

# UFBA

Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Ciências da Saúde

**IAM DE CERQUEIRA OLIVEIRA**

**PROCESSOS INTERATIVOS  
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



**ESTUDO DE CNVs EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME INFLAMATÓRIA  
MULTISSISTÊMICA PEDIÁTRICA ASSOCIADA À COVID-19 (SIM-P)**

**Salvador  
2022**

**IAM DE CERQUEIRA OLIVEIRA**

**ESTUDO DE CNVs EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME  
INFLAMATÓRIAMULTISSISTÊMICA PEDIÁTRICA  
ASSOCIADA À COVID-19 (SIM-P)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Pablo Rafael Silveira Oliveira

Salvador  
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Oliveira, Iam de Cerqueira.

Estudo de CNVs em indivíduos com síndrome inflamatória multissistêmica pediátrica associada à COVID-19 (SIM-P) [recurso eletrônico] / Iam de Cerqueira Oliveira. - Dados eletrônicos. - 2022

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho.

Coorientador: Prof. Dr. Pablo Rafael Silveira Oliveira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2022.

Disponível em formato digital.

Modo de acesso: <https://repositorio.ufba.br/>

1. COVID-19. 2. Variações do número de cópias de DNA. 3. Síndrome inflamatória multissistêmica. 4. SARS-CoV-2. 5. Sequenciamento completo de exoma. I. Carvalho, Acácia Fernandes Lacerda de. II. Oliveira, Pablo Rafael Silveira. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDD 616.2 - 23. ed.

Elaborada por Maria Auxiliadora da Silva Lopes - CRB-5/1524

## Termo de aprovação

DocuSign Envelope ID: 96E084ED-1447-48D6-9316-EA948D89B55D



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
Instituto de Ciências da Saúde



PROCESSOS INTERATIVOS  
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO - ICS - UFBA



---

### TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO

IAM DE CERQUEIRA OLIVEIRA

ESTUDO DE CNVS EM SUJEITOS COM SÍNDROME INFLAMATÓRIA  
MULTISSISTÊMICA PEDIÁTRICA ASSOCIADA À COVID-19 (SIM-P)

Salvador, Bahia, 14 de dezembro de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA:

DocuSigned by:  
*Acacia*

593C680EED3C403

---

PROFA. DRA. ACÁCIA FERNANDES LACERDA DE CARVALHO (Examinadora Interna)

DocuSigned by:

*Maria Betânia Pereira Toralles*

C362237C1E73465

---

PROFA. DRA. MARIA BETÂNIA PEREIRA TORALLES (Examinadora Interna)

DocuSigned by:

**Kiyoko Abe Sandes**

EE90076E924412

---

PROFA. DRA. KIYOKO ABE SANDES (Examinadora Externa)

Dedico esta dissertação à minha amada e querida mãe e ao meu pai.  
Dedico também à minha orientadora, Profa. Dra. Acácia Carvalho pela confiança, paciência,  
incentivo e excelente orientação.  
E aos meus amigos, que são minha base, meu horizonte e fonte de inspiração.

OLIVEIRA, Iam de Cerqueira. **Estudo de CNVs em indivíduos com Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica Associada à COVID-19 (SIM-P)**. 2022. Orientadora: Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho. 71 f. il. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

## RESUMO

A Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica (SIM-P) caracteriza-se por constituir-se em resposta inflamatória exacerbada e tardia que ocorre, em média, no período de duas a quatro semanas após o contato com o SARS-CoV2, na população de 0 a 19 anos de idade. Sua frequência é considerada rara, porém, com potencial para o óbito diante da gravidade das manifestações clínicas. A busca por variantes genéticas que conferem predisposição à SIM-P deve envolver a avaliação de todo o genoma humano ou de suas regiões codificantes (exoma). A identificação de variantes genéticas determinantes para a SIM-P é fundamental para a melhor compreensão da arquitetura genética da doença e definição de estratégias de prevenção para detecção de indivíduos com alto risco de desenvolvimento da doença, bem como para o tratamento, visando restabelecer parcialmente resposta imune deficiente. **Objetivo:** Identificar Variantes de Número de Cópias (CNVs) potencialmente envolvidas na SIM-P. **Método:** O presente estudo tem caráter descritivo, com uma amostra de conveniência, composta por 21 crianças e adolescentes de 0-19 anos de idade. Utilizaram-se informações clínicas e laboratoriais de indivíduos diagnosticados com SIM-P, após infecção pelo SARS-CoV-2. Os participantes desta pesquisa são provenientes de três hospitais da região Nordeste do Brasil. Realizou-se sequenciamento do exoma completo, usando a plataforma Illumina (San Diego, CA, EUA) com análise de CNVs em 445 genes candidatos. **Resultados:** Identificaram-se 43 CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas, em 18 dos 21 pacientes estudados. Essas CNVs estão presentes em 30 genes associados a erros inatos da imunidade ou descritos relacionados à infecção pelo SARS-CoV2. **Discussão:** A maioria dessas CNVs foram consideradas achados secundários por estarem em heterozigose e associadas a doenças com padrão de herança autossômico recessivo. No entanto, oito desses pacientes apresentaram CNVs que, de acordo com a zigosidade apresentada e o padrão de herança dos fenótipos associados, podem ser clinicamente relevantes para SIM-P. Essas variantes estão presentes nos genes *IFNGR1*, *CFHR3*, *CSF3R*, *CFHR4*, *DOCK8*, *ICOS*, *SRP72*. **Conclusão:** A identificação desses marcadores genéticos possibilita entender melhor a susceptibilidade a SIM-P pós-COVID, podendo ser aplicada no desenvolvimento de terapias direcionadas.

**Palavras-chave:** COVID-19, Variações no Número de Cópias do DNA, Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica, SARS-CoV-2.

OLIVEIRA, Iam de Cerqueira. **Study of CNVs in Individuals with Pediatric Multisystemic Inflammatory Syndrome (SIM-P) Associated with COVID-19 (SIM-P)**. 2022. Tutor: Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho. 71 s. ill. Dissertation (Master's in Interactive Processes of Organs and Systems) – Institute for Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador.

## ABSTRACT

Pediatric Multisystemic Inflammatory Syndrome (SIM-P) is characterized by an exacerbated and delayed inflammatory response that occurs, on average, from two to four weeks after contact with SARS-CoV2 in the population aged 0 to 19 years. Its frequency is considered rare, but with the potential for death due to the severity of the clinical manifestations. The search for genetic variants that confer predisposition to SIM-P should involve the evaluation of the entire human genome or its coding regions (exome). The identification of genetic variants that are determinant for Y-PS-M is fundamental to better understand the genetic architecture of the disease and to define prevention strategies to detect individuals at high risk of developing the disease, as well as the treatment to partially restore the deficient immune response. **Objective:** Identify Copy Number Variants (CNVs) potentially involved in MIS-C. **Methodology:** The present study is descriptive in nature, with a convenience sample consisting of 21 children and adolescents (0-19 years of age). The data were organized in Excel 2013 and the statistical analysis was performed using the SPSS program, version 2.8.0 through descriptive and inferential analysis, with the data described by the medians and interquartile ranges. Clinical and laboratory information from individuals diagnosed with MIS-C after SARS-CoV-2 infection were used. The patients came from 03 (three) hospitals in the Northeast region of Brazil. Whole exome sequencing was performed using the Illumina platform (San Diego, CA, USA) with analysis of CNVs in 445 candidate genes. **Results:** We identified 43 pathogenic or likely pathogenic CNVs in 18 of the 21 patients. These CNVs are present in 30 genes associated with inborn immune errors or described related to SARS-CoV2 infection. **Discussion:** Most of these CNVs were considered secondary finds for being in heterozigose and associated with diseases with a standard of recessive inherited autosomal. However, eight of the patients showed signs of CNVs, that, according to the zygosity in evidence and the standard of inherited associated phenotypes, can be clinically relevant for SIM-P. These variants are present in the genes *IFNGR1*, *CFHR3*, *CSF3R*, *CFHR4*, *DOCK8*, *ICOS*, *SRP72*. **Conclusion:** The identification of these genetic markers enables a better understanding of susceptibility to MIS-C after COVID and can be applied for the development of targeted therapies.

**Keywords:** COVID-19, Copy number variation, Multisystemic Inflammatory Syndrome, SARS-CoV-2, Sequencing

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD- Autossômico dominante

AR- Autossômico recessivo

AR- ACGM: American College of Medical Genetics

AF- Anemia de Falconi

AST- Aspartato Aminotransferase

CNV: Copy Number Variations

CNV- P patogênica

CNV- PP provavelmente patogênica

CDC- Centro para Controle e Prevenção de doenças dos Estados Unidos da América

DK- Doença de Kawasaki

ESPII- Emergência de Saúde Pública de importância. Internacional

EII- Erros Inatos da Imunidade

IOT- Intubação orotraqueal

SIM-P- Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica

SHU- Síndrome Hemolítico-Urêmica

SDRA- Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

STSS- Síndrome do Choque Tóxico Estreptocócico

VM- Ventilação Mecânica

VMI- Ventilação Mecânica Invasiva

VMNI- Ventilação Mecânica Não-invasiva

UTI- Unidade de Terapia Intensiva

OMS- Organização Mundial da Saúde



VUS: Variantes de Significado Incerto

## LISTA DE QUADROS, FIGURA E TABELAS

<b>Quadro 1</b> - Achados imunológicos na SIM-P.....	14
<b>Figura 1</b> - Potencial imunopatogênese da SIM-P.....	15
<b>Quadro 2</b> - Genes avaliados associados a erros inatos da imunidade.....	24
<b>Quadro 3</b> - Genes relacionados à infecção pelo SARS-CoV-2 .....	25
<b>Tabela 1</b> - Características dos indivíduos com SIM-P associadas à Covid-19.....	26
<b>Tabela 2</b> - Achados laboratoriais em indivíduos hospitalizados com SIM-P. ....	27
<b>Tabela 3</b> - Complicações e tratamento durante hospitalização .....	28
<b>Tabela 4</b> - Genes que apresentaram CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas na amostra avaliada. ....	30
<b>Tabela 5</b> – Pacientes que apresentaram CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas identificadas na amostra avaliada.....	31
<b>Tabela 6</b> - Dados das variantes de acordo com o AnnotSV.....	32
<b>Quadro 4</b> - Genes que apresentaram CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas e fenótipos associados de acordo com o OMIM.....	33
<b>Quadro 5</b> - Pacientes e respectivas CNVs com possível associação com a SIM-P de acordo com a zigosidade apresentada e padrão de herança do fenótipo associado. ....	44
<b>Quadro 6</b> - Pacientes com CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas consideradas Achados Incidentais. ....	45

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
2.1 SIM-P.....	11
2.1.1 Epidemiologia.....	12
2.1.2 Fisiopatologia da SIM-P.....	13
2.1.3 Quadro clínico e tratamento da SIM-P.....	14
2.1.4 Fatores de risco para a SIM-P.....	15
2.1.5 Genética da SIM-P.....	16
2.1.6 Variante no Número de Cópias.....	17
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
4.1 DESENHO DO ESTUDO, SELEÇÃO DA AMOSTRA E ANÁLISE DE DADOS.....	20
4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	21
4.3 DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS.....	21
4.4 COLETA DE CÉLULAS E EXTRAÇÃO DE DNA.....	21
4.5 SEQUENCIAMENTO DO EXOMA TOTAL.....	22
4.6 GENES AVALIADOS NA AMOSTRA.....	22
4.7 DETECÇÃO DE CNV ATRAVÉS DO SEQUENCIAMENTO DO EXOMA.....	25
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXOS.....	55

## 1 INTRODUÇÃO

A doença do coronavírus (COVID-19, sigla em inglês para *coronavirus disease 2019*), causada pelo vírus SARS-CoV-2, tornou-se a maior adversidade de saúde pública atualmente, sendo reconhecida como pandemia em 11 de março de 2020.<sup>1</sup> Inicialmente, observou-se maior impacto dessa doença em indivíduos maiores de 60 anos de idade e com comorbidades associadas, enquanto, na população pediátrica a taxa de infecção era bem menor, se comparada aos adultos.<sup>2,3</sup>

No final de abril de 2020, foi emitido um alerta pelo Reino Unido, relatando a identificação de uma apresentação clínica em crianças e adolescentes possivelmente ligada à COVID-19, que se caracterizava por uma síndrome inflamatória multissistêmica similar à doença de Kawasaki. A partir de então, outros países iniciaram a divulgação de casos similares.<sup>4,5</sup> Até março de 2021, o Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos da América (CDC) identificou 3.185 casos de SIM-P com 36 óbitos no total.<sup>6,6,7</sup>

Crianças e adolescentes infectados com SARS-CoV2 são predominantemente assintomáticos ou têm sintomas leves em comparação com os quadros clínicos descritos em adultos.<sup>5,8</sup> No entanto, um fenótipo de doença grave foi relatado pela primeira vez em maio de 2020 em Londres, com evidências de estado hiperinflamatório multissistêmico, semelhante à síndrome do choque tóxico e Doença de Kawasaki (DK), denominada de Síndrome Inflamatória Multissistêmica em Crianças (SIM-P) associado à COVID-19.<sup>4,8</sup>

A infecção pelo SARS-CoV-2 resulta em grande diversidade clínica interindividual, variando da forma assintomática até quadros inflamatórios graves que podem levar a óbito.<sup>9</sup> Os estudos iniciais sobre a COVID-19 concentraram-se nas características clínicas, epidemiológicas e na caracterização genômica do agente etiológico<sup>9</sup>. O papel dos fatores genéticos do hospedeiro na suscetibilidade ao vírus e na gravidade da COVID-19 são descritos na literatura.<sup>9,10</sup> Estudos evidenciam que a maioria dos indivíduos que evoluem para quadros graves, quando infectados pelo SARS-CoV-2, têm mais de 60 anos e/ou apresentam problemas de saúde prévios, no entanto, um pequeno número de indivíduos jovens (previamente saudáveis) pode apresentar COVID-19 grave, incluindo doença respiratória aguda grave, encefalite e complicações cardiovasculares.<sup>11, 12,13</sup>

Nesse contexto de manifestações graves, é importante considerar os relatos em todo o mundo de crianças e adolescentes que apresentam SIM-P. Estudos descrevem ainda que essa condição pode ser desencadeada após a infecção pelo SARS-CoV-2 e não durante a fase aguda da doença.<sup>8,14,15</sup> Os pacientes com a SIM-P apresentam muito frequentemente febre alta e persistente (38-40°C), exantemas de apresentações variadas, conjuntivite não purulenta bilateral, edema de mãos e pés, dor abdominal, vômitos e diarreia.<sup>16,17</sup>

Dentre as alterações laboratoriais mais observadas estão a elevação dos valores de proteína C-reativa (PCR), ferritina, procalcitonina, peptídeo natriurético tipo B (prova de função miocárdica), da troponina e do D-dímero.<sup>4,18,19</sup> Os pacientes podem evoluir clinicamente para choque séptico e disfunção de múltiplos órgãos, requerendo internação em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) devido à complexidade das manifestações clínicas.<sup>18,19</sup>

Em 2020, Carter e colaboradores<sup>20</sup> investigaram os perfis de resposta imunológica no sangue periférico de pacientes com SIM-P e observaram concentrações elevadas de citocinas inflamatórias, destacando-se: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17 e IFN- $\gamma$ ; linfopenia generalizada incluindo células T CD4, CD8,  $\gamma\delta$  e células B; ativação de células T  $\gamma\delta$ , CD4<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>, neutrófilos e monócitos; além da diminuição na capacidade de apresentação de antígenos por monócitos e células dendríticas.

