com uma ou várias doenças, aumentando a eficácia não só no diagnóstico, mas também a predição de possíveis doenças que um indivíduo possa ter. Entretanto, o número de biomarcadores aprovados para uso clínico, se comparado com a quantidade de pesquisas, ainda é bem baixo, no qual em 2011 apenas 100 dos 150 mil biomarcadores estudados foram validados clinicamente (POSTE, 2011).

Ainda assim, não se pode negar que o uso de biomarcadores é uma das estratégias mais promissoras para propostas de tratamento baseada neste parâmetro bem como no monitoramento de pacientes, no qual seu uso permite uma significativa redução de custos associados ao manejo clínico dos pacientes (POSTE, 2011; SELLECK; SENTHIL; WALL, 2017).

## **4. METODOLOGIA**

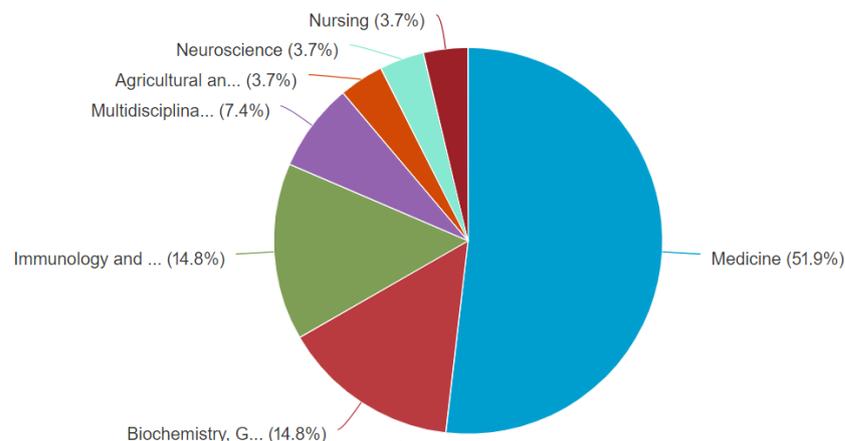
A pesquisa foi realizada utilizando artigos científicos publicados nas principais revistas de divulgação científica de âmbito internacional, sendo utilizada a base de

dados Scopus para a construção dos resultados. Foram selecionados os artigos de maior relevância publicados no ano de 2020 até 2021, utilizando as palavras “laboratory biomarkers” e “COVID-19” como descritores para busca. Para critérios de seleção, foram selecionados apenas os artigos que tiveram uma relação direta com os descritores utilizados contendo resultados experimentais. Já artigos publicados em períodos anteriores ao intervalo mencionado ou publicados em português foram desconsiderados para descrição dos resultados.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o levantamento feito através da base de dados Scopus (Elsevier), foram encontradas 20 publicações relacionadas com o uso de biomarcadores para COVID-19. A figura 6 mostra de forma mais detalhada, os artigos publicados de acordo com a principal área de estudo relacionada.

**Figura 6** – gráfico sobre biomarcadores classificados por área.



**Fonte:** Scopus (Elsevier).

A partir da avaliação dos 20 artigos selecionados, foi realizada uma nova inspeção dos conteúdos abordados, sendo construído um quadro contendo apenas os trabalhos que tratassem especificamente do uso de biomarcadores para a COVID-19 (13 artigos).

**Quadro 1.** Avaliação de biomarcadores para a COVID19

<b>Tipos de biomarcadores</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>Nº de amostras</b>	<b>Referências</b>
Proteômica	Clínico	59	PATEL <i>et al.</i> , 2021
Metabólitos da vitamina D	Clínico	148	ZELZER <i>et al.</i> , 2021
Transcriptoma	Clínico	NE	HAMMOUDEH <i>et al.</i> , 2021
Índice de estresse e ativação endotelial	Clínico	100	LUFT <i>et al.</i> , 2021
Dosagens bioquímicas	Clínico	1	LOPES <i>et al.</i> , 2021
Status de soroconversão	Clínico	105	GALBRAITH <i>et al.</i> , 2021
Proteômica	Clínico	1980	RICHARDSON <i>et al.</i> , 2021
Calprotectina	Clínico	NE	MAHLER <i>et al.</i> , 2021
Contagem completa de células	Clínico	379	LANINI <i>et al.</i> , 2020
D-dímero	Clínico	324	PIZZI <i>et al.</i> , 2020
Dosagem de potássio	Clínico	306	MORENO-P <i>et al.</i> , 2020
Dosagens bioquímicas	Clínico	102	ZHU <i>et al.</i> , 2020

Dosagens hematológicas	Clínico	225	MOUSAVI <i>et al.</i> , 2020
------------------------	---------	-----	------------------------------

Legendas: NE (Não especificado).