Estudos evidenciam que a SIM-P é considerada como vasculopatia inflamatória pós-viral, observada em crianças e inúmeros trabalhos recentes elucidam a fisiopatologia, epidemiologia, manifestações clínicas e tratamentos da SIM-P.<sup>3,4,6,10</sup> A busca por variantes genéticas que conferem predisposição à SIM-P deve envolver a avaliação de todo o genoma humano ou de suas regiões codificantes (exoma).

Um tipo de variante genética que pode estar associada à SIM-P é a variação do número de cópias. As CNVs são alterações genômicas com pelo menos 1kb de extensão e envolvem ganhos ou perdas (duplicações ou deleções), quando comparados ao genoma de referência.<sup>21</sup> Essas variações estão presentes em todos os indivíduos e podem ser CNV normal ou patológica.<sup>22</sup>

Diante do exposto, nota-se que ainda são incipientes estudos que têm como objetivo a identificação de CNVs potencialmente implicadas na SIM-P. A literatura descreve de modo muito amplo as manifestações clínicas da SIM-P<sup>26,27,28</sup>, no entanto, ainda são reduzidos os estudos que elucidam a variabilidade genética nessa síndrome, o que ressalta a relevância do

presente estudo. Sendo assim, objetivo geral desta pesquisa é descrever as CNVs em crianças e adolescentes brasileiros diagnosticados com SIM-P, hospitalizados em hospitais de referência na região Nordeste do Brasil.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Esta seção compreende a base teórica que sustenta o desenvolvimento deste estudo.

### 2.1 SIM-P

Os primeiros casos relatados de SIM-P foram em 2020, em meio à pandemia de COVID-19, que resultou na declaração de Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), pela Organização Mundial da Saúde (OMS).<sup>1,7</sup> A SIM-P se caracteriza por uma resposta inflamatória exacerbada e tardia que ocorre, em média, no período de duas a quatro semanas após o contato com o SARS-CoV2, na população de 0 a 19 anos de idade.<sup>22</sup> Sua frequência é considerada rara, mas grande parte dos casos necessita de tratamento em UTI, com potencial para o óbito diante da gravidade das manifestações clínicas. Os casos mais graves apresentam choque, com necessidade de suporte hemodinâmico e podendo, algumas vezes, evoluir para óbito.

Essa condição pode apresentar características semelhantes à Doença de Kawasaki (DK) completa ou incompleta, à síndrome do choque tóxico e à síndrome de ativação macrofágica, cursando com acometimento de vários órgãos, incluindo o coração, o trato gastrointestinal, a pele e os olhos, elevação de reagentes de fase aguda, ocorrendo mais frequentemente em escolares e adolescentes.<sup>7,10,24</sup> A SIM-P se caracteriza por um amplo espectro clínico. Cursa com febre, manifestações gastrointestinais, neurológicas, choque e disfunção miocárdia. Requer alto grau de suspeição para o tratamento precoce e prevenção de potenciais complicações cardiovasculares, respiratórias, renais e neurológicas.<sup>25,26,27,28</sup>

Apesar da relação causal entre a infecção por SARS-CoV-2 e a SIM-P ainda não ter sido claramente estabelecida, sobretudo porque apenas um terço dos pacientes com SIM-P apresentam teste molecular (RT-PCR) positivo para o SARS-CoV-2, a maior parte dos pacientes com essa síndrome apresenta sorologia positiva para o vírus e/ou apresentou quadro

clínico leve de Covid-19 semanas antes da apresentação dos sintomas graves.<sup>28</sup> Essa observação sugere que a SIM-P é uma doença pós-infecciosa ou uma doença inflamatória/autoimune.

### 2.1.1 Epidemiologia

De acordo com o *Boletim Especial Epidemiológico* do Ministério da Saúde (Semana Epidemiológica 45/2021), até 13 de novembro desse mesmo ano foram notificados 2.420 casos suspeitos da SIM-P associados à COVID-19 em crianças e adolescentes de 0 a 19 anos, no território nacional.<sup>29</sup> Desses, 1.377 (57%) casos foram confirmados para SIM-P, 775 (32%) foram descartados (por não preencherem os critérios de definição de caso ou por ter sido constatado outro diagnóstico que melhor justifique o quadro clínico) e 268 (11%) seguem em investigação. Dos casos confirmados, 84 evoluíram para óbito (letalidade de 6,1%), 1.141 tiveram alta hospitalar e 152 estão com o desfecho em aberto.<sup>29</sup>

Por outro lado, nos Estados Unidos, até o dia 8 de janeiro de 2021, já haviam sido notificados 1.659 casos confirmados de SIM-P, com 26 óbitos (1,7%). Os casos ocorreram de 2-4 semanas após a infecção por SARS-CoV-2, em crianças e adolescentes com idades entre 1 e 14 anos (média 8 anos), sendo pouco mais da metade em pacientes do sexo masculino (57%). Mais de 70% dos casos relatados ocorreram em crianças hispânicas ou latinas (554 casos) ou negras não hispânicas (499 casos). A maioria (99%) dos pacientes testou positivo para SARS-CoV-2 e o restante (1%) teve contato próximo com alguém infectado.<sup>31</sup>

O primeiro caso confirmado de SIM-P associado à COVID-19 notificado no Brasil teve início dos sintomas em março de 2020. No ano de 2020, ocorreram 725 casos de SIM-P e em 2021, até a semana epidemiológica, 45 foram notificados, 652 casos confirmados de SIM-P.<sup>29</sup> Em relação aos óbitos, foram notificados 84 casos de SIM-P no Brasil que evoluíram para óbito, desses, 49 apresentaram o início dos sintomas em 2020 e 35, em 2021. Dados da literatura internacional mostram um predomínio da SIM-P em crianças maiores, na faixa etária de 5 a 13 anos, com mediana de idade de 09 anos (CDC, 2021).<sup>6,18</sup>

De acordo com uma revisão sistemática e metanálise que incluiu 386 estudos, totalizando 992 crianças com SIM-P, a proporção de casos no sexo masculino foi discretamente maior (1,37 meninos:1 menina), com mediana de idade de 7 anos (14 dias - 20 anos).<sup>31</sup> Foram detectados anticorpos reagentes anti-SARS-CoV-2 em 48% dos pacientes, RT-PCR detectável em 28% deles e 23% dos casos tinham ambos os exames positivos. Apenas 10% apresentavam história epidemiológica de contato prévio com casos suspeitos ou confirmados de Covid-19.<sup>7,31</sup>

Cerca de 60% das crianças afetadas nos EUA foram relatadas como hispânicas ou negras não hispânicas, com uma leve preponderância masculina. Embora a distribuição racial/étnica provavelmente reflita as disparidades de saúde relacionadas à Covid-19, a predisposição genética para SIM-P- não foi excluída.<sup>27,28</sup>

### 2.1.2 Fisiopatologia da SIM-P

Estudos mostram desregulação imunológica na SIM-P, incluindo depleção e ativação de linfócitos T, desvio Vbeta do receptor de células T, frequências elevadas de plasmablastos, aumento de marcadores de patologia vascular e diminuição do número e de perfis funcionais de células apresentadoras de antígenos<sup>29,31</sup>. A SIM-P e a DK têm semelhanças clínicas, mas são distintas. A disfunção miocárdica, com ou sem dilatação leve da artéria coronária, pode ocorrer na SIM-P, mas geralmente desaparece em semanas. Por outro lado, as artérias coronárias são o alvo primário na DK e as sequelas das artérias coronárias podem durar toda a vida.<sup>32,33</sup>

A SIM-P está associada a altos níveis de inflamação e responde a terapias anti-inflamatórias; presume-se, portanto, que seja imunomediada.<sup>28</sup> Estudos sobre a imunopatogênese da SIM-P vêm sendo publicados, principalmente no que concerne às características da desregulação imune nessa síndrome.<sup>34,35,36,37</sup>

Pesquisadores coletaram amostras de sangue de pacientes com SIM-P para avaliar citocinas plasmáticas, alterações nas células imunes inatas e adaptativas e perfis de anticorpos contra SARS-CoV-2 e contra autoantígenos.<sup>34,35,36</sup> Cabe ressaltar que esses estudos foram realizados em condições de pandemia e diante de um cenário de uma doença pouco explorada, o que dificultou a comparação de grupos controles e tamanho de amostra. Na Figura 1 são apresentados achados imunológicos de um estudo publicado recentemente em crianças com SIM-P.<sup>33</sup>

### Quadro 1 - Achados imunológicos na SIM-P

Componente do sistema imunológico	Descobertas consistentes
Citocinas	Aumentos em múltiplos, incluindo IFN $\gamma$ , IL-10, TNF $\alpha$
Proteoma	Aumento de PLA2G2A
Monócitos	HLA-DR diminuído
Células dendríticas	PDC diminuído
células B	Plasmablastos aumentados
Anticorpo específico para SARS-CoV-2	Quantidade normal e neutralização
Autoanticorpo	Detectado, mas nenhum autoanticorpo único confirmado em todos os estudos
células T	Números reduzidos, ativação aumentada

**Fonte:** Adaptado de Vella LA, Rowley A.H<sup>32</sup>. Current insights into the pathophysiology of multisystem inflammatory syndrome in children. *Curr Pediatr Rep.* 2021;9:83–92). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40124-021-00257-6>



Para identificar ferramentas de diagnóstico e alvos terapêuticos na SIM-P, vários grupos avaliaram os perfis de citocinas plasmáticas e outras proteínas plasmáticas, sendo identificadas elevações acima da faixa normal em várias citocinas plasmáticas, incluindo IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , IL-17, TNFa, IFN $\gamma$  e IL-10.<sup>35,36,37,38,39,40</sup> Outros estudos identificaram mudanças nas vias de resposta do interferon.<sup>41,42,43,44,45,46</sup>

Trabalhos apontam que níveis de citocinas não classificaram claramente os pacientes que permaneceram com PCR positivos, se comparados aos sujeitos da pesquisa que apresentaram PCR negativos, porém foi observado que algumas citocinas como IFN $\gamma$ , IL-10 e TNFa foram mais proeminentes na SIM-P e, portanto, podem ser importantes marcadores como indicadores de possível imunopatogênese.<sup>35,37,39,40,42</sup>

Um estudo mostrou a fosfolipase A2 (PLA2G2A)<sup>44</sup> – componente enzimático de muitas vias inflamatórias – como a proteína plasmática mais elevada em SIM-P, em comparação com controles saudáveis e tipicamente mais alta em SIM-P do que em Covid-19 pediátrica aguda, e o aumento de PLA2G2A foi observado em coortes menores de SIM-P por dois outros grupos e demonstrou estar correlacionado com trombocitopenia e com elevações em um biomarcador de complemento da microangiopatia tecidual, observada na SIM-P, C5B9 solúvel. Nota-se que elevação de PLA2G2A é uma das descobertas de pesquisa mais consistentes na SIM-P.<sup>44</sup> Nesse sentido, pode-se inferir que avaliação das proteínas plasmáticas tem um grande potencial como ferramenta de prognóstico dessa síndrome.

### 2.1.3 Quadro clínico e tratamento da SIM-P

Assim como não está definida qual é a forma mais frequente de apresentação da SIM-P e qual a probabilidade de crianças com manifestações leves progredirem para formas mais graves, também não se sabe ao certo quais fatores de risco seriam relevantes para determinar tal progressão.<sup>7,45,46</sup>

Trabalhos elucidam que, na prática clínica, as manifestações clínicas da SIM-P são heterogêneas, o que reforça a ideia de que a síndrome é um espectro com diferentes apresentações clínicas.<sup>43,44,45,46</sup> Um estudo com 570 crianças nos Estados Unidos, coordenado pelo CDC<sup>47,48</sup>, possibilitou, por meio de modelagem estatística, reunir esses pacientes em três subgrupos. Ainda que tenha limitações por se basear em relatórios de dados clínicos

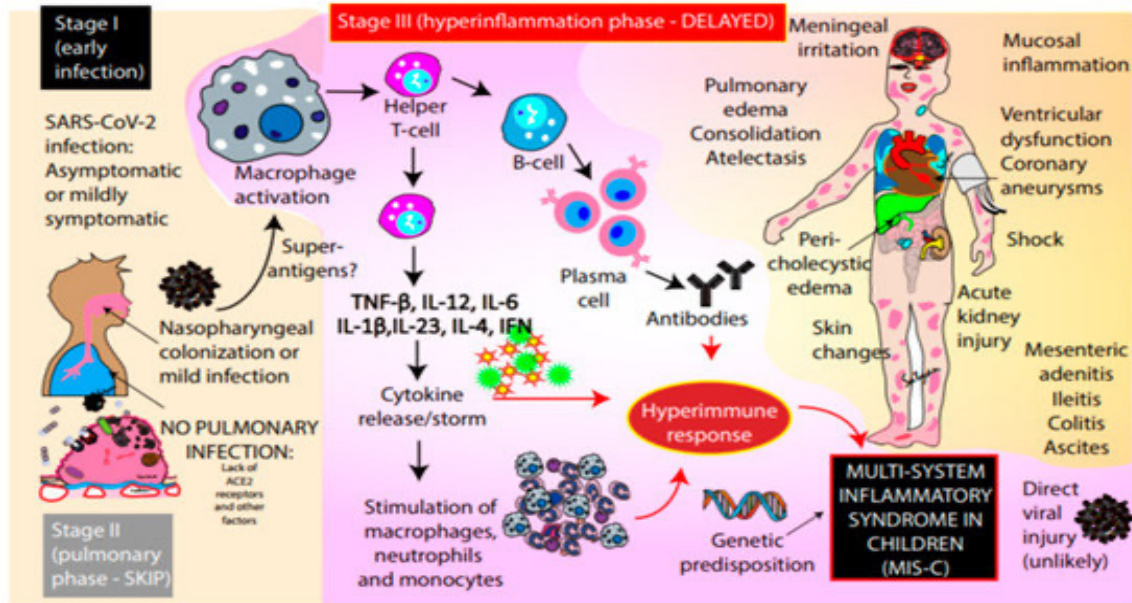
eventualmente incompletos, esses trabalhos mencionam que apresentações clínicas são muitas vezes semelhantes.

O tratamento ideal para SIM-P ainda vem sendo analisado.<sup>49,50,51</sup> Devido às semelhanças clínicas entre a Doença de Kawasaki e SIM-P, o tratamento foi modelado segundo o usado em KD, sendo a Gamaglobulina Intravenosa (IVIG) frequentemente administrada, embora seu papel ainda permanece incerto.<sup>51,52,53</sup> Os pacientes que parecem não responder à IGIV e a corticosteroides são frequentemente tratados com anakinra ou infliximabe, mas a eficácia e o papel desses agentes também são atualmente pouco conhecidos.<sup>55,56,57,58</sup> Ressalta que os casos mais leves de SIM-P podem ser autolimitados e podem melhorar por meio dos cuidados de suporte da equipe interdisciplinar de saúde, como cuidados básicos de controle dos sinais e sintomas, principalmente febre, manifestações gastrointestinais e respiratórias.<sup>60,61,62</sup>

#### **2.1.4 Fatores de risco para a SIM-P**

As possibilidades de imunopatogênese da SIM-P permanecem amplas, como pode visto na Figura 1. A característica mais marcante e consistente identificada por vários grupos foi à expansão de células T V $\beta$ 21.3+.<sup>38,39,42</sup> A expansão é semelhante à observada em processos superantigênicos, como a Síndrome do Choque Tóxico Estreptocócico (STSS) e, certamente, algumas características clínicas da SIM-P- se sobrepõem à STSS.