### 5.1 Finalidade dos biomarcadores

Como visto na figura 6, mais da metade dos artigos estão relacionados aos estudos com a área de tratamentos para COVID-19, seguido por estudos bioquímicos e imunológicos, havendo também outras áreas relacionadas ao estudo de biomarcadores em menor proporção. Este resultado demonstra que o uso de biomarcadores para a COVID-19, está muito além do diagnóstico da doença, que já vem sendo feito, e muito eficazmente, pelas técnicas de biologia molecular (VANDENBERG *et al.*, 2021).

Os resultados encontrados aqui mostram que o objetivo do uso de biomarcadores para esta doença tem na verdade uma finalidade de compreender os efeitos causados pelo SARS-CoV-2 sobre o organismo de indivíduos infectados, de forma a compreender os efeitos deletérios causados pelo patógeno. Dessa forma, o uso destes biomarcadores pode ser considerado como importantes ferramentas de avaliação do quadro dos pacientes e monitoramento dos efeitos causados pelo uso de substâncias dotadas de atividade farmacológica (BAIRI *et al.*, 2019).

Não é de hoje que o uso de biomarcadores deixou de ser algo voltado apenas para o diagnóstico de doenças, sendo uma grande ferramenta aplicada tanto a avaliação clínica quanto a terapia individualizada. O uso dessa estratégia é bastante comum na avaliação de fármacos antitumorais, especialmente para o tratamento de câncer com elevada expressão de genes de receptores associados ao fator de crescimento epidérmico (EGFR) e vascular (VEGFR). Outros exemplos de alvos considerados como marcadores para o monitoramento são a calprotectina, interleucina-2, fator ativador de células T (NFAT), mTOR, número de células linfoides ou mieloides, RAS, KIT, PDL-1, 2-hidroxi-glutarato (2-HG), P53, BRACA1, BRACA2, FLT3, ALK (SELLEK; SENTHIL; WALL, 2017; BAIRI *et al.*, 2019; THEILE; CHO, 2019).

Ainda que grande parte do uso de biomarcadores esteja voltado para a avaliação da terapia antitumoral, esta abordagem não se limita apenas a investigação de fármacos para esse tipo de doença. O uso de biomarcadores também vem sendo empregado para avaliação das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas de fármacos antivirais utilizados no tratamento da síndrome da imunodeficiência

adquirida (AIDS) através da determinação dos níveis de RNA e células CD4+ bem como para hepatites virais (B e C), determinando os níveis de antígenos, anticorpos e RNA virais circulantes (ALLAN *et al.*, 2020; NG *et al.*, 2021).

## **5.2 Tipos de biomarcadores encontrados**

De acordo com os dados descritos no quadro 1, é possível perceber uma variedade de tipos de biomarcadores, sejam eles achados laboratoriais clássicos presente em fluidos biológicos (dosagens bioquímicas, hematológicas, eletrólitos, proteínas plasmáticas, metabólitos séricos) bem como análises moleculares (proteômica e transcriptoma) que são abordagens não-clássicas que estão sendo cada vez mais avaliadas.

### *5.2.1 Biomarcadores clássicos*

Grande maioria dos trabalhos descritos no quadro 1 (8 dos 13 descritos) descrevem o uso de biomarcadores clássicos que podem ser utilizados para a COVID-19. Fazendo uma análise ainda mais minuciosa, estes biomarcadores podem ser subdivididos em: metabólitos (2 trabalhos) eletrólitos (1 trabalho), proteínas (2 trabalhos) e células (2 trabalhos).

#### *5.2.1.1 Metabólitos e eletrólitos*

Os metabólitos são um dos parâmetros mais utilizados como biomarcadores devido as suas vantagens em relação a outros componentes como facilidade de serem dosados, custos associados com sua prospecção, boa correlação com uma variedade de doenças, além de serem uma das melhores formas de analisar as expressões a jusante (i.e., periféricas) do fenótipo humano para um dado fenômeno observável, seja ele fisiológico ou patológico. Não é à toa que a metabolômica (área que tem por finalidade determinar o perfil metabólico de um organismo) é uma das linhas de pesquisa que mais cresce com o passar dos anos, sendo utilizada para fazer diversas correlações com uma variedade de doenças a partir dos diferentes metabólitos produzidos (ZHANG *et al.*, 2015).

Neste sentido, o uso de metabólitos como biomarcadores para COVID-19 vem demonstrando resultados positivos de correlação com a doença, no qual os trabalhos encontrados aqui analisam a real contribuição desses tipos de biomarcadores. O uso de metabólitos da vitamina D, têm-se mostrado como um parâmetro confiável de determinação da resposta imune de indivíduos com doenças infecciosas, devido às

propriedades imunomoduladoras que os metabólitos hidroxilados ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ,  $25(\text{OH})\text{D}_2$ ,  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e  $25,26(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) podem apresentar durante o processo inflamatório (TROJA *et al.*, 2021).