#### **Figura 1- Potencial imunopatogênese da SIM-P**



**Fonte:** Adaptado de Shields et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: A review. American Journal of Nursing. May 2021;121(5);26-37. Doi: 10.1097/01.NAJ.0000749756.12090.63

A infecção precoce (fase I) com SARS-CoV-2 provavelmente será assintomática ou levemente sintomática em crianças. A fase pulmonar (fase II) é grave em adultos, mas é leve ou ausente em muitas crianças. A infecção precoce parece desencadear a ativação de macrófagos, seguida pela estimulação das células T-helper. Isso, por sua vez, leva à liberação de citocinas, à estimulação de macrófagos, neutrófilos e monócitos, juntamente com a ativação de células B e células plasmáticas com a produção de anticorpos, que levam resposta hiperimune (estágio III). Essa desregulação imunológica está associada à síndrome inflamatória em crianças afetadas.

### 2.1.5 Genética da SIM-P

Ainda não está claro por que apenas uma pequena fração dos indivíduos infectados com o SARS-CoV-2 desenvolve a SIM-P. É possível que a resposta inicial deficiente de anticorpos neutralizantes em algumas crianças e adolescentes leve à exacerbação da resposta imune, após a reexposição ao SARS-CoV-2.<sup>49,50</sup> Foi relatado que paciente com formas graves da Covid-19 podem produzir autoanticorpos que neutralizam a ação dos IFNs do tipo I, bloqueando a sua capacidade de controlar a infecção pelo SARS-CoV-2.<sup>50,51,58,59,60</sup>

Alternativamente, a diversidade de alelos do sistema de antígenos leucocitários humanos (HLA) pode responder por essa diversidade de respostas ao vírus.<sup>51</sup> Além disso, grande parte dos pacientes com SIM-P em países da Europa eram afrodescendentes, o que sugere o papel de fatores genéticos na determinação dessa condição em populações específicas.<sup>54</sup>

Diversos estudos têm identificado variantes genéticas associadas a casos graves de doenças infecciosas em pacientes previamente saudáveis.<sup>53,54,59,60</sup> Mutações nos genes TMC6 ou TMC8 resultam em maior suscetibilidade ao vírus do papiloma humano beta.<sup>50</sup> Também foi observada maior suscetibilidade ao vírus Epstein-Barr, em pacientes com síndrome linfoproliferativa ligada ao X (causada por mutações nos genes SH2D1A e XIAP) e em pacientes com mutações bialélicas em CD27, CD70, ITK ou MAGT1.<sup>55,56,57</sup> Esses estudos mostram que doenças graves causadas por patógenos, que geralmente induzem condições benignas em populações humanas, podem resultar de variantes monogênicas com efeito direto na resposta imune do hospedeiro.

Em pacientes com Erros Inatos da Imunidade (EII), o desenvolvimento de doenças pode envolver o comprometimento de mecanismos imunológicos específicos contra um determinado patógeno ou contra diferentes tipos de microrganismos patogênicos.<sup>59,60</sup> Os EIIs podem induzir respostas imunológicas insuficientes ou excessivas e em nível celular podem afetar leucócitos ou outras células residentes em tecidos.<sup>50,51,52</sup> É importante considerar que esses cenários imunogenéticos podem ser transpostos para o contexto das formas graves de Covid-19.

Nesse sentido, foram identificadas variantes em genes da via do IFN tipo I que estão associadas ao desenvolvimento de síndrome respiratória grave por Covid-19 em pacientes jovens, previamente saudáveis.<sup>53,54</sup> Além disso, foi relatado o caso de uma criança de 13 meses, com deleção em homozigose do gene do receptor 2 de IFN (*IFNGR2*), que desenvolveu quadro de SIM-P após infecção pelo SARS-CoV-2.<sup>57</sup>

### **2.1.6 Variante no número de cópias (CNV)**

No genoma humano, existem diferentes variações estruturais e, dentre estas, estão as CNVs, que contribuem para a diversidade genética, causa e susceptibilidade da doença, podendo estar associadas ou não a alterações clínicas específicas.<sup>21</sup> Estima-se que 12% do

genoma humano pode ser variável em número de cópias e que indivíduos normais e saudáveis também são portadores de CNVs.<sup>61</sup>

As CNVs são alterações genômicas com pelo menos 1kb de extensão e envolvem ganhos ou perdas (duplicações ou deleções), quando comparados ao genoma de referência. Essas variações estão presentes em todos os indivíduos e podem ser CNVs de caráter normal ou patológica.<sup>61</sup> O Colégio Americano de Genética Médica e Genômica e a Associação de Patologia Molecular (ACGM) recomendam que as CNVs sejam nomeadas como “variante” e sejam classificadas como variante provavelmente benigna, sendo benigna significado incerto (VUS), provavelmente patogênica ou patogênica.<sup>62</sup>

A interpretação clínica precisa de CNVs requer métodos consistentes de avaliação do conteúdo genômico de uma região de CNV e correlação de achados clínicos com os relatados na literatura.<sup>63</sup> Essa classificação depende do conteúdo genômico, predições e curações de sensibilidade de dosagem gênica, efeito funcional previsto, sobreposição clínica com pacientes na literatura médica, evidências de bancos de dados de casos e controles e padrões de herança para CNVs individuais.<sup>63,64</sup>

Para auxiliar na classificação das CNVs, independentemente da tecnologia utilizada para identificá-los, o Colégio Americano de Genética Médica e Genômica desenvolveu uma estrutura de pontuação quantitativa baseada em evidências; nela, os valores são atribuídos a cada peça de evidência e, ao final, CNVs com valor de ponto final  $\geq 0,99$  são considerados “patogênicos”, enquanto valores de ponto entre 0,90 e 0,98 são considerados “provavelmente patogênicos”.<sup>62</sup> A categoria variante de significância incerta (VUS) é a mais ampla, correspondendo a pontos entre  $-0,89$  e  $0,89$ , enquanto evidências refutadas que chegam a pontuações entre  $-0,90$  e  $-0,98$  ou  $\leq -0,99$  são consideradas provavelmente benignas e benignas, respectivamente.<sup>62</sup>

Para a interpretação das CNVs podem ser utilizados diferentes bancos de dados genéticos públicos específicos: DGV - Database of Genomic Variants; Decipher (<https://decipher.sanger.ac.uk>); OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man (<https://www.omim.org>) e NCBI – Genome (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>).

A análise de CNVs para detectar perdas e ganhos causadores de doenças em todo o genoma tem sido amplamente utilizada para a avaliação de indivíduos com distúrbios do neurodesenvolvimento e/ou múltiplas anomalias congênitas.<sup>62</sup> No entanto, a análise de CNVs ainda é escassa no que diz respeito à associação com a SIM-P.

Nota-se, diante do exposto, uma heterogeneidade das manifestações clínicas na SIM-P. Da mesma forma, apesar do avanço no número de trabalhos publicados sobre marcadores genéticos nessa síndrome, ainda são poucos estudos sobre CNVs nessa população. Portanto, identificar CNVs em crianças com SIM-P pode ajudar a entender o perfil genético de susceptibilidade à doença, bem como auxiliar no diagnóstico precoce e em terapias direcionadas.

### 3 OBJETIVOS

Esta seção apresenta os objetivos estabelecidos segundo o tipo de estudo que se elegeu.

#### OBJETIVO GERAL

- Identificar Variantes de Número de Cópias (CNVs) potencialmente envolvidas na Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica pós Covid-19 (SIM-P).

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever clinicamente os casos de SIM-P recrutados em hospitais públicos pediátricos de referência, nas cidades de Recife (Pernambuco) e Salvador (Bahia);
- Descrever CNVs patogênicas e provavelmente patogênicas identificadas em genes candidatos na manifestação da SIM-P;
- Avaliar o papel dessas CNVs na SIM-P

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta seção apresenta o método adotado para dar cumprimento aos objetivos estabelecidos para o desenvolvimento deste estudo.

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO, SELEÇÃO DA AMOSTRA E ANÁLISE DE DADOS

O presente estudo tem caráter descritivo, com uma amostra de conveniência composta por 21 crianças e adolescentes (0-19 anos de idade). Utilizaram-se informações clínicas e laboratoriais de indivíduos diagnosticados com Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica (SIM-P), após infecção pelo SARS-CoV-2. Os pacientes são provenientes de três hospitais na região Nordeste do Brasil: Hospital Martagão Gesteira (Salvador, BA), Instituto Couto Maia (Salvador, BA) e o Hospital Universitário Oswaldo Cruz (Recife, PE). O primeiro caso de SIM-P recrutado no estudo ocorreu em maio de 2020 e o último, em março de 2021.

Foram considerados os critérios diagnósticos adotados pelo CDC que incluem febre  $\geq 38$  °C por mais de 24 horas, pelo menos um parâmetro laboratorial alterado indicativo de inflamação, envolvimento multissistêmico ( $\geq 2$  órgãos), nenhum outro diagnóstico plausível e soro [teste imunocromatográfico/ELISA (IgG ou IgM)] ou teste molecular (RT-PCR) positivo para SARS-CoV-2. Ressalta-se que, no percurso da coleta de dados, o teste sorológico IgG ou IgM eram os mais utilizados nos hospitais, o que justifica número reduzido de teste RT-PCR na população estudada.

Esses pacientes não foram vacinados contra a Covid-19 e não apresentavam comorbidades, incluindo, mas não se limitando a: obesidade, sobrepeso, câncer, diabetes, hipertensão, HIV/AIDS, Síndrome de Down, histórico de infecções graves ou recorrentes, contagem baixa de células B/T ou outras doenças genéticas e sistêmicas. Todos os pacientes receberam alta hospitalar. Não foram realizados testes para diagnosticar infecção por outros vírus que causam doenças respiratórias, exantemáticas/febris.

Os dados foram organizados no programa Excel 2013 e o tratamento estatístico foi realizado por meio do programa SPSS, versão 2.8.0, por meio de análise descritiva e inferencial, sendo os dados descritos pelas medianas e intervalos interquartis.



## 4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A realização deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Brasil (número do parecer de aprovação: 4.263.871). Todos os métodos e protocolos foram realizados de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque. Os pais ou responsáveis legais pelas crianças/adolescentes concordaram com o estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

## 4.3 DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Os dados foram coletados de prontuários médicos eletrônicos. As variáveis compreenderam informações como idade, sexo e cor declarada pelos pais/responsáveis pelos pacientes. Foram coletadas informações clínicas, incluindo teste diagnóstico para o SARS-CoV-2, duração de febre ( $> 38^{\circ} \text{C}$ ) e verificação dos achados clínicos: odinofagia, tosse, dispneia, astenia/adinamia, cefaleia, queilite, erupção cutânea, conjuntivite não purulenta bilateral, linfadenopatia, saturação de  $\text{O}_2 < 95\%$ , taquicardia, dor abdominal, diarreia, vômito e anosmia/hiposmia. Foram coletadas informações sobre contagem total de leucócitos, neutrófilos e linfócitos para cada paciente. Além disso, foram verificados os níveis plasmáticos de D-dímero, albumina, Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), creatinina, Creatina Fosfoquinase (CPK), Desidrogenase Láctica (LDH), ferritina, Proteína C-Reativa (PCR) e troponina.

## 4.4 COLETA DE CÉLULAS E EXTRAÇÃO DE DNA

O DNA genômico dos pacientes foi extraído de células da mucosa bucal, por meio de raspagem por Swabs específicos para este fim, utilizando-se o kit ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System (Promega Corp, Madison, WI, USA).

As amostras foram processadas no mesmo dia da coleta e em seguida foram armazenadas a  $-20^{\circ} \text{C}$  até o momento do uso. A concentração e a pureza das amostras de DNA foram inicialmente avaliadas usando um NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). As concentrações de DNA dos pacientes foram confirmadas com

auxílio do kit Qubit® DNA Assay, usando-se um fluorômetro Qubit® 2.0 (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA).

#### 4.5 SEQUENCIAMENTO DO EXOMA TOTAL

Um micrograma do DNA genômico foi usado para a preparação de biblioteca para o sequenciamento do exoma dos pacientes, usando-se o kit Illumina DNA Prep with Enrichment (Illumina, San Diego, CA, EUA). As bibliotecas enriquecidas para regiões exônicas foram submetidas a sequenciamento de nova geração (2×150 bp) na plataforma NovaSeq 6000, utilizando o kit NovaSeq SP v1 Reagent (Illumina, San Diego, CA, USA). Os dados para cada uma das amostras (média de 40 milhões de *reads* por amostra) foram analisados usando-se o *Genome Analysis ToolKit* (GATK, [gatk.broadinstitute.org](http://gatk.broadinstitute.org)). Em média, 1% das *reads* obtidas foram excluídas por representarem regiões fora do alvo. As sequências restantes foram alinhadas ao genoma humano de referência, versão GRCh38, e os arquivos de mapeamento (BAM) foram obtidos com auxílio do programa SAMTools (v1.15).

As sequências duplicadas foram removidas por meio do Picard Toolkit (v2.27.2). A profundidade média de sequenciamento foi superior a 100x. Apenas as regiões que apresentaram cobertura  $\geq 10$  *reads* foram retidas no estudo. A análise do exoma nesses pacientes faz parte de outro projeto de pesquisa já realizada, cujos resultados estão sendo preparados para publicação. Ressaltamos que não foram encontradas CNVs nas regiões onde foram identificadas Variantes de Nucleotídeo Único (SNVs), não havendo, portanto, associação entre essas variantes na amostra estudada.

#### 4.6 GENES AVALIADOS NA AMOSTRA

Para análise das CNVs, foram filtrados 397 genes (Tabela 1) baseados na classificação de Erros Inatos de Imunidade/Imunodeficiências Primárias, compilado pelo Comitê de Especialistas da União Internacional de Sociedades de Imunologia.<sup>66</sup>

Descreveram-se 430 erros inatos da imunidade em 397 genes que incluem: Imunodeficiências combinadas, Imunodeficiências combinadas com características sindrômicas, Deficiências predominantemente de anticorpos, Doenças de desregulação imunológica, Defeitos congênitos de fagócitos, Defeitos na imunidade intrínseca e inata, Doenças autoinflamatórias e Deficiências de complemento.<sup>66</sup>

Também pesquisaram-se CNVs em 126 genes (Tabela 2) que codificam proteínas envolvidas em mecanismos pelos quais o SARS-CoV-2 modula as respostas imunes inatas e adaptativas, autofagia, tradução do hospedeiro, sinalização intracelular, vias regulatórias e junções célula-célula, a partir de lista disponível na base de dados Reactome [reactome.org; Disease > Infectious Diseases > SARS-CoV infections > SARS-CoV-2 infection (R-HSA-9694516); reactome.org] (Quadro 2). Alguns desses genes já fazem parte dos genes descritos por Tangye et al. (Quadro 3). De modo que, no total, foram avaliados neste estudo 445 genes.