Como um dos fenômenos resultantes da infecção pelo SARS-CoV-2 é uma alta resposta pró-inflamatória, caracterizada por picos de liberação de citocinas (tempestades de citocinas), pesquisas foram realizadas para determinar se haveria uma correlação dos níveis séricos desses metabólitos da vitamina D com o aumento na gravidade do quadro dos pacientes infectados pelo novo coronavírus. Entretanto, o estudo coorte realizado com amostras sanguíneas de 148 pacientes demonstrou que não existe uma boa correlação entre os produtos resultantes do metabolismo da vitamina D com o quadro clínico dos pacientes, descartando então o uso de um regulador já conhecido como um possível biomarcador para a COVID-19 (ZELZER *et al.*, 2020).

Já para determinação sérica dos subprodutos resultantes da degradação de fibrina (D-dímero) houve uma correlação bastante significativa entre os valores desse metabólito na corrente sanguínea com o número de pacientes infectados por SARS-CoV-2. O estudo realizado por Pizzi e colaboradores (2020) avaliou os parâmetros de coagulação e tromboembolismo venoso de 324 pacientes com síndromes respiratória com e sem a COVID-19. Como já era sabido que o D-dímero é um biomarcador padrão para avaliação de distúrbios trombóticos, especulou-se que a síndrome respiratória ocasionada pelo novo coronavírus poderia ser avaliada mediante a determinação dos níveis séricos desse metabólito. Embora os achados tenham sido positivos, o uso de desse biomarcador não garante especificidade para os pacientes infectados, visto que a análise das amostras dos indivíduos não infectados que apresentavam problemas trombóticos foi próxima dos níveis de D-dímero presentes nas amostras dos indivíduos infectados. Sendo assim, o uso desses metabólitos para a COVID-19 não permite uma avaliação específica para essa doença (PIZZI *et al.*, 2020). Ainda assim esses dados são relevantes, uma vez que estimulam a busca por novos biomarcadores que sejam mais correlacionados com essa infecção viral (JOHNSON *et al.*, 2019 PIZZI *et al.*, 2020).

Assim como os metabólitos, o uso de eletrólitos como biomarcadores embora seja comum, não vem sendo tão empregado devido sua baixa especificidade, podendo este ser correlacionado com uma grande variedade de enfermidades. Ainda assim, o estudo realizado por Moreno e colaboradores (2020) teve como objetivo

determinar a correlação existente entre os baixos de níveis de potássio sérico com os casos mais graves de SARS provocados pelo coronavírus tipo 2. O estudo realizado com 306 pacientes verificou que a hipocalcemia era um achado clínico relevante em pacientes infectados em estado grave, no qual os autores concluem que a determinação dos níveis de potássio como um biomarcador para casos graves da doença se apresenta como um bom candidato preditivo.

#### 5.2.1.2 *Proteínas e células como biomarcadores*

O uso de proteínas como biomarcadores em relação aos metabólitos pode ser uma estratégia mais promissora no que diz respeito a busca por marcadores específicos para a COVID-19. Existem uma variedade de estruturas proteicas que podem ser utilizadas como biomarcadores, sendo sua seleção feita de acordo com sua distribuição tecidual, facilidade de ser medida na amostra de interesse bem como os custos associados a essa análise (RUCEVIC; JOSIC, 2011; WANG *et al.*, 2018).

Além disso, diversos tipos de proteínas com funções catalisadoras, estruturais, carreadoras ou até mesmo imunes, podem ser utilizadas como biomarcadores, no qual essas estruturas apresentam uma relação mais intrínseca com os processos fisiopatológicos (ZARAGOULIDIS *et al.*, 2015; SANDERS, 2018; GURURAJA RAO, 2020). O uso de células também é um parâmetro previamente validado, sendo utilizado em exames de rotina laboratoriais para o diagnóstico, prognóstico e tratamento de várias doenças (ZHANG; PARIKH, 2019; PONTI *et al.*, 2020).

Portanto, como já era de se esperar, os trabalhos que descreveram o uso de proteínas bem como contagem de células determinadas através de dosagens bioquímicas (ZHU *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2021; MAHLER *et al.*, 2021) e hematológicas (MOUSAVI *et al.*, 2020 e LANINI *et al.*, 2021), apresentaram resultados com uma alta correlação com o desenvolvimento da doença. Ainda assim, vale mencionar que estes trabalhos fizeram o uso de biomarcadores padrões há bastante tempo já utilizados como a proteína C reativa, D-dímero, calprotectina, tempo de protombina (TP) e tromboplastina parcial ativada (TTPA), transaminases (ALT e AST), albumina, creatina quinase, lactato desidrogenase (LDH) e séries de células vermelhas, brancas e seus componentes (plaquetas e anticorpos), sendo todos estes parâmetros de processos inflamatórios presentes em várias doenças (SUKLAN *et al.*, 2021). Esse fator justifica o baixo número de trabalhos encontrados nesta área (4 dos

13 trabalhos), visto que o objetivo dessa revisão é descrever o uso de biomarcadores específicos para essa doença ou até mesmo novos tipos de biomarcadores.