**Quadro 2 – Genes avaliados associados a erros inatos da imunidade**


---

*ACD, ACP5, ACTB, ADA, ADA2, ADAMI7, ADARI, AICDA, AIRE, AK2, ALPI, AP1S3, AP3B1, AP3D1, APOL1, ARHGEF1, ARPC1B, ATM, ATP6AP1, B2M, BACH2, BCL10, BCL11B, BLM, BLNK, BRCA1, BRCA2, BTK, CIQA, CIQB, CIQC, CIR, CIS, C2, C3 C4A, C5, C6, C7, C8A, C8B, C8G, C9, CARD11, CARD14, CARD9, CARMIL2, CASP10, CASP8, CCBE1, CD19, CD20, CD21, CD27, CD3D, CD3E, CD3G, CD3Z, CD40LG, CD459, CD46, CD55, CD70, CD79A, CD79B, CD81, CD8A, CDCA7, CEBPE, CF1, CFB, CFD, CFH, CFHR1, CFHR2, CFHR3, CFHR4, CFHR5, CFP, CFTR, CHD7, CIB1, CIITA, CLCN7, CLPB, COPA, CORO1A, CSF2RA, CSF3R, CSFR2B, CTC1, CTLA4, CTPS1, CTSC, CXCR4, CYBA, CYBB, CYBC1, DBR1, DCLRE1C, DEF6, DKC1, DNAJC21, DNASE2, DNMT3B, DOCK2, DOCK8, EFL1, ELANE, EPG5, ERBB21P, ERCC4, ERCC6L2, EXTL3, FAAP24, FADD, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCL, FANCM, FAT4, FCGR3A, FCHO1, FCN3, FERMT1, FERMT3, FOXN1, FOXP3, FPR1, G6PC3, G6PD, G6PT1, GATA2, GFII, GINS1, HAVCR2, HAX1, HELLS, HMOX, HYOU1, ICOS, ICOSLG, IFIH1, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IGHM, IGKC, IGLL1, IKBKB, IKBKG, IKZF1, IKZF1, IL10, IL10RA, IL10RB, IL12B, IL12RB1, IL12RB2, IL17F, IL17RA, IL17RC, IL18BP, IL1RN, IL21, IL21R, IL23R, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL36RN, IL6R, IL6ST, IL7R., INO80, IRAK1, IRAK4, IRF2BP2, IRF3, IRF4, IRF7, IRF8, IRF9, ISG15, ITCH, ITGB2, ITK, JAGN1, JAK1, JAK3, KDM6A, KMT2A, KMT2D, LAT, LCK, LIG1, LIG4, LMTOR2, LPIN2, LRBA, LYST, MAD2L2, MAGT1, MALT1, MAP3K14, MASP2, MCM4, MEFV, MKL1, MOGS, MSH6, MSN, MTHFD1, MVK, MYD88, MYSM1, NBAS, NBS1, NCF1, NCF2, NCF4, NCSTN, NFAT5, NFE2L2, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NHEJ1, NLRC4, NLRP1, NLRP12, NLRP3, NOD2, NOLA2, NOLA3, NSMCE3, OAS1, ORAI1, OSTM1, OTULIN, PALB2, PARN, PEPD, PGM3, PIK3CD, PIK3R1, PLCG2, PLEKHM1, PMS2, PNP, POLA1, POLD1, POLD2, POLE1, POLE2, POLR3A, POLR3C, POLR3F, PRF1, PRKCD, PRKDC, PSEN, PSENE1, PSMB8, PSMG2, PSTPIP1, PTEN, PTPRC, RAB27A, RAC2, RAD51C, RAG1, RAG2, RANBP2, RASGRP1, RBCK1, REL, RELB, RFWD3, RFX5, RFXANK, RFXAP, RHOH, RIPK1, RMRP, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RNF168, RNF31, RNU4ATAC, RORC, RPSA, RTEL1, SAMD9, SAMD9L, SAMHD1, SBDS, SEC61A1, SEMA3E, SERPING1, SH2D1A, SH3BP2, SH3KP1, SKIV2L, SLC29A3, SLC35C1, SLC39A7., SLC46A1, SLC7A7, SLX4, SMARCA1, SMARCD2, SNX10, SP110, SPINK5, SPPL2A, SRP54, SRP72, STAT1, STAT2, STAT3, STAT5B, STIM1, STK4, STN1, STX11, STXBP2, TAP1, TAP2, TAPBP, TAZ, TBK1, TBX1, TCF3, TCIRG1, TCN2, TERC, TERT, TFRC, TGFB1, TGFB1R1, TGFB1R2, THBD, TICAM1, TINF2, TIRAP, TLR3, TMC6, TMC8, TMEM173, TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF1A, TNFRSF4, TNFRSF6, TNFRSF9, TNFSF11, TNFSF12, TOP2B, TP53, TPP2, TRAC, TRAF3, TRAF3IP2, TREX1, TRIM22, TRNT1, TTC37, TTC7A, TYK2, UBE2T, UNC13D, UNC93B1, UNG, USB1, USP18, VPS13B, VPS45, WAS, WDR1, WIPF1, WRAP53, XIAP, XRCC2, XRCC9, ZAP70, ZBTB24, ZNF341*

---

**Fonte:** Adaptado de Tangye et al.<sup>66</sup>

### Quadro 3 - Genes relacionados à infecção pelo SARS-CoV-2

*AAAS, ATG14, B2M, BECN1, CHUK, CNBP, CREBBP, DDX58, G3BP1, G3BP2, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HSP90AA1, HSP90AB1, IFIH1, IFNA1, IFNA10, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA2, IFNA21, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNAR1, IFNAR2, IFNB1, IKBKB, IKBKE, IKBKG, IL17A, IL17F, IL17RA, IL17RC, IRAK1, IRAK2, IRF3, IRF7, ISG15, JAK1, KPNA2, LARPI, MAP3K7, MASP1, MASP2, MAVS, MBL2, NDC1, NLRP12, NLRP3, NOD1, NOD2, NUP107, NUP133, NUP153, NUP155, NUP160, NUP188, NUP205, NUP210, NUP214, NUP35, NUP37, NUP42, NUP43, NUP50, NUP54, NUP58, NUP62, NUP85, NUP88, NUP93, NUP98, PIK3C3, PIK3R4, POM121, POM121C, PTPN11, PTPN6, RAE1, RANBP2, RIPK2, RNF135, RPS27A, SAR1B, SEC13, SEC23A, SEC24A, SEC24B, SEC24C, SEC24D, SEH1L, SFTPD, SIKE1, STAT1, STAT2, STING1, TAB1, TAB2, TAB3, TBK1, TKFC, TLR1, TLR2, TLR7, TLR8, TOMM70, TPR, TRAF3, TRAF6, TRIM25, TRIM4, TYK2, UBA52, UBB, UBC, UBE2N, UBE2V1*

**Fonte:** Gillespie et al. The reactome pathway knowledgebase. NAR.2022 Jan;50(d1):D687-D92. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1028>

#### 4.7 DETECÇÃO DE CNV ATRAVÉS DO SEQUENCIAMENTO DO EXOMA

As CNVs foram detectadas a partir da análise do exoma (CNVseq), considerando a *GATK Best Practices*, através do programa GATK HaplotypeCaller. As anotações funcionais das variantes com alta qualidade foram realizadas com auxílio do programa AnnotSV (<https://lbgf.fr/AnnotSV/>) versão 3.1. No presente estudo, foram filtradas variantes em 445 genes humanos implicados em erros inatos de imunidade ou descritos<sup>62</sup> relacionados à infecção pelo SARS-CoV2.

Inicialmente, selecionaram-se as CNVs classificadas como Patogênicas ou Provavelmente patogênicas, a partir da análise realizada utilizando-se o programa AnnotSV (<https://lbgf.fr/AnnotSV/>) versão 3.1. Posteriormente, essas CNVs foram reavaliadas de acordo com os critérios do American College of Medical Genetics and Genomics<sup>62</sup>, utilizando os bancos de dados: DGV - Database of Genomic Variants; Decipher (<https://decipher.sanger.ac.uk>); OMIM- Online Mendelian Inheritance in Man (<https://www.omim.org>) e NCBI – Genome (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>).

## 5 RESULTADOS

Conforme descrito na Tabela 1, a mediana de idade dos 21 sujeitos de estudo foi de 8 anos (IQR, 5-12); destes, 62% (n=13) eram do sexo masculino. Os pais/responsáveis declararam cor/raça parda para 67% (n=14) dos pacientes. A infecção pelo SARS-CoV-2 foi confirmada para todos os indivíduos, tendo 81% (17) testados positivos por sorologia e 19% (4) positivo por RT-PCR. A mediana de tempo decorrido do início dos sintomas até a internação foi de 6 dias (IQR, 4-10). Os sintomas e manifestações clínicas observados em mais da metade dos pacientes foram dor abdominal, dispneia, exantema, vômitos e conjuntivite não purulenta bilateral.

**Tabela 1** - Características dos indivíduos com SIM-P associadas à COVID-19

Pacientes, <i>N</i>	21
Sexo masculino, <i>n</i> (%)	13 (62)
Idade (anos), mediana (IQR)	8 (5-12)
Cor/raça declarada, <i>n</i> (%)*	
Preta	3 (14)
Branca	1 (5)
Parda	14 (67)
Não declarada	3 (14)
Diagnóstico positivo para SARS-CoV-2, <i>n</i> (%)	
RT-PCR	4 (19)
Sorologia	17 (81)
Tempo do início dos sintomas até a internação (dias), mediana (IQR)	6 (4-10)
Febre (> 38° C) até a hospitalização (dias), mediana (IQR)	7 (5-9)
Sintomas na admissão hospitalar, <i>n</i> (%)	
Febre > 38° C	21 (100)
Odynofagia	4 (19)
Tosse	4 (19)
Dispneia	12 (57)
Astenia/Adinamia	5 (24)
Dor de cabeça	8 (38)
Queilite	6 (29)
Rash	12 (57)
Conjuntivite não purulenta bilateral	11 (52)
Linfadenopatia cervical	4 (19)
Saturação de O <sub>2</sub> < 95%	6 (29)
Taquicardia	9 (43)
Dor abdominal	16 (76)
Diarréia	8 (38)
Vômito	11 (52)

IQR: Intervalo Interquartil (primeiro-terceiro quartis).

\*Classificação de cor/raça de acordo com as categorias do Instituto de Geografia e Estatística (IBGE, Brasil).

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Os resultados dos exames laboratoriais no momento da admissão são apresentados na Tabela 2. As medianas de contagem de leucócitos (16.120 células/mm<sup>3</sup>) e neutrófilos (11.126 células/mm<sup>3</sup>) estão acima dos valores de referência (VR). A concentração mediana de D-dímero foi de 4,9 ng/dL (VR < 500ng/dL). Além disso, foram observadas elevações significativas de marcadores de inflamação, com proteína C reativa (PCR), apresentando mediana de 101 mg/L (VR < 5mg/L) e ferritina 475 ng/mL (VR 7 a 140ng/mL). A concentração de albumina apresentou mediana de 2,55 g/dL (VR: 2,9 a 4,7mg/dL). A mediana das aminotransferases, assim como creatinina e CPK encontravam-se dentro dos valores normais. A lactato desidrogenase (LDH) apresentou mediana de 371 U/L (R 320 a 730 U/L) e o marcador do estado cardíaco, troponina, apresentou mediana de 1,64 ng/mL (VR > 1 ng/mL).

**Tabela 2-** Achados laboratoriais em indivíduos hospitalizados com SIM-P

	<b>Mediana (IQR)</b>
Contagem total de leucócitos (células/mm <sup>3</sup> )	16,120 (13,135-20,662)
Neutrófilos (células/mm <sup>3</sup> )	11,126 (9,475-15,382)
Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )	3,591 (1,434-5,127)
D-dímero (mg/L)	4.9 (3.7-7.8)
Albumina (g/dL)	2.55 (2.2-3.6)
AST (U/L)	25 (17-46)
ALT (U/L)	32.6 (16-68)
Creatinina (mg/dL)	0.55 (0.45-0.98)
CPK (U/L)	57 (29-112)
LDH (U/L)	371 (244-604)
Ferritina (ng/mL)	475 (245-975)
PCR (mg/L)	101 (25-187)
Troponina (ng/mL)	1.64 (1.3-9.5)

N = 21; Apenas os parâmetros disponíveis para mais de 50% dos indivíduos incluídos no estudo são representados.

IQR: Intervalo Interquartil (primeiro-terceiro quartis); AST: Aspartato Aminotransferase; ALT: Alanina Aminotransferase; CPK: Creatina Fosfoquinase; LDH: Lactato Desidrogenase; PCR: Proteína C-Reactive.

**Fonte:** Dados da pesquisa

Como evidenciado na Tabela 3, todos os pacientes receberam alta hospitalar, com mediana de tempo de internação de 9,5 dias (IQR, 8-12). Quase todos eles (n=18; 86%) foram admitidos na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), permanecendo por cinco dias em mediana (IQR, 3-6). Pneumonia foi diagnosticada em 24% (n=5) dos pacientes e 14% (n=3)

desenvolveram Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (ARSD). Por meio de tomografia computadorizada, foi observado que 10% (n=2) dos pacientes apresentavam derrame pleural e 19% (n=4), opacidade pulmonar em vidro fosco. Sepses (48%; n=10) e choque (38%; n=8) foram as complicações mais frequentes. Nas complicações relacionadas ao coração, 1 paciente apresentou infarto/insuficiência do miocárdio, 6 (29%) tiveram derrame pericárdico e 4 (19%) apresentaram cardiomegalia. A insuficiência renal foi observada em 4 (19%) pacientes. Quatro (19%) pacientes necessitaram de suporte de ventilação mecânica, 3 (14%) necessitaram de transfusão sanguínea, 1 paciente foi submetido à diálise/hemodiálise e 8 (38%) foram tratados com medicações vasopressoras. Corticosteroides e imunoglobulina intravenosa foram usados em 16 (76%) e 18 (86%) pacientes, respectivamente.

**Tabela 3** – Complicações e tratamento durante a hospitalização

	<b>Mediana (IQR)</b>
Tempo total de permanência no hospital	9.5 (8-12)
Tempo de permanência na UTI *	5 (3-6)
<b>Complicações</b>	<b>n (%)</b>
Pneumonia	5 (24)
SDRA	3 (14)
Derrame pleural	2 (10)
Opacidade pulmonar em vidro fosco	4 (19)
Sepses	10 (48)
Choque	8 (38)
Infarto do miocárdio	1 (5)
Derrame pericárdico	6 (29)
Cardiomegalia	4 (19)
Insuficiência renal	4 (19)
<b>Intervenções médicas</b>	
Ventilação mecânica	4 (19)
Transfusão sanguínea	3 (14)
Diálise/Hemodiálise	1 (5)
Medicamentos vasopressores	8 (38)
Corticosteróides	16 (76)
Imunoglobulina intravenosa	18 (86)

N = 21.

Intervalo interquartil (IQR):primeiro-terceiro quartis; UTI: Unidade de Terapia Intensiva; SRAG: Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo.

\* Dezoito pacientes foram internados na UTI.

**Fonte:** Dados da pesquisa.



Na amostra avaliada, identificaram-se 155 CNVs para os 445 genes avaliados. Desses, 43 foram classificadas como provavelmente patogênicas (PP, classe 4 N=36) ou patogênicas (P, classe 5 N=7), de acordo com o AnnotSV (versão 3.1). As demais CNVs encontradas eram provavelmente benignas, benignas ou de significado incerto e foram excluídas.

Essas CNVs P ou PP estão descritas nas Tabelas 4, 5 e 6. CNVs foram encontradas em 18 dos 21 pacientes, sendo que 7 deles apresentaram pelo menos 1 CNV patogênica e os demais, somente CNVs provavelmente patogênicas, a maioria em estado heterozigótico em genes associados a doenças autossômicas recessivas. Apenas uma CNV foi do tipo duplicação, as demais foram deleções.