### 5.2.2 Biomarcadores não-clássicos

Como visto no quadro 1, foram encontrados 5 trabalhos descrevendo sobre análises da COVID-19 por meio de estratégias de investigação emergentes como análise de uma grande variedade de proteínas (proteômica) e dos principais genes transcritos (transcriptoma) sendo, portanto, estes estudos descritos aqui como biomarcadores não clássicos e relatados individualmente nos tópicos a seguir.

#### 5.2.2.1 Análise por proteômica e transcriptoma

Os diversos processos deletérios resultantes da infecção pelo SARS-CoV-2 ainda estão sendo avaliados, pois até o momento muitos tipos de manifestações clínicas vêm sendo detectadas devido às características fisiopatológicas dessa nova cepa ainda estarem sendo investigadas (ISRAFIL *et al.*, 2021). Dito isso, uma análise conjunta de uma grande variedade de proteínas presentes nos mais diversos tecidos pode fornecer informações preciosas sobre quais vias do organismo hospedeiro são afetadas durante o percurso da doença.

Com o intuito de compreender a razão pela qual indivíduos podem apresentar diversos graus de severidade respiratória causada pela infecção por SARS-CoV-2, o trabalho feito por Patel e colaboradores (2021) analisou o perfil de proteína expressas no sangue que poderiam estar correlacionadas com os graus leves, graves e críticos da doença. Para isso, foram analisados cerca de 368 proteínas em cada indivíduo através de um imunoenensaio de alto rendimento utilizando a técnica de ensaio por extensão e proximidade, que utiliza anticorpos marcados com oligonucleotídeos que apresentam uma complementariedade específica para cada proteína de interesse presente no fluido biológico, no qual essa ligação flanqueia reações em cadeia da polimerase (PCR) que é então quantificada em tempo real para gerar os resultados que estão expressos em termos da concentração das proteínas. O estudo demonstrou que a extensa análise proteômica foi capaz de identificar cinco novas proteínas (CKAP4, Gal-9, IL-1ra, LILRB4 e PD-L1) associadas diretamente com a gravidade da doença, sendo a concentração dessas proteínas proporcional ao aumento do grau de severidade dos pacientes. De acordo com as conclusões desse estudo, os autores propõem uma plena investigação dessas proteínas que podem futuramente serem

utilizadas como biomarcadores para a doença ou até mesmo como potenciais alvos terapêuticos auxiliando na busca por antivirais.

Outro estudo semelhante realizado por Galbraith e colaboradores (2021) dessa vez tendo como foco o status de soro-conversão (i.e., produção de anticorpos) fora realizado a partir de uma análise transversal multiômica, que permitisse correlacionar a produção dessas imunoglobulinas com as variações no estado fisiopatológico da doença de cada paciente. As amostras de sangue de 105 pacientes divididos em infectados (73) e não infectados (32) foram avaliadas através de ensaios de soro-conversão combinadas com ferramentas de análise proteômica (espectrometria de massas, citometria, imunoensaio entre outras...). Os autores afirmam que há uma correlação proporcional entre o aumento da produção de anticorpos com a melhora do estado clínico do paciente.

Outro estudo avaliou sistematicamente o desenvolvimento da patogênese do SARS-CoV-2 com 10 fatores de risco cardiometabólicos e expressões genéticas em indivíduos fumantes diagnosticados com a fase grave da SARS provocada pelo novo coronavírus. Mais uma vez, assim como nos estudos anteriores descritos, foram descobertas correlações significativas entre o estágio da doença pacientes com as análises dos níveis de 97 proteínas circulantes. Foram encontrados cerca de 105 efeitos de correlação entre os fatores de risco com os níveis de proteínas circulantes, como por exemplo uma correlação entre o índice de massa corporal (IMC) com a presença de 23 proteínas na corrente sanguínea, sendo algumas delas já conhecidas por participarem de processos inflamatórios como a PCR e imunoglobulinas, que estiveram desreguladas conforme valores ruins de IMC. Além disso, o estudo também conseguiu detectar uma elevada presença de glicoproteína 130, uma proteína solúvel responsável por estimular a produção de citocinas pro-inflamatórias como a IL-6 (VILLAR-FINCHEIRA *et al.*, 2021).

Assim como um conjunto de proteínas é capaz de fornecer características fisiopatológicas da doença, a investigação dos transcritos do DNA (transcriptoma) também permite compreender o fenótipo de doenças, pois a partir da análise do RNA é possível determinar as proteínas expressas a partir da fase de tradução (WANG *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2021). Dessa forma, um estudo realizado com amostras de autópsia de tecidos pulmonares, renais, hepáticos de paciente com COVID-19 nos mais diversos estágios foi capaz de detectar a expressão de diferentes transcritos para cada grau da doença. Através de ferramentas de bioinformática e biologia

molecular, os pesquisadores foram capazes de realizar uma correlação dos efeitos gerais da infecção por SARS-CoV-2 com o perfil transcriptômico dos tecidos mencionados anteriormente. Uma análise de agrupamento permitiu visualizar a presença de transcritos diretamente associados com a replicação viral, como RNAs associados com a expressão de receptores metabotrópicos (GPCR), fatores de crescimento (WNT, TGF- $\beta$ ) e sinalização intracelular (mTOR) e uma regulação para baixo de diversas proteínas relacionadas com atividades metabólicas e tradução de novas proteínas, sendo esses efeitos mais pronunciados no fígado e rim quando comparados com o coração e pulmão.

A pesquisa também avaliou a presença de genes relacionados com a tempestade de citocinas nos tecidos pulmonar e extrapulmonar com o objetivo de avaliar os resultados encontrados anteriormente em outros trabalhos, que descrevem esse mecanismo como fundamentalmente importante para promoção dos efeitos severos no trato respiratório e outros órgãos. Foi perceptível que o tecido pulmonar apresentou tanto uma diferença no número quanto no tipo de citocinas em relação aos outros tecidos avaliados (coração, fígado e rins), como por exemplo baixa regulação de IL-6, CSF3, IFNG e CSF1.

Esses achados confirmam a produção descontrolada de citocinas que são induzidas pelo SARS-CoV-2, justificando o uso dessa estratégia de análise como potencial meio para utilização de diversos transcritos como biomarcadores como por exemplo a expressão diferencial de uma variedade de membros da família do fator de necrose tumoral (TNF), que foram encontrados supregulados nas amostras dos pacientes infectados nos maiores graus de severidade exclusivamente no fígado, evidenciando a contribuição do sistema hepático na exacerbação da inflamação.

Com o intuito de também avaliar a expressão de proteínas associadas com a ocorrência de casos graves da doença, Luft e colaboradores (2021) realizaram um estudo de índice de estresse e ativação endotelial (EASIX) como uma ferramenta preditiva de disfunções endoteliais associadas com os mecanismos fisiopatológicos do SARS-CoV-2. Através dessa ferramenta os autores foram capazes de descrever uma correlação entre a idade, sexo, e comorbidades com a presença de proteínas relacionadas com danos endoteliais (angiopoietina-2, CXCL8, CXL9 e IL-18), que foram ainda mais pronunciados nos pacientes em estágio mais grave da doença.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com questão abordadas nessa revisão, foi possível compreender que o SARS-CoV-2 apresenta características peculiares que o diferem de outras cepas já conhecidas que pertencem a mesma família, o que justificando a descrição de uma nova doença relatada no final de 2019. As características obtidas através de mutações do SARS-CoV-1, fizeram com que esse novo coronavírus fosse capaz de se espalhar rapidamente ocasionando mortes em massa em todo o mundo.

Dessa forma a busca de estratégias de prevenção, controle das infecções bem como manutenção do quadro clínico dos pacientes ainda é um dos principais desafios no presente cenário, visto que a pandemia ainda não foi completamente controlada. Ainda assim os resultados obtidos nessa revisão mostram o cenário promissor no que diz respeito a desenvolvimento de biomarcadores, visto que os trabalhos aqui encontrados mostram que é possível o uso de parâmetros biológicos que se correlacionam bem com a doença. Sendo assim é possível vislumbrar que em breve tipos de biomarcadores poderão ser empregados para o monitoramento da terapia, que também vem sendo desenvolvida pela indústria bem como por centros de pesquisa. Ainda assim mais estudos precisam ser realizados para avaliar a especificidade dos biomarcadores descritos nessa revisão.