**Tabela 4** – Genes que apresentaram CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas na amostra avaliada.

Gene	chrom	SV_start	SV_end	SV type	Copy number	ACMG_class
ATM	11	108272443	108272622	DEL	1	4
BLM	15	90782820	90782930	DEL	0	4
CFHR3	1	196779797	196828246	DEL	1	5
CFHR3	1	196774887	196831999	DEL	0	5
CFHR4	1	196779162	196918487	DEL	1	5
CFTR	7	117594840	117595123	DEL	1	5
CSF2RA	X	1282682	1282801	DEL	1	4
CSF3R	1	36469156	36469257	DEL	1	4
DOCK2	5	170027769	170028020	DEL	1	4
DOCK2	5	170036263	170036765	DEL	1	4
DOCK8	9	370230	370300	DEL	0	4
DOCK8	9	370230	370300	DEL	0	4
DOCK8	9	370230	370300	DEL	1	4
DOCK8	9	370205	370324	DEL	0	4
FANCA	16	89740804	89740866	DEL	1	4
FANCA	16	89815778	89835345	DEL	1	5
FANCI	15	89260631	89261961	DEL	1	4
FCGR3A	1	161544701	161549110	DEL	1	4
FERMT1	20	6107434	6107718	DEL	1	4
ICOS	2	203959586	203959599	DEL	1	4
ICOS	2	203959586	203959599	DEL	0	4
ICOS	2	203959533	203959652	DEL	1	4
IFIH1	2	162272226	162272387	DEL	1	4
IFNGR1	6	137215218	137215400	DEL	0	4
IFNGR1	6	137215218	137215400	DEL	1	4
IKBKKG	X	154558532	154560638	DEL	1	4
IKBKKG	X	154556165	154562953	DEL	1	4
IL1RN	2	113129488	113129748	DEL	1	4
IL6ST	5	55952250	55952351	DEL	1	4
LRBA	4	150798081	150798142	DEL	1	4
NBAS	2	15415546	15415719	DEL	1	4
NBAS	2	15467664	15467884	DEL	1	4
NBAS	2	15467664	15467884	DEL	1	4
NCF1	7	74756820	74789313	DUP	3	5
PRKDC	8	47776739	47776983	DEL	1	4
PTEN	10	87893906	87894204	DEL	1	5
SP110	2	230212347	230212430	DEL	1	4
SPINK5	5	148106951	148107250	DEL	1	4
SPINK5	5	148101336	148101455	DEL	1	4
SRP54	14	35014744	35019156	DEL	1	4

SRP72	4	56495357	56495394	DEL	0	4
TNFRSF11A	18	62359878	62360061	DEL	1	4
TNFRSF1A	12	6330267	6330295	DEL	1	4

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Legenda: 4- Provavelmente patogênica / 5- Patogênica

**Tabela 5** – Pacientes que apresentaram CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas identificadas na amostra avaliada

Paciente	Gene	SV_chrom	SV_start	SV_end	Tipo	NR CÓPIAS	ACMG_class
1	IFNGR1		6 137215218	137215400	DEL	1	4
1	SP110		2 230212347	230212430	DEL	1	4
2	CFHR3		1 196779797	196828246	DEL	1	5
2	CSF3R		1 36469156	36469257	DEL	1	4
3	DOCK8		9 370205	370324	DEL	0	4
3	ICOS		2 203959533	203959652	DEL	1	4
3	PRKDC		8 47776739	47776983	DEL	1	4
4	IKBKG	X		154558532 154560638	DEL	1	4
5	ATM		11 108272443	108272622	DEL	1	4
6	CSF2RA	X		1282682 1282801	DEL	1	4
7	FERMT1		20 6107434	6107718	DEL	1	4
7	IL1RN		2 113129488	113129748	DEL	1	4
8	CFHR4		1 196779162	196918487	DEL	1	5
8	DOCK2		5 170027769	170028020	DEL	1	4
8	IFNGR1		6 137215218	137215400	DEL	0	4
9	DOCK8		9 370230	370300	DEL	0	4
9	FANCA		16 89740804	89740866	DEL	1	4
9	NBAS		2 15415546	15415719	DEL	1	4
9	PTEN		10 87893906	87894204	DEL	1	5
10	ICOS		2 203959586	203959599	DEL	1	4
10	NBAS		2 15467664	15467884	DEL	1	4
10	SPINK5		5 148106951	148107250	DEL	1	4
11	FANCI		15 89260631	89261961	DEL	1	4
11	NCF1		7 74756820	74789313	DUP	3	5
12	BLM		15 90782820	90782930	DEL	0	4
12	CFTR		7 117594840	117595123	DEL	1	5
12	DOCK8		9 370230	370300	DEL	0	4
12	LRBA		4 150798081	150798142	DEL	1	4
12	NBAS		2 15467664	15467884	DEL	1	4
13	ICOS		2 203959586	203959599	DEL	0	4
13	SRP54		14 35014744	35019156	DEL	1	4
14	SPINK5		5 148101336	148101455	DEL	1	4
15	CFHR3		1 196774887	196831999	DEL	0	5
15	DOCK8		9 370230	370300	DEL	1	4
15	FCGR3A		1 161544701	161549110	DEL	1	4
15	SRP72		4 56495357	56495394	DEL	0	4
15	TNFRSF1A		12 6330267	6330295	DEL	1	4
16	IKBKG	X		154556165 154562953	DEL	1	4
16	IL6ST		5 55952250	55952351	DEL	1	4
17	DOCK2		5 170036263	170036765	DEL	1	4
17	IFIH1		2 162272226	162272387	DEL	1	4
17	TNFRSF11A		18 62359878	62360061	DEL	1	4
18	FANCA		16 89815778	89835345	DEL	1	5

Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 6 - Dados das variantes de acordo com o AnnotSV

Gene	ID	chrom	SV_start	SV_end	SV_length	SV_type	nr copy	Frameshift	Location	loss	Afmax	HI	ExAC_delZ	ExAC_cnvZ	GnomAD_pLI	ExAC_pLI
ATM	NM_000051	11	108272443	108272622	-179	DEL	1	yes	intron20-intron21			3	-0,53889219	-0,720955063	5,5884E-47	2,711E-30
BLM	NM_000057	15	90782820	90782930	-110	DEL	0	yes	intron12-intron13			30	0,138304039	0,910034961	1,5376E-15	4,139E-11
CFHR3	NM_021023	1	196779797	196828246	-4849	DEL	1	yes	exon3-txEnd	0,4486					1,72E-11	1,219E-05
CFHR3	NM_021023	1	196774887	196831999	-57112	DEL	0	yes	exon1-txEnd	0,4486					1,72E-11	1,219E-05
CFHR4	NM_001201550	1	196779162	196918487	-139325	DEL	1	no	txStart-exon10	0,329					2,384E-18	1,898E-13
CFTR	NM_000492	7	117594840	117595123	-283	DEL	1	no	intron14-intron15			30	-2,62354415	-1,552173683	2,1735E-58	2,964E-36
CSF2RA	NM_001161531	X	1282682	1282801	-119	DEL	1	yes	exon3-intron3			30			2,3956E-10	0,0018666
CSF3R	NM_000760	1	36469156	36469257	-101	DEL	1	yes	intron11-exon12				-0,06431686	0,346601676	1,5225E-10	1,416E-06
DOCK2	NM_004946	5	170027769	170028020	-251	DEL	1	yes	intron33-intron34				1,436949288	1,321558359	0,99969	1
DOCK2	NM_004946	5	170036263	170036765	-502	DEL	1	yes	intron35-intron36				1,436949288	1,321558359	0,99969	1
DOCK8	NM_203447	9	370230	370300	-70	DEL	0	yes	exon16-intron16			30			1,487E-11	0,0001354
DOCK8	NM_203447	9	370230	370300	-70	DEL	0	yes	exon16-intron16			30			1,487E-11	0,0001354
DOCK8	NM_203447	9	370230	370300	-70	DEL	1	yes	exon16-intron16			30			1,487E-11	0,0001354
DOCK8	NM_203447	9	370205	370324	-119	DEL	0	yes	intron15-intron16					19776401		
FANCA	NM_000135	16	89740804	89740866	-62	DEL	1	yes	intron37-exon38			30	-2,62354415	-2,471627899	1,5943E-68	2,08E-34
FANCA	NM_000135	16	89815778	89835345	-19567	DEL	1	no	txStart-intron2			30	-2,62354415	-2,471627899	1,5943E-68	2,081E-34
FANCI	NM_001113378	15	89260631	89261961	-1330	DEL	1	yes	intron31-intron6			30	-1,32601272	-0,099949426	8,9116E-37	5,165E-19
FCGR3A	NM_000569	1	161544701	161549110	-4409	DEL	1	yes	intron1-exon4	0,0769					3,6955E-06	1,223E-05
FERMT1	NM_017671	20	6107434	6107718	-284	DEL	1	yes	intron5-intron6				1,05999856	0,907343023	2,9163E-11	7,569E-07
ICOS	NM_012092	2	203959586	203959599	-13	DEL	1	yes	exon5-exon5				0,779082002	1,203979239	0,031284	0,052009
ICOS	NM_012092	2	203959586	203959599	-13	DEL	0	yes	exon5-exon5				0,779082002	1,203979239	0,031284	0,052009
ICOS	NM_012092	2	203959533	203959652	-119	DEL	1	yes	intron4-exon5							
IFIH1	NM_022168	2	162272226	162272387	-161	DEL	1	yes	intron12-exon13				-1,09774557	-0,153171187	6,9819E-44	6,002E-26
IFNGR1	NM_001363526	6	137215218	137215400	-182	DEL	0	yes	intron1-intron2				0,043255661	0,186318742	0,015503	0,32797
IFNGR1	NM_001363526	6	137215218	137215400	-182	DEL	1	yes	intron1-intron2				0,043255661	0,186318742	0,015503	0,32797
IKBK	NM_001377312	X	154558532	154560638	-2106	DEL	1	yes	exon4-intron5			3			0,084853	0,62861
IKBK	NM_001377312	X	154556165	154562953	-6788	DEL	1	yes	exon3-intron7			3			0,084853	0,62861
IL1RN	NM_000577	2	113129488	113129748	-260	DEL	1	yes	intron2-intron3				0,953087688	1,071561343	0,030914	0,34022
IL6ST	NM_001190981	5	55952250	55952351	-101	DEL	1	yes	intron10-exon11				1,026780073	1,138966144	0,99978	0,99784
LRBA	NM_001364905	4	150798081	150798142	-61	DEL	1	yes	intron33-exon34			30	-0,60527854	-1,759058648	7,1503E-12	0,044229
NBAS	NM_015909	2	15415546	15415719	-173	DEL	1	yes	intron24-exon25			30	-2,62354415	-2,471627899	5,0234E-43	1,894E-25
NBAS	NM_015909	2	15467664	15467884	-220	DEL	1	yes	intron17-exon18			30	-2,62354415	-2,471627899	5,0234E-43	1,894E-25
NBAS	NM_015909	2	15467664	15467884	-220	DEL	1	yes	intron17-exon18			30	-2,62354415	-2,471627899	5,0234E-43	1,894E-25
NCF1	NM_000265	7	74756820	74789313	32493	DUP	3	no	txStart-exon11			30			0,000028311	0,92336
PRKDC	NM_001081640	8	47776739	47776983	-244	DEL	1	yes	intron83-intron84							
PTEN	NM_000314	10	87893906	87894204	-298	DEL	1	yes	intron1-intron2			3	0,931982522	1,340603358	0,25651	0,97551
SP110	NM_001378443	2	230212347	230212430	-83	DEL	1	yes	intron4-exon5				-0,41585503	-0,273496886	1,4595E-14	3,164E-09
SPINK5	NM_001127699	5	148106951	148107250	-299	DEL	1	yes	intron16-intron17			30	-2,62354415	-1,511786645	4,846E-28	2,117E-17
SPINK5	NM_001127699	5	148101336	148101455	-119	DEL	1	yes	intron13-intron14			30	-2,62354415	-1,511786645	4,846E-28	2,117E-17
SRP54	NM_001146282	14	35014744	35019156	-4412	DEL	1	yes	exon10-intron12				1,034881436	-0,412776868	0,99895	0,99669
SRP72	NM_001267722	4	56495357	56495394	-37	DEL	0	yes	exon15-intron15				0,451725621	0,193058493	0,0017104	0,014188
TNFRSF1	NM_001270949	18	62359878	62360061	-183	DEL	1	yes	intron5-intron6				0,452085652	0,82989754	0,0087667	0,87992
TNFRSF1	NM_001065	12	6330267	6330295	-28	DEL	1	yes	intron7-exon8				0,424397258	0,067260745	0,9949	0,98548

Fonte: Dados da pesquisa

**Quadro 4** – Genes que apresentaram CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas e fenótipos associados de acordo com o OMIM

<b>Gene</b>	<b>Fenótipo descrito no OMIM</b>
<b>ATM</b>	Ataxia-telangiectasia (208900) AR; Lymphoma, B-cell non-Hodgkin, somatic; Lymphoma, mantle cell, somatic; T-cell prolymphocytic leukemia, somatic; Breast cancer, susceptibility to (114480) Somatic mutation, AD
<b>BLM</b>	Bloom syndrome (210900) AR
<b>CFHR3</b>	Hemolytic uremic syndrome, atypical, susceptibility to (235400) AR/AD; Macular degeneration, age-related, reduced risk of (603075) AD
<b>CFHR4</b>	Hemolytic uremic syndrome, atypical, susceptibility to (235400) AR/AD; Macular degeneration, age-related, reduced risk of (603075) AD
<b>CFTR</b>	Cystic fibrosis (219700) AR; Sweat chloride elevation without CF; Bronchiectasis with or without elevated sweat chloride 1, modifier of (211400) AD; Hypertrypsinemia, neonatal; Pancreatitis, hereditary (167800) AD
<b>CSF2RA</b>	Surfactant metabolism dysfunction, pulmonary, 4 (300770)
<b>CSF3R</b>	Neutrophilia hereditary (162830) AD, Neutropenia, severe congenital 7 (617014) AR
<b>DOCK2</b>	Immunodeficiency 40 (616433) AR
<b>DOCK8</b>	Hyper-IgE recurrent infection syndrome (243700) AR
<b>FANCA</b>	Fanconi anemia, complementation group A (227650) AR
<b>FANCI</b>	Fanconi anemia, complementation group I (609053) AR
<b>FCGR3A</b>	Immunodeficiency 20 (615707) AR
<b>FERMT1</b>	Kindler syndrome (173650) AR
<b>ICOS</b>	Immunodeficiency, common variable (607594) AR
<b>IFIH1</b>	Aicardi-Goutieres syndrome 7 (615846) AD; Singleton-Merten syndrome 1 (182250) AD Immunodeficiency 95 (619773) AR
<b>IFNGR1</b>	Immunodeficiency 27A, mycobacteriosis (209950) AR; Immunodeficiency 27B, mycobacteriosis, (615978) AD; H. pylori infection, susceptibility to (600263); Hepatitis B virus infection, susceptibility to (610424); Tuberculosis infection, protection against (607948) Tuberculosis, susceptibility to (607948)
<b>IKBKG</b>	Autoinflammatory disease, systemic, X-linked (301081) XL; Ectodermal dysplasia and immunodeficiency 1 (300291) XLR; Immunodeficiency 33 (300636) XLR; Incontinentia pigmenti (308300) XLD
<b>IL1RN</b>	Interleukin 1 receptor antagonist deficiency (612852) AR; Gastric cancer risk after H. pylori infection (613659); Microvascular complications of diabetes (612628)
<b>IL6ST</b>	Hyper-IgE recurrent infection syndrome 4 (618523) AR
<b>LRBA</b>	Immunodeficiency, common variable, 8, with autoimmunity, 614700 (AR)
<b>NBAS</b>	Infantile liver failure syndrome 2 (616483) AR; Short stature, optic nerve atrophy, and Pelger-Huet anomaly (614800) AR
<b>NCF1</b>	Chronic granulomatous disease 1 (233700) AR
<b>PRKDC</b>	Immunodeficiency 26, with or without neurologic abnormalities (615966) AR
<b>PTEN</b>	Cowden syndrome 1 (158350) AD; Lhermitte-Duclos syndrome (158350) AD; Macrocephaly/autism syndrome (605309) AD; Prostate cancer, somatic (176807); Glioma susceptibility 2 (613028); Meningioma (607174) AD
<b>SP110</b>	Hepatic veno occlusive disease with immunodeficiency (235550) AR; Mycobacterium tuberculosis, susceptibility to (607948)
<b>SPINK5</b>	Netherton syndrome (256500) AR
<b>SRP54</b>	Neutropenia, severe congenital, 8 (618752) AD
<b>SRP72</b>	Bone marrow failure syndrome 1 (614675) AD
<b>TNFRSF11A</b>	Osteolysis, familial expansile (174810) AD; Osteopetrosi, 7 (612301) AR; Paget disease of bone 2, early-onset, (602080) AD
<b>TNFRSF1A</b>	Periodic fever, familial (142680) AD; Multiple sclerosis, susceptibility to, 5 (614810)