## REFERÊNCIAS

- ALBAHRI, O. S. et al. Systematic review of artificial intelligence techniques in the detection and classification of COVID-19 medical images in terms of evaluation and benchmarking: Taxonomy analysis, challenges, future solutions and methodological aspects. **Journal of infection and public health**, 2020.
- ALAM, Muhammed Ashraful. (2020). **COVID-19 Management: Success VS Failure. Global cases top 12 million and died more than half a million people worldwide.** WHO, 2020.
- ALLAM, Mayar et al. COVID-19 diagnostics, tools, and prevention. **Diagnostics**, v. 10, n. 6, p. 409, 2020.
- AMANKWAH-AMOA, Joseph; KHAN, Zaheer; WOOD, Geoffrey. COVID-19 and business failures: The paradoxes of experience, scale, and scope for theory and practice. **European Management Journal**, v. 39, n. 2, p. 179-184, 2021.
- APOSTOLOPOULOS, Ioannis D.; MPESIANA, Tzani A. Covid-19: automatic detection from x-ray images utilizing transfer learning with convolutional neural networks. **Physical and Engineering Sciences in Medicine**, v. 43, n. 2, p. 635-640, 2020.
- ARAÚJO, Danielle Bastos et al. SARS-CoV-2 isolation from the first reported patients in Brazil and establishment of a coordinated task network. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, 2020.
- BLOOM, David E.; CADARETTE, Daniel. Infectious disease threats in the twenty-first century: strengthening the global response. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 549, 2019.
- BONNY, V. et al. COVID-19: Pathogenesis of a multi-faceted disease. **La Revue de Medecine Interne**, 2020.
- BOSSO, Mira et al. The two faces of ACE2: the role of ACE2 receptor and its polymorphisms in hypertension and COVID-19. **Molecular Therapy-Methods & Clinical Development**, v. 18, p. 321-327, 2020.
- CARCATERRA, Maurizio; CARUSO, Cristina. Alveolar epithelial cell type II as main target of SARS-CoV-2 virus and COVID-19 development via NF-Kb pathway deregulation: A physio-pathological theory. **Medical Hypotheses**, v. 146, p. 110412, 2021.
- CASCELLA, Marco et al. Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19). **StatPearls**, 2021.
- CIOTTI, Marco et al. COVID-19 outbreak: an overview. **Chemotherapy**, v. 64, n. 5-6, p. 215-223, 2019.
- COSTELA-RUIZ, Víctor J. et al. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 54, p. 62-75, 2020.

DEVAUX, Christian Albert; LAGIER, Jean-Christophe; RAOULT, Didier. New insights into the physiopathology of COVID-19: SARS-CoV-2-associated gastrointestinal illness. **Frontiers in medicine**, v. 8, p. 99, 2021.

EL BAIRI, Khalid et al. The arrival of predictive biomarkers for monitoring therapy response to natural compounds in cancer drug discovery. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 2492-2498, 2019.

GALBRAITH, Matthew D. et al. Seroconversion stages COVID19 into distinct pathophysiological states. **Elife**, v. 10, p. e65508, 2021.

GOMES, Juliana C. et al. IKONOS: An intelligent tool to support diagnosis of Covid-19 by texture analysis of x-ray images. **Research on Biomedical Engineering**, p. 1-14, 2020.

GOUDOURIS, Ekaterini S. Laboratory diagnosis of COVID-19☆. **Jornal de pediatria**, v. 97, p. 7-12, 2021.

GURURAJA RAO, Shubha; PATEL, Neel J.; SINGH, Harpreet. Intracellular chloride channels: novel biomarkers in diseases. **Frontiers in physiology**, v. 11, p. 96, 2020.

HAMMOUDEH, Sarah Musa et al. Systems Immunology Analysis Reveals the contribution of pulmonary and extrapulmonary tissues to the immunopathogenesis of severe COVID-19 patients. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021.

HAY, James A. et al. Estimating epidemiologic dynamics from cross-sectional viral load distributions. **Science**, 2021.

HOLMES, King K. et al. Major infectious diseases: key messages from disease control priorities. **Major infectious diseases**, 2017.

HOUGHTON, Catherine et al. Barriers and facilitators to healthcare workers' adherence with infection prevention and control (IPC) guidelines for respiratory infectious diseases: a rapid qualitative evidence synthesis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, 2020.

HU, Ben et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 141-154, 2021.

HWANG, Hyundoo; HWANG, Boo-Young; BUENO, Juan. Biomarkers in infectious diseases. 2018.

ISRAFIL, S. M. et al. Clinical characteristics and diagnostic challenges of COVID-19: an update from the global perspective. **Frontiers in public health**, v. 8, p. 955, 2021.

JEFFERSON, T. et al. Viral cultures for COVID-19 infectious potential assessment-a systematic review. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, 2020.

JOHNSON, Eric D.; SCHELL, John C.; RODGERS, George M. The D-dimer assay. **American journal of hematology**, v. 94, n. 7, p. 833-839, 2019.

KANNE, Jeffrey P. et al. COVID-19 imaging: What we know now and what remains unknown. **Radiology**, v. 299, n. 3, p. E262-E279, 2021.

KHUZANI, Abolfazl Zargari; HEIDARI, Morteza; SHARIATI, S. Ali. COVID-Classifer: An automated machine learning model to assist in the diagnosis of COVID-19 infection in chest x-ray images. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2021.

KOZLOVSKAYA, Liubov et al. Isolation and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 variants collected in Russia during the COVID-19 outbreak. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 99, p. 40-46, 2020.

LANINI, Simone et al. COVID-19 disease—temporal analyses of complete blood count parameters over course of illness, and relationship to patient demographics and management outcomes in survivors and non-survivors: a longitudinal descriptive cohort study. **PloS one**, v. 15, n. 12, p. e0244129, 2020.