Fonte: Dados da pesquisa

## 6 DISCUSSÃO

Na amostra deste estudo, observa-se o predomínio do sexo masculino e da raça parda na SIM-P, o que se assemelha aos dados encontrados na literatura.<sup>8,10,27,38</sup> Uma revisão sistemática da literatura, em que foram analisados 39 estudos, descreve o predomínio do sexo masculino na população de 662 crianças, tempo médio de internação foi de  $7,9 \pm 0,6$  dias e a raça/etnia afro-americana, afro-caribenha e africana teve maior predomínio nos estudos avaliados.<sup>4</sup> Estudos apontam a relação entre susceptibilidade genética, manifestações clínicas e gravidade da SIM-P,<sup>44,46</sup> mesmo que em números de estudo reduzidos, se comparado às publicações sobre o cenário genético na COVID-19.

Quanto aos achados laboratoriais, neste estudo, observam-se níveis elevados em parâmetros como PCR, leucograma, D-dímero e troponina. Uma revisão sistemática e meta-análise que envolveram 20 estudos, totalizando 1.810 pacientes pediátricos (<21 anos), apontam presença de leucopenia, linfopenia e ferretina elevada, que são marcadores importantes de inflamação na SIM-P. As características radiológicas mais comuns foram opacidades em vidro fosco em 36% dos casos, seguidas de consolidação em 33% dos casos<sup>8</sup>. Em comparação aos achados laboratoriais deste trabalho, evidencia-se que 19% dos indivíduos necessitaram de ventilação mecânica, tendo como principais acometimentos sepse (48%), choque (38%), derrame de pericárdio (29%) e pneumonia (24%). Todos os pacientes apresentavam marcadores inflamatórios elevados e mais de 75% apresentaram marcadores de disfunção cardíaca elevados, evidenciando, assim, o fenótipo inflamatório multissistêmico e potencial de gravidade da SIM-P.

CNVs foram encontradas em 18 dos 21 pacientes, sendo que 7 apresentaram pelo menos 1 CNV patogênica e os demais somente CNVs provavelmente patogênicas, a maioria em estado heterozigótico, em genes associados a doenças autossômicas recessivas. Apenas uma CNV foi do tipo duplicação, as demais foram deleções. As CNVs patogênicas estavam presentes nos genes: *CFHR3*, *CFHR4*, *CFTR*, *FANCA*, *PTEN* e *NCF1*, dos quais o *FANCA* e o *NCF1* associados a doenças autossômica recessiva (AR).

Dois pacientes (2 e 15) apresentaram CNVs no gene *CFHR3* e um paciente (8 anos) apresentou CNV no gene *CFHR4*. Pesquisadores determinaram por cromatografia de afinidade

que o CFHR3 é sérico, mas não o CFHR4, que se liga à heparina<sup>67</sup>; e as análises de Biacore realizadas por ressonância plasmônica de superfície e de opsonização mostraram que ambas as proteínas do complemento se ligam a C3b e C3d, mas não a C3c.<sup>63,64</sup> Por análise híbrida de radiação, autores determinaram que o gene *CFHR3* está intimamente ligado ao gene *CFH* no cromossomo 1q31-q32.1<sup>63</sup>. As proteínas CFHR3 e o CFHR4 aumentam a atividade do cofator do fator H na inativação de C3b. O Sistema Complemento é parte da resposta imune inata e é de grande importância para a eliminação de processos infecciosos e garantia da homeostase.<sup>65</sup> O mesmo estudo destaca que a deficiência da proteína C3 causa falha na resposta imunológica, tendo como resultado a diminuição da proliferação celular de monócitos, neutrófilos e linfócitos B e T. Essa falha da proliferação celular diminui respostas inflamatórias, causando falha na eliminação bacteriana dos principais órgãos-alvo, nos primeiros dias de infecção. Essa falha demonstrou ter consequências em fases mais tardias na síndrome hemolítico-urêmica (SHU), principalmente no rim, sendo identificada nefrite intersticial apenas nos camundongos deficientes de C3.<sup>65,66</sup>

Sobre a clínica dos dois pacientes com a variante no gene *CFHR3*, o paciente 2, 15 anos de idade, sexo masculino, cor parda, sem consanguinidade, início da febre três dias antes da internação, apresentou dispneia com necessidade de oxigenação por Ventilação Mecânica Não-Invasiva (VMNI) do tipo máscara de O<sub>2</sub> a 28%, mal-estar, dor abdominal, vômito, taquicardia, diagnóstico médico inicial de choque séptico de foco urinário, mas só posteriormente foi diagnosticado com SIM-P, insuficiência renal e pneumonia. Dos 12 dias de internação, quatro deles foram na UTI. Sem necessidade de corticosteroides, porém, fez uso de imunoglobulina intravenosa. Esse paciente também apresentou uma CNV PP no gene *CSF3R*. O paciente 15, 4 anos de idade, sexo masculino, apresentou febre por nove dias antes da internação, ausência de dispneia, mas com necessidade de oxigênio via cateter nasal (sem dados sobre o fluxo de oxigênio), dor abdominal, hipoatividade, Rash cutâneo, hipotensão, sepse e choque com necessidade de internação em UTI por 5 dos 9 dias de internação. Corticosteroides e imunoglobulina intravenosa foram administrados. Esse paciente também apresentou CNVs PP nos genes *DOCK8*, *FCGR3A*, *SRP72* (2 cópias), *TNFRSF1A*.

O paciente 8, com a variante no gene *CFHR4*, sexo feminino, 8 anos de idade, início do quadro febril 6 dias antes da internação, apresentou dor abdominal, diarreia, vômito, conjuntivite não-purulenta bilateral e edema das mãos e pés, sem insuficiência renal. Tempo de internação de 5 dias, sendo desses 3 na UTI. Sem necessidade de VM ou drogas vasoativas,



diferentes dos outros dois pacientes anteriormente analisados. Utilizaram-se corticosteroides, imunoglobulina intravenosa. Esse paciente também apresentou CNVs PP nos genes *DOCK2* e *IFNGR1*.

Os produtos dos genes *CFHR3* e *CFHR4* têm relação com o sistema inato da imunidade e a cascata do complemento, tendo, portanto, participação no processo inflamatório e consequentemente no controle da infecção.<sup>64,65</sup> Trabalhos mostram a relação do gene *CFHR3* com a Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU).<sup>66,67,71,72,73,74</sup> Em crianças, as mutações heterozigóticas mais frequentes são as dos genes *CFH*, *CFI* e *MCPE*.<sup>66</sup> Em quase 60% de pacientes com SHU, mutações em seis genes foram associadas ao aumento da suscetibilidade para SHU - fator H do complemento (FHC), fator B do complemento, fator I do complemento, proteína cofator de membrana (PCM), C3 e trombosmodulina.<sup>71,72,73</sup>

As mutações heterozigóticas em C3 foram descritas pela primeira vez em 2008, em 13 pacientes de 11 famílias.<sup>70</sup> A maioria das mutações C3 induz à falha na capacidade do C3 de se ligar à proteína reguladora PCM e causam ganho direto de função, que condicionam aumento da capacidade do CFB se ligar ao C3 e à formação de C3 convertase.<sup>68,73</sup> Vale ressaltar que o paciente 2 cursou com insuficiência renal, o que pode ter relação com a CNV patogênica no gene *CFHR3*, mas o tamanho da amostra deste estudo limita inferir se há associações entre SIM-P e SHU.

Tanto a COVID-19, quanto o SHU, requerem a ligação a um receptor de membrana, ACE-2 e Gb3, respectivamente, para desencadear o mecanismo fisiopatológico.<sup>74</sup> Em formas mais graves, a SHU pode desencadear complicações extra-renais como a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), megacólon tóxico acompanhado de íleo paralítico, pancreatite, distúrbios do sistema nervoso central e síndrome de disfunção de múltiplos órgãos (SDMO).<sup>75,76</sup>

O paciente 12 apresentou uma variante no gene *CFTR* em heterozigose classificada como patogênica. Quanto à clínica desse paciente, a tosse seca e o infiltrado em bases de pulmões foram evidenciados, contudo, em prontuário do paciente não foram registradas informações sobre a gravidade do padrão respiratório, como tipo de dispositivos utilizados, principalmente a ventilação mecânica invasiva ou não invasiva, o que dificulta discussão aprofundada acerca das manifestações clínicas respiratórias. O Gene *CFTR* codifica o transportador de ligação ao ATP (ABC), que funciona como um canal seletivo de cloreto de baixa condutância controlado por ciclos de ligação e hidrólise de ATP em seus domínios de

ligação a nucleotídeos e regulado pelo sistema de domínio regulador, gene este associado à fibrose cística.<sup>77</sup> Estudo publicado em abril deste ano evidenciou que a modulação do *CFTR* reduz a infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais brônquicas humanas.<sup>78</sup> Acreditava-se que pessoas com fibrose cística teriam maior risco de desenvolver sintomas graves de COVID-19, todavia, o mesmo estudo menciona uma gama de evidências que mostram a disseminação reduzida de SARS-CoV-2 nesses indivíduos, sugerindo um papel potencial do *CFTR* na regulação da infecção/replicação do SARS-CoV-2.<sup>77,78,79</sup> No paciente desta amostra (12) a CNV estava em heterozigose, ou seja, o paciente não apresenta fibrose cística, porém pacientes heterozigotos podem apresentar bronquiectasia AD (OMIM:211400). Esse paciente também apresentou CNVs PP nos genes *BLM* (0 cópias), *DOCK8* (0 cópias), *LRBA* em heterozigose NBAS. Esses dois últimos estão associados a fenótipos AR.

Dois pacientes (18 e 9) apresentaram CNVs patogênicas e provavelmente patogênicas, respectivamente, em heterozigose, envolvendo o gene *FANCA*. Variantes patogênicas no gene *FANCA* são a causa mais comum da Anemia de Fanconi (AF - OMIM 227650),<sup>80,81</sup> também conhecida como síndrome da pancitopenia de Fanconi, doença recessiva geneticamente heterogênea, rara, caracterizada por instabilidade citogenética, hipersensibilidade a agentes de reticulação do DNA, aumento da quebra cromossômica e reparo defeituoso do DNA<sup>82,83,84,85</sup>. Essa condição é encontrada em todos os grupos étnicos e observada em cerca de 1 a cada 360 mil nascimentos.<sup>86</sup> Ela é causada por mutação homozigótica ou heterozigótica composta no gene *FANCA* no cromossomo 16q24.<sup>83,86,87</sup>

O paciente 18, 1 ano de idade, sexo feminino, não apresentou histórico familiar de imunodeficiências primárias ou outras doenças genéticas. Os dados clínicos mostraram sintomas como dor abdominal e vômito, sem registro de diarreia. Esse paciente também apresentou Rash cutânea e rebaixamento do sistema nervoso central, derrame de pericárdio, tempo de internação de 12 dias, sendo 5 deles em UTI. Fez uso de antibiótico (ceftriaxona), corticosteroides, imunoglobulina intravenosa e droga vasopressora. Nota-se, diante das buscas realizadas na literatura, escassez de estudos de correlação genótipo-fenótipo do gene *FANCA* com SIM-P. No entanto, pelo processo imunopatogênico evidenciado nos estudos aqui analisados, acredita-se que pode haver participação deste gene no controle de mecanismos de reparo do DNA envolvidos nas respostas imunológicas na SIM-P. O paciente não apresentou outra CNV PP/P.

Já o paciente 9, com 9 anos de idade, sexo feminino, além de Rash cutânea, apresentou hipotensão arterial, choque, sepse e necessidade de internamento em UTI por 4 dias. Não constavam dados em prontuário no que concerne às alterações cardiorrespiratórias e renais, o que limita discutir a gravidade das manifestações nessa criança; nela não houve derrame de pericárdio, nem achados de imagem sugestivos de anomalia cardíaca, tendo sido identificado uma CNV patogênica no gene *PTEN* em heterozigose, além de CNVs PP nos genes *DOCK8* (homozigose) e *NBAS* (heterozigose).

Estudo publicado em agosto de 2021<sup>88</sup> teve como objetivo analisar, por meio do sequenciamento de RNA de secreção traqueal, coletada em 52 pacientes adultos com síndrome do desconforto respiratório agudo secundário ao Covid-19. Esses autores descrevem que o Covid-19 se caracteriza por respostas desreguladas do hospedeiro, com aumento da sinalização *PTEN* e expressão elevada de genes com papéis não canônicos na inflamação e na imunidade. Eles evidenciaram que o *PTEN* tem forte influência na resposta inflamatória e os dados sugerem que na SDRA secundária à Covid-19 há aumento da expressão gênica estimulada por *PTEN*, interferon- $\gamma$  e *CNTF* justaposta à inibição de genes tipicamente ativados por IL-10. O *PTEN* promove inflamação em modelos de lesão pulmonar aguda.<sup>89,90</sup> Variantes patogênicas em *PTEN* estão associadas a vários fenótipos com padrão de herança AD, sendo um importante supressor de tumor que é mutado em grande número de cânceres.<sup>91</sup>

Estudos de associação genética (GWAS) descobriram a região intergênica *GTF2I-NCF1* como um *locus* de forte suscetibilidade para múltiplas doenças autoimunes, com a mutação missense *NCF1* rs201802880, como o polimorfismo causal.<sup>92,93</sup> O *locus GTF2I-NCF1* está significativamente associado à Síndrome de Sjögren primária, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose sistêmica e distúrbios do espectro da neuromielite óptica<sup>92</sup>. Ressalta-se que o paciente 11 apresentou uma variante, envolvendo um ganho de cópia do exon 11 do gene *NCF1*, o que representa uma mutação intragênica em heterozigose. Mutações em homozigose no gene *NCF1* estão associadas a doença granulomatosa crônica autossômica recessiva, uma imunodeficiência primária da função fagocitária devido à NADPH oxidase defeituosa (phox).<sup>93,94</sup>

Quanto à clínica, o paciente 11 é do sexo feminino, 10 anos de idade, apresentou dispneia e desconforto respiratório, sem envolvimento mucocutâneo oral, dessaturação, acometimento gastrointestinal como diarreia, vômito e dor abdominal, coagulopatia, falência miocárdica, choque, sepse, pneumonia e necessidade ventilação mecânica assistida, tempo de

internação de 14 dias, sendo 9 deles na UTI, o que confere a esse caso marcadores de gravidade na SIM-P. Esse paciente não desenvolveu SDR e apresentava também uma CNVs PP no gene *FANCI* em heterozigose, associado à anemia de Fanconi AR (OMIM: 609053).