LOPES, Alessandra GD et al. Case Report: A Severe SARS-CoV-2 Infection in a Teenager With Angelman Syndrome. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 108, 2021.

LÓPEZ-DOLADO, Elisa; GIL-AGUDO, Angel. Lessons learned from the coronavirus disease 2019 (Covid-19) outbreak in a monographic center for spinal cord injury. **Nature**, 2020.

LOU, Bin et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection after exposure and post-symptom onset. **European Respiratory Journal**, v. 56, n. 2, 2020.

LUFT, Thomas et al. EASIX for prediction of outcome in hospitalized SARS-CoV-2 infected patients. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 2425, 2021.

MACKENZIE, John S.; SMITH, David W. COVID-19: a novel zoonotic disease caused by a coronavirus from China: what we know and what we don't. **Microbiology Australia**, v. 41, n. 1, p. 45-50, 2020.

MAHLER, Michael et al. Circulating Calprotectin as a Biomarker of COVID-19 Severity. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 17, n. 5, p. 431-443, 2021.

MEDEIROS, Eduardo Alexandrino Servolo. Challenges in the fight against the covid-19 pandemic in university hospitals, **Rev. Paul. Pediatr**, v. 8. 2020.

MISRA, Durga; AGARWAL, Vikas. To Act..... or to wait for the evidence: Ethics in the time of covid-19!. **Indian Journal of Rheumatology**, v. 15, n. 1, p. 3-3, 2020.

MORENO-P, Oscar et al. Hypokalemia as a sensitive biomarker of disease severity and the requirement for invasive mechanical ventilation requirement in COVID-19 pneumonia: a case series of 306 Mediterranean patients. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 100, p. 449-454, 2020.

MORENS, David M. et al. A origem do COVID-19 e por que é importante. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 3, pág. 955, 2020.

MOUSAVI, Seied Asadollah et al. Hematologic predictors of mortality in hospitalized patients with COVID-19: a comparative study. **Hematology**, v. 25, n. 1, p. 383-388, 2020.

- MUSAVI, Hadis et al. Mechanisms of COVID-19 Entry into the Cell: Potential Therapeutic Approaches Based on Virus Entry Inhibition in COVID-19 Patients with Underlying Diseases. **Iranian journal of allergy, asthma, and immunology**, v. 20, n. 1, p. 11-23, 2021.
- NG, Teresa I. et al. Biomarkers for the clinical development of antiviral therapies. **Cytometry Part B: Clinical Cytometry**, v. 100, n. 1, p. 19-32, 2021.
- NUÑO, Laura et al. Clinical course, severity and mortality in a cohort of patients with COVID-19 with rheumatic diseases. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 79, n. 12, p. 1659-1661, 2020.
- ONG, Catherine Wei Min et al. Epidemic and pandemic viral infections: impact on tuberculosis and the lung: A consensus by the World Association for Infectious Diseases and Immunological Disorders (WAidid), Global Tuberculosis Network (GTN), and members of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Study Group for Mycobacterial Infections (ESGMYC). **European Respiratory Journal**, v. 56, n. 4, 2020.
- PATEL, Hamel et al. Proteomic blood profiling in mild, severe and critical COVID-19 patients. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2021.
- PIOTROWICZ, Karolina et al. post-COVID-19 acute sarcopenia: physiopathology and management. **Aging Clinical and Experimental Research**, p. 1-12, 2021.
- PIZZI, Roberto et al. Coagulation parameters and venous thromboembolism in patients with and without COVID-19 admitted to the Emergency Department for acute respiratory insufficiency. **Thrombosis research**, v. 196, p. 209-212, 2020.
- PIZZOL, Juliana Lemos Dal et al. Laboratory diagnosis for Covid-19: A mini-review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, 2020.
- PONTI, Giovanni et al. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 57, n. 6, p. 389-399, 2020.
- POSTE, George. Bring on the biomarkers. **Nature**, v. 469, n. 7329, p. 156-157, 2011.
- RICHARDSON, Tom G. et al. Evaluating the effects of cardiometabolic exposures on circulating proteins which may contribute to severe SARS-CoV-2. **EBioMedicine**, v. 64, p. 103228, 2021.
- RUCEVIC, Marijana; HIXSON, Douglas; JOSIC, Djuro. Mammalian plasma membrane proteins as potential biomarkers and drug targets. **Electrophoresis**, v. 32, n. 13, p. 1549-1564, 2011.
- SANDERS, Brenda. Stress proteins: potential as multitiered biomarkers. In: **Biomarkers of environmental contamination**. CRC Press, 2018. p. 165-191.
- SELLECK, Matthew J.; SENTHIL, Maheswari; WALL, Nathan R. Making meaningful clinical use of biomarkers. **Biomarker insights**, v. 12, p. 1177271917715236, 2017.
- SHAH, Vruddhi et al. Diagnosis of COVID-19 using CT scan images and deep learning techniques. **Emergency radiology**, v. 28, n. 3, p. 497-505, 2021.