Variantes PP estavam presentes em 24 genes: *ATM*, 1 paciente (pac); *BLM* (1 pac); *CSF2RA* (1 pac); *CSF3R* (1 pac); *DOCK2* (2 pac); *DOCK8* (4 pac); *FANCI* (1 pac); *FCGR3A* (1 pac); *FERMT1* (1 pac); *ICOS* (3 pac); *IFIH1* (1 pac); *IFNGR1* (2 pac); *IKBKKG* (2 pac); *ILIRN* (1 pac); *IL6ST* (1 pac); *LRBA* (1 pac); *NBAS* (3 pac); *PRKDC* (1 pac); *SP110* (1 pac); *SPINK5* (2 pac); *SRP54* (1 pac); *SRP72* (1 pac); *TNFRSF1A* (1 pac); *TNFRSF11A* (01 pac).

A proteína codificada pelo gene *ATM* pertence à família PI3/PI4-quinase<sup>96</sup>. Essa proteína é uma importante quinase de ponto de verificação do ciclo celular que fosforila; assim, ele funciona como um regulador de uma ampla variedade de proteínas *downstream*, incluindo proteínas supressoras de tumor p53 e BRCA1, ponto de verificação quinase CHK2<sup>96</sup>. Acredita-se que essa proteína e a quinase ATR intimamente relacionadas sejam controladores mestres das vias de sinalização do ponto de verificação do ciclo celular que são necessárias para a resposta celular a danos no DNA e para a estabilidade do genoma.<sup>96</sup> No que concerne à CNV PP identificada no paciente 5, sexo masculino, cor parda, nota-se uma deleção *frameshift* em heterozigose. Cabe ressaltar que, dentre as manifestações clínicas nesse paciente, a conjuntivite não-purulenta bilateral e odinofagia (dor na garganta) foram um dos achados, sem acometimento respiratório, tempo de internação em UTI de 7 dias. Esse paciente não apresentou outras CNVs PP ou P.

Um estudo evidenciou o papel do *ATM* por meio da análise de expressão de mRNA de pacientes infectados com COVID-19 e com presença de conjuntivite.<sup>97</sup> O objetivo do referido estudo foi analisar a expressão de mRNA nas lágrimas de pacientes com COVID-19 em comparação com indivíduos saudáveis, usando sequenciamento de próxima geração (NGS). A avaliação funcional do transcriptoma destacou 25 genes que diferem estatisticamente entre indivíduos saudáveis e pacientes afetados pelo COVID-19. A análise NGS identificou a presença de vários genes envolvidos na sinalização e queratinização das células B. Os genes envolvidos na sinalização de células B foram regulados negativamente, dentre eles o gene *ATM*. Concluíram que o *ATM* reduz a infecção da córnea pelo vírus do herpes e, particularmente, a infecção epitelial e a doença estromal. *ATM* tem um papel importante na função das células T e B. Em particular, a perda de *ATM* nas células B causou a redução na frequência e no tamanho do centro germinativo, em resposta à imunização e apoptose das células B.<sup>98,99</sup>

Além disso, o gene *ATM* está envolvido no desenvolvimento de células T, célula crucial no processo de defesa da cascata inflamatória.<sup>29</sup> Estudos mostram desregulação imunológica na SIM-P, incluindo depleção e ativação de linfócitos T, desvio Vbeta do receptor de células T, frequências elevadas de plasmablastos, aumento de marcadores de patologia vascular e diminuição do número e perfis funcionais de células apresentadoras de antígenos.<sup>31,37,50</sup>

Variante no gene *BLM* foi identificado somente no paciente 12, sexo masculino, que apresentou uma deleção intragênica *frameshift* em homozigose. O gene *BLM* codifica uma helicase conhecida como proteína da Síndrome de Bloom (SB), envolvida na estabilidade do DNA durante o reparo e replicação.<sup>96</sup> A variante é classificada como PP, porém o paciente não apresenta as características da SB. A associação com imunodeficiência está presente na SB, porém não se pode inferir associação direta com SIM-P. Entretanto, supõe-se, por predispor a imunodeficiência, que poderia justificar sua repercussão clínica na população estudada. O gene *BLM* juntamente com o *ATM* são mencionados como sensores iniciais para vários tipos de danos ao DNA<sup>99</sup>, além disso, foi demonstrado que o *BLM* está física e funcionalmente associado ao hp150, a maior subunidade do fator de montagem da cromatina 1 (CAF-1) para promover a sobrevivência em resposta a danos no DNA e/ou bloqueio da replicação.<sup>98,99,100,101</sup>

No gene *CSF2RA*, foi detectada uma deleção intragênica, de aproximadamente 119pb entre o exon3-intron3, *frameshift*, em heterozigose no paciente 6, sexo feminino, sendo sua única CNV PP ou P detectada. Este gene é encontrado na região pseudoautosômica dos cromossomos X e Y.<sup>102</sup> Estudo realizado com nove crianças (de ambos os sexos) com doença pulmonar intersticial difusa grave, devido a mutações no *CSF2RA*, mostrou 6 indivíduos com mutações missense/nonsense/*frameshift* homozigotos e 3 indivíduos homozigotos para uma deleção do *locus* do gene *CSF2RA* completo.<sup>103</sup> Foram encontradas quatro novas mutações (c.1125 + 1G > A, duplicação do éxon 8, deleção dos éxons 2–13, Xp22.3/Yp11.3). Fosforilação STAT5 reduzida em PBMC e granulócitos foram observados em todos os seis casos examinados.<sup>103</sup> Neste mesmo estudo, nenhuma associação foi observada entre a gravidade do fenótipo na apresentação e o futuro curso clínico ou extensão do dano genético. O início precoce da doença foi associado a um fenótipo clínico mais grave, o que se assemelha com a clínica do paciente 6, que também apresentou marcadores de gravidade da SIM-P, como uso de drogas vasoativas e vigilância em UTI.

No gene *CSF3R*, o paciente 2 apresentou uma variante com uma deleção *frameshift* em heterozigose. Variantes patogênicas em heterozigose neste gene estão associadas à neutrofilia

hereditária. Observa-se nesse paciente maior acometimento do sistema respiratório e cardíaco, seguido de choque séptico urinário e suporte de oxigênio; ele também apresentou o gene *CFHR3* (CNV patogênica), já discutido acima.

Estudo de ligação com *CSF3R* radiomarcado concluiu que o receptor *CSF3R* é expresso não apenas por progenitor e granulócitos neutrofílicos maduros, mas também por células não hematopoiéticas, como células placentárias, células endoteliais e várias linhas celulares de carcinoma.<sup>104</sup> As interações recíprocas entre os fagócitos mononucleares e os subtipos adaptativos de linfócitos T e B desempenham papel decisivo no controle da ativação dos macrófagos e, conseqüentemente, do mecanismo de defesa imune, semelhante às respostas inflamatórias na SIM-P.<sup>104</sup>

Variantes heterozigóticas ativadoras adquiridas em *CSF3R* são a principal causa de leucemia neutrofílica crônica, um distúrbio hiperproliferativo.<sup>103</sup> Esse mesmo estudo aponta que as variantes hipomórficas da linhagem germinativa bialélica no *CSF3R* são uma causa rara de neutropenia congênita grave, uma condição hipoproliferativa, cujo impacto das variantes *CSF3R* da linhagem germinativa heterozigótica ainda é pouco conhecido. Nesse sentido, variantes de linha germinal homozigótica e heterozigótica composta, sem sentido e *frameshift* truncada no domínio extracelular de *CSF3R*, são uma causa rara de neutropenia congênita grave resistente a fator estimulador de colônias de granulócitos.

O gene *DOCK2* participa do processo de sinalização mediada e já foi identificada uma variante (rs60200309-A)<sup>105</sup> próxima ao gene *dedicator of cytokinesis 2*, que confere risco de desenvolver a COVID-19 de forma mais grave em pessoas com idade inferior a 65 anos. Variantes patogênicas em homozigose nesse gene estão associadas à Imunodeficiência. Na amostra estudada, dois pacientes (8 e 17) apresentaram deleções intragênicas em heterozigose. Não foram encontrados estudos que correlacionassem variantes do gene *DOCK2* no público pediátrico. Ambos os pacientes apresentaram outras CNVs PP. O paciente 17 apresentou CNVs PP no gene *IFIHI* e *TNFRSF11A*. No gene *IFIHI*, ocorreu uma deleção em heterozigose. Estudos elucidam que variantes nesse gene influenciam sobremaneira na forma grave da COVID-19, tendo manifestações principalmente no sistema nervoso central de crianças, como a hiposmia, anosmia, ageusia, cefaleia, tontura, rebaixamento do nível de consciência.<sup>105,106</sup>

A proteína codificada pelo gene *TNFRSF11A* é um membro da superfamília de receptores de TNF. Esses receptores podem interagir com várias proteínas da família TRAF, através das quais esse receptor induz a ativação de NF-kappa B e MAPK8/JNK.<sup>107</sup> Esse

receptor e seu ligante são importantes reguladores da interação entre as células T e as células dendríticas e também é um mediador essencial para o desenvolvimento de osteoclastos e linfonodos. Esse gene tem forte ligação com a doença óssea de Paget e osteopetrose, autossômica recessiva. O paciente 17, com 5 anos, sexo masculino, não apresentou alterações de olfato e paladar, mas cursou com derrame pericárdio moderado, espessamento bronquiolar, vidro fosco, ascite, tamponamento cardíaco, lesão renal e IOT, marcadores clínicos que conferem a forma grave da SIM-P. Não foram encontrados estudos sobre esse gene e SIM-P, contudo, sabe-se da participação do gene *TNFRSF11A* no fator nuclear-kappa B (NF-kB), que garante a expressão tanto de IFNs, quanto de citocinas pró-inflamatórias.<sup>108</sup>

Com relação ao paciente 8, além da variante no gene *DOCK2*, foi encontrada variante em *CFHR4*, variante P já discutida e em *IFNGR1*, esse último gene também mutado no paciente 1, sexo masculino. No gene *IL1RN*, foi identificada uma deleção em heterozigose no paciente 7, sexo feminino. Trabalhos atuais indicam que anticorpos envolvidos na Doença de Kawasaki possam estar contribuindo para a SIM-P, diante da crescente evidência de possível ligação entre excesso de IL-1 e fenótipos semelhantes à Doença de Kawasaki.<sup>110,111,112</sup> Apoiando essa hipótese, as concentrações de proteína IL-1Ra livre foram menores em pacientes com MIS-C que eram positivos para autoanticorpos anti-IL-1Ra *versus* aqueles que eram negativos para autoanticorpos ou aqueles com Doença de Kawasaki ou artrite idiopática juvenil sistêmica quiescente.<sup>113</sup> *Western blots* revelaram complexos anticorpo-IL-1Ra e ensaios de repórter sugeriram neutralização da atividade de IL-1Ra por plasma contendo autoanticorpos.<sup>112,113</sup>

A diminuição dos títulos de autoanticorpos durante o acompanhamento longitudinal de dois pacientes com MIS-C sugeriu que esses autoanticorpos eram transitórios.<sup>113</sup> O paciente 7, 6 anos de idade, sexo feminino, apresentou dor de garganta, envolvimento mucocutâneo oral, exantema, conjuntivite não-purulenta, dor nas articulações, edema de pés e mãos, refluxo mitral e tricúspide discreto. Permaneceu 8 dias internada, recebeu oxigenação via cateter nasal, sem necessidade de UTI. Observou-se nela predomínio de alteração de mucosas se comparado aos achados descritos nos outros pacientes da amostra aqui estudada. Esse paciente também apresentou uma CNV no gene *FERMT1* associado à síndrome de Kindler AR (OMIM: 173650), que é um tipo raro de epidermólise bolhosa.

O gene *DOCK8* apresentou variantes PP em 4 pacientes, todas CNVs PP. Esse gene foi identificado recentemente associado à síndrome da tempestade de citocinas (CSS).<sup>114</sup> Outro

autor aponta que as mutações missense heterozigóticas em *DOCK8* diminuem a função lítica das células NK e contribuem para o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias.<sup>115,116</sup>

A CSS é uma complicação potencial da COVID-19, com consequências graves, e as crianças correm o risco de CSS mais graves, a SIM-P.<sup>105,106</sup> Variantes no gene *DOCK8* estão presentes em 3 pacientes em homozigose e 1 paciente em heterozigose. Variantes patogênicas nesse gene resultam na forma autossômica recessiva da síndrome de hiper-IgE.<sup>106,10</sup> Ressalta-se que o paciente 3, 13 anos, sexo masculino, evoluiu para a forma grave da SIM-P, apresentando cardiomegalia, hipertensão pulmonar, SDRA, choque, sepse e insuficiência renal, com necessidade de transfusão de sangue e derivados, com 17 dias de internação, sendo 3 deles na UTI, com Intubação Orotraqueal (IOT). Esse paciente apresentou CNVs PP em heterozigose, em outros dois genes *ICOS* e *PRKDC*, associados à Imunodeficiência AR (OMIM: 607594) e Imunodeficiência 26 AR (OMIM: 615966).

O paciente 15, além de apresentar CNVs PP no gene *DOCK8* e *CFHR3*, já discutidos, também apresentou deleções intragênicas, nos genes *SRP72* (em homozigose), *FCGR3A* (heterozigose), *TNFRSF1A* (heterozigose), relatados associados à falha na medula óssea AD (OMIM:614675), Imunodeficiência 20 (AR) (OMIM:615707) e febre periódica familiar (AD) (OMIM:142680). Outros dois pacientes com variante em *DOCK8* foram 9 e 12, ambos em homozigose, pacientes já citados, com outras CNVs.

No gene *IL6ST* (Interleucina 6 Cytokine Family Signal Transducer), identificou-se uma variante no paciente 16, sexo feminino, uma deleção em heterozigose. Trabalho recente menciona que esse gene tem papel potencial no controle das expressões da IL-6.<sup>114</sup> Essa citocina parece ter um papel chave na hiperativação inadequada da imunidade com sintomas pleomórficos graves, acompanhados de risco de problemas cardiovasculares graves, como aneurismas coronários nas crianças afetadas.<sup>114,117</sup> Desse ponto de vista, a terapia na SIM-P direcionada à IL-6 ou ao complexo receptor de IL-6 pode ser racional e promissora nos casos indicados.<sup>114</sup> Esse paciente também apresentou uma CNV no gene *IKBKG* mapeado no cromossomo X. O paciente 4, sexo masculino, também apresentou variante nesse gene, ambas em heterozigose. Nos genes *NBAS*, *LRBA*, *SP110*, *SPINK5*, *IL6ST* foram identificadas somente CNVs em heterozigose, sendo que esses genes estão associados a doenças AR.