- SUKLAN, Jana et al. Utility of Routine Laboratory Biomarkers to Detect COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Viruses**, v. 13, n. 5, p. 803, 2021.
- STALLARD, Nigel et al. Efficient adaptive designs for clinical trials of interventions for COVID-19. **Statistics in Biopharmaceutical Research**, v. 12, n. 4, p. 483-497, 2020.
- STOPSACK, Konrad H. et al. TMPRSS2 and COVID-19: serendipity or opportunity for intervention?. **Cancer discovery**, v. 10, n. 6, p. 779-782, 2020.
- STRIMBU, Kyle; TAVEL, Jorge A. What are biomarkers?. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463, 2010.
- STROPE, Jonathan D.; CHAU, Cindy H. TMPRSS2: Potential biomarker for COVID-19 outcomes. **Journal of clinical pharmacology**, 2020.
- TANG, Yi-Wei et al. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. **Journal of clinical microbiology**, v. 58, n. 6, p. e00512-20, 2020.
- THEILE, Dirk; CHO, William C. Pharmacodynamic monitoring using biomarkers to individualize pharmacotherapy. **Biomarkers in medicine**, v. 13, n. 05, p. 393-408, 2019.
- TRIBOLET, Leon et al. MicroRNA biomarkers for infectious diseases: From basic research to biosensing. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1197, 2020.
- TROJA, Catherine et al. Understanding the Role of Emerging Vitamin D Biomarkers on Short-term Persistence of High-Risk Human Papillomavirus Infection Among Mid-Adult Women. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 224, n. 1, p. 123-132, 2021.
- TRIPODI, Armando. D-dimer testing in laboratory practice. **Clinical chemistry**, v. 57, n. 9, p. 1256-1262, 2011.
- TSOUNGUI OBAMA, Henri Christian Junior et al. Preventing COVID-19 spread in closed facilities by regular testing of employees—An efficient intervention in long-term care facilities and prisons?. **PloS one**, v. 16, n. 4, p. e0249588, 2021.
- VANDENBERG, Olivier et al. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 171-183, 2021.
- VILLAR-FINCHEIRA, Paulina et al. Role of Interleukin-6 in vascular health and disease. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 79, 2021.
- WANG, Jieru et al. Identification of potential urine proteins and microRNA biomarkers for the diagnosis of pulmonary tuberculosis patients. **Emerging microbes & infections**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2018.
- WANG, Jann-Tay et al. The role of phylogenetic analysis in clarifying the infection source of a COVID-19 patient. **The Journal of infection**, v. 81, n. 1, p. 147, 2020.
- WANG, Hao et al. Blood transcriptome profiling as potential biomarkers of suboptimal health status: potential utility of novel biomarkers for predictive, preventive, and personalized medicine strategy. **EPMA Journal**, v. 12, n. 2, p. 103-115, 2021.

WHO COVID-19 Explorer. Geneva: World Health Organization, 2020. Available online: <https://worldhealthorg.shinyapps.io/covid/> (last cited: [14/08/21]).

XAVIER, Analucia R. et al. COVID-19: clinical and laboratory manifestations in novel coronavirus infection. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, 2020.

YANG, Jinsung et al. Molecular interaction and inhibition of SARS-CoV-2 binding to the ACE2 receptor. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2020.

ZAROGOULIDIS, Paul et al. Use of proteins as biomarkers and their role in carcinogenesis. **Journal of Cancer**, v. 6, n. 1, p. 9, 2015.

ZELZER, Sieglinde et al. Vitamin D Metabolites and Clinical Outcome in Hospitalized COVID-19 Patients. **Nutrients**, v. 13, n. 7, p. 2129, 2021.

ZHANG, Aihua et al. Metabolomics for biomarker discovery: moving to the clinic. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

ZHANG, William R.; PARIKH, Chirag R. Biomarkers of acute and chronic kidney disease. **Annual review of physiology**, v. 81, p. 309-333, 2019.

ZHANG, Yun-yu; LI, Bi-ru; NING, Bo-tao. The comparative immunological characteristics of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 coronavirus infections. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 2033, 2020.

ZHANG, Zhifa et al. Cancer stem cell transcriptome landscape reveals biomarkers driving breast carcinoma heterogeneity. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 186, n. 1, p. 89-98, 2021.

ZHU, Yingjie et al. Evaluation of organ function in patients with severe COVID-19 infections. **Medicina Clinica**, v. 155, n. 5, p. 191-196, 2020.

ZIEHR, David R. et al. Respiratory pathophysiology of mechanically ventilated patients with COVID-19: a cohort study. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 201, n. 12, p. 1560-1564, 2020.

ZINI, Gina et al. Morphological anomalies of circulating blood cells in COVID-19. **American journal of hematology**, 2020.