Outro estudo multicêntrico publicado em maio de 2022<sup>118</sup>, com amostra de 45 crianças com SIM-P, todas do sexo masculino, originadas do Oriente Médio, relatou manifestações gastrointestinais e mucocutâneas em 36 crianças, o que corrobora os achados desta pesquisa,



sendo que 76% tiveram dor abdominal, 38% diarreia e 52% vômito, conforme apresentado na Tabela 1. No que concerne às variantes genéticas, esse mesmo trabalho menciona variantes heterozigóticas raras em 19 pacientes, dos quais 7 apresentavam múltiplas variantes provavelmente deletérias em genes relacionados ao sistema imunológico, incluindo *TLR3*, *TLR6*, *IL22RA2*, *IFNB1* e *IFNA6*, genes estes não identificados como variantes PP ou P na nossa amostra.

Outro estudo com 37 crianças com SIM-P e 24 controles saudáveis, realizou-se por meio de análise de citocinas séricas (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-10, IL-17A, IL-12p70 e TNF), linfócitos por citometria de fluxo e 386 genes relacionados a doenças autoimunes, autoinflamação e imunodeficiências primárias por NGS, identificou *ATM*, *NCF1*, *MCM4*, *FCN3* e *DOCK8* ou a doenças autoinflamatórias associadas à liberação de IFN $\gamma$  como PRF1, NOD2 e MEF.<sup>119</sup> Todas as mutações genéticas encontradas em mais de 1 paciente foram diferentes, exceto para os 5 pacientes com mutações PRF1 (todos tinham a mutação Ala91Val) e os 2 com mutações em *FCN3* (ambos tinham a mutação Leu117fs). Destas, 14 variantes não haviam sido relatadas anteriormente; todas as outras são raras. Variantes PP nos genes *ATM* e o *DOCK8* também foram identificadas na presente amostra. E da mesma forma, neste estudo foram evidenciadas CNVs não encontradas ou descritas em outros trabalhos publicados recentemente.

**Quadro 5** - Pacientes e respectivas CNVs com possível associação com a SIM-P de acordo com a zigosidade apresentada e padrão de herança do fenótipo associado.

Pac.	Gene	CNV/Fenótipo Associado	CV	Zigosidade	Padrão Herança
01	<i>IFNGR1</i>	Chr6:(137215218_137215400)x1 Immunodeficiency 27B, mycobacteriosis, (615978); H. pylori infection, susceptibility to (600263); Hepatitis B virus infection, susceptibility to (610424); Tuberculosis infection, protection against (607948) Tuberculosis, susceptibility to (607948)	4	heterozigose	AD
02	<i>CFHR3</i>	Chr1:(196779797_196828246)x1 Hemolytic uremic syndrome, atypical, susceptibility to (235400)	5	heterozigose	AD
	<i>CSF3R</i>	Chr1:(36469156_36469257)x1 Neutrophilia hereditary (162830)	4	heterozigose	AD
08	<i>CFHR4</i>	Chr1:(196779162_196918487)x1 Hemolytic uremic syndrome, atypical, susceptibility to (235400)	5	heterozigose	AD/AR

	<i>IFNGR1</i>	Chr6:(137215218_137215400)x0 Immunodeficiency 27B, mycobacteriosis, (615978); H. pylori infection, susceptibility to (600263); Hepatitis B virus infection, susceptibility to (610424); Tuberculosis infection, protection against (607948) Tuberculosis, susceptibility to (607948)	4	homozigose	AD/AR
09	<i>DOCK8</i>	Chr9:(370230_370300)x0 Hyper-IgE recurrent infection syndrome (243700)	4	homozigose	AR
12	<i>DOCK8</i>	Chr9:(370230_370300)x0 Hyper-IgE recurrent infection syndrome (243700)	4	homozigose	AR
13	<i>ICOS</i>	Chr2:(203959586_203959599)x0 Immunodeficiency, common variable (607594)	4	homozigose	AR
15	<i>CFHR3</i>	Chr1:(196774887_196831999)x0 Hemolytic uremic syndrome, atypical, susceptibility to (235400)	5	homozigose	AD
	<i>SRP72</i>	Chr4:(56495357_56495394)x0 Bone marrow failure syndrome 1 (614675)	4	homozigose	AD

**Fonte:** Dados da pesquisas.

Legenda: Pac. Paciente / CV: classificação variante de acordo com ACMG

**Quadro 6 - Pacientes com CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas consideradas Achados Incidentais**

Pac.	Gene	CNV (hG38) Fenótipo associado	CV	Zigosidade	Padrão Herança
05	<i>ATM</i>	chr11:(108272443_108272622)x1  Lymphoma, B-cell non-Hodgkin, somatic; Lymphoma, mantle cell, somatic; T-cell prolymphocytic leukemia, somatic; Breast cancer, susceptibility to (114480) Somatic	4	heterozigose	AD
09	<i>PTEN</i>	Chr10: (87893906_87894204)x1  Cowden syndrome 1 (158350) AD; Lhermitte-Duclos syndrome (158350) AD; Macrocephaly/autism syndrome (605309) AD; Prostate cancer, somatic (176807); Glioma susceptibility 2 (613028); Meningioma (607174) AD	5	heterozigose	AD
15	<i>TNFRSF1A</i>	chr12:_(6330267_6330295)x1  Periodic fever, familial (142680) AD; Multiple sclerosis, susceptibility to, 5 (614810)	4	heterozigose	AD

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Legenda: Pac. Paciente / CV: classificação da variante de acordo com ACMG

Ressalta-se que este trabalho apresenta como limitações a não realização de ensaios

funcionais para confirmar o impacto das CNVs na SIM-P.

## 7 CONCLUSÃO

- A SIM-P é uma complicação rara e grave da Covid-19, observando-se que a maioria (86%) dos pacientes necessitou de vigilância em UTI.
- Foram identificadas 43 CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas, em 18 dos 21 pacientes, sendo a maioria do tipo deleções em estado heterozigótico, ou seja, os pacientes são, na grande maioria, portadores de variantes patogênicas para doenças recessivas, embora essas CNVs estejam distribuídas em 30 genes associados a erros inatos da imunidade ou descritos relacionados à infecção pelo SARS-CoV2.
- Os genes *IFNGR1*, *CFHR3*, *CSF3R*, *CFHR4*, *DOCK8*, *ICOS* e *SRP72* apresentaram CNVs que podem ter influenciado na evolução da SIM-P nos pacientes estudados, por estarem associadas a fenótipos AD ou estarem presentes em homozigose associadas a fenótipos AR.
- As variantes encontradas nos genes *ATM*, *PTEN* e *TNFRSF1A* estão associadas a fenótipos não relacionados a SIM-P e por isso são consideradas achados incidentais.
- Esta pesquisa possibilitou melhor conhecimento das características clínicas, laboratoriais e genéticas da amostra estudada.
- A identificação desses marcadores genéticos auxilia na melhor compreensão da susceptibilidade a SIM-P pós-COVID, podendo ser aplicada na prevenção da doença e em terapias direcionadas.

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. Geneva: WHO; 2020.
2. Brasil. Ministério da Saúde: COVID-19 e saúde da criança e do adolescente. Rio de Janeiro: Instituto Nacional da Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Ferreira - Fiocruz; 2020.
3. Wu Q, Xing Y, Shi L, Li W, Gao Y, Pan S, et al. Coinfection and other clinical characteristics of COVID-19 in children. *Pediatrics*. 2020;146(1).
4. Ahmed M et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: A systematic review. *EClinical Medicine*. 2020;26: 100527.
5. Borges PBA, Cunha, MAA Características clínicas da Síndrome Inflamatória Multissistêmica em crianças associada à COVID-19. Brasília, DF: Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos,2021.
6. Centers for Disease and Control Prevention. Case definition multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C)]. Atlanta: CDC; 2020.
7. Campos LR, Almeida RG, Goldenzon AV, Rodrigues MCF, Sztajnbok F, Lino K, et al. Síndrome inflamatória multissistêmica pediátrica (SIM-P) temporalmente associada a COVID-19: atualização. *Resid Pediatr*. 2021.
8. Badal S, Thapa Bajgain K, Badal S, Thapa R, Bajgain BB, Santana MJ. Prevalence, clinical characteristics, and outcomes of pediatric COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol*. 2021 Feb; 135:104715.
9. Barral-Netto, Manoel et al. Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais. Salvador: EDUFBA; 2020. <https://doi.org/10.9771/9786556300443>
10. Son MBF, Friedman K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) clinical features, evaluation, and diagnosis. 2020.
11. Ghisolfi S, Almas I, Sandefur JC, et al. Predicted COVID-19 fatality rates based on age, sex, comorbidities and health system capacity. *BMJ Global Health*, 2020; 5(9).
12. Ioannidis, John P A. (2021). Infection fatality rate of COVID-19 inferred from seroprevalence data. *Bulletin of the World Health Organization*. 2021;99(1):19-33F.
13. Iser, Betine Pinto Moehlecke et al. Definição de caso suspeito da COVID-19: uma revisão narrativa dos sinais e sintomas mais frequentes entre os casos confirmados. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2020;29(3).
14. Feldstein LR. CDC COVID-19 Response Team. Multisystem Inflammatory Syndrome in U.S. Children and Adolescents. *N Engl J Med*. 2020 Jul 23;383:334-46.
15. Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2020 May 23;395(10237):1607-8.

16. Centers for Disease Control and Prevention. Emergency preparedness and response: multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with coronavirus disease 2019 (COVID-19). Health advisory. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mis/mis-c.html>
17. Sociedade Brasileira de Pediatria. Nota de Alerta: Notificação obrigatória no Ministério da Saúde dos casos de síndrome inflamatória multissistêmica pediátrica (SIM- -P) potencialmente associada à COVID-19.
18. Godfred-Cato S, Bryant B, Leung J, et al. COVID-19–Associated Multisystem Inflammatory Syndrome in Children — United States, March–July 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2020;69(32):1074–80.
19. Marenne G, Rodríguez-Santiago B, Closas MG, Pérez-Jurado L, Rothman N, Rico D, Pita G, Pisano DG, Kogevinas M, Silverman DT, Valencia A, Real FX, Chanock SJ, Génin E, Malats N. Assessment of copy number variation using the Illumina Infinium 1M SNP-array: a comparison of methodological approaches in the Spanish Bladder Cancer/EPICURO study. *Hum Mutat*. 2011 Feb;32(2):240-8. Doi 10.1002/humu.21398.
20. Connolly JJ, Glessner JT, Almoguera B, Crosslin DR, Jarvik GP, Sleiman PM, Hakonarson H. Copy number variation analysis in the context of electronic medical records and large-scale genomics consortium efforts. *Front Genet*. 2014. Mar;18(5):51.doi:10.3389/fgene.2014.00051.eCollection 2014.
21. Carter M J et al. Peripheral immunophenotypes in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2020;26:1701-7.
22. Castagnoli R, Votto M, Licari A, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection in children and adolescents: a systematic review. *JAMA Pediatr*. 2020 April 22.
23. Lu X, Zhang L, Du H, et al. SARS-CoV-2 infection in children. *N Engl J Med*. 2020; 382:1663-5.
24. Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382:1708-20.
25. Hou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395:1054-62.
26. Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nat Rev Immunol* 2020; 20:269-70.
27. Ministério da Saúde, Brasil. Boletim epidemiológico especial: COVID-19. Brasília, DF: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2021. Semana Epidemiológica 45. 7/11 a 13/11/2021.
28. Porritt RA, Binek A, Paschold L, Rivas MN, McArdle A, Yonker LM, Alter G, Chandnani HK, Lopez M, Fasano A, Van Eyk JE, Binder M, Arditi M. The autoimmune signature of hyperinflammatory multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2021;131(20):e151520. doi: 10.1172/JCI151520.
29. Sood M, Sharma S, Sood I, Sharma K, Kaushik A. Emerging evidence on multisystem inflammatory syndrome in children associated with SARS-CoV-2 infection: a systematic review with meta-analysis. *SN Compr Clin Med*. 2021 Jan;1-10.
30. Vella LA, Rowley AH. Current insights into the pathophysiology of multisystem inflammatory syndrome in children. *Curr Pediatr Rep*. 2021; 9:83–92. <https://doi.org/10.1007/s40124-021-00257-6>

31. Godfred-Cato S, Bryant B, Leung J, et al. COVID-19-associated multisystem inflammatory syndrome in children - United States, March-July 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020; 69:1074–80.
32. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, et al. Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. *N Engl J Med.* 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2021680>. Reports clinical features of children in the USA with MIS-C.
33. Campbell JI, Roberts JE, Dubois M, Naureckas Li C, Sandora TJ, Lamb GS. Non-SARS-CoV-2 infections among patients evaluated for MIS-C associated with COVID-19. *Pediatr Infect Dis J.* 2021; 40:e90–e93.
34. Consiglio C, Cotugno N. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell.* 2020; 183(4) 968-81.
35. Carter MJ, Fish M, Jennings A, et al. Peripheral immunophenotypes in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Nat Med.* 2020; 26:1701–7.
36. Gruber CN, Patel RS, Trachtman R, et al. Mapping systemic inflammation and antibody responses in multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *Cell.* 2020; 183:982–95.e14.
37. Ramaswamy A, Brodsky NN, Sumida TS, et al. Immune dysregulation and autoreactivity correlate with disease severity in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *Immunity.* 2021;54:1083–95.e7.
38. Moreews M, Le Gouge K, Khaldi-Plassart S, et al. Polyclonal expansion of TCR Vbeta 21.3 CD4 and CD8 T cells is a hallmark of multisystem inflammatory syndrome in children. *Sci Immunol.* 2021.
39. Pierce CA, Preston-Hurlburt P, Dai Y, et al. Immune responses to SARS-CoV-2 infection in hospitalized pediatric and adult patients. *Sci Transl Med.* 2020.
40. Porritt RA, Paschold L, Rivas MN, et al. HLA class I-associated expansion of TRBV11-2 T cells in multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest.* 2021. <https://doi.org/10.1172/JCI146614>.
41. Diorio C, Shraim R, Vella LA, et al. Proteomic profiling of MIS-C patients reveals heterogeneity relating to interferon gamma dysregulation and vascular endothelial dysfunction. *medRxiv.* 2021 Apr 20;4(13). Doi 10.1101/2021.04.13.21255439. Preprint.
42. Lee PY, Day-Lewis M, Henderson LA, et al. Distinct clinical and immunological features of SARS-CoV-2-induced multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest.* 2020;130:5942–50.
43. Rodriguez-Smith JJ, Verweyen EL, Clay GM, et al (2021) Inflammatory biomarkers in COVID-19-associated multisystem inflammatory syndrome in children, Kawasaki disease, and macrophage activation syndrome: a cohort study. *The Lancet Rheumatology.* [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(21\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(21)00139-9)
44. Chou J, Platt CD, Habiballah S, et al (2021) Mechanisms underlying genetic susceptibility to multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *J Allergy Clin Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.06.024>

45. Aguilar C, Latour S. X-linked inhibitor of apoptosis protein deficiency: more than an X-linked lymphoproliferative syndrome. *Journal of Clinical Immunology*. 2015;35(4):331-8. doi: 10.1007/s10875-015-0141-9.
46. Hobbs CV, Khaitan A, Kirmse BM, Borkowsky W. COVID-19 in children: a review and parallels to other hyperinflammatory syndromes. *Front Pediatr*. 2020 Nov;8:593455.
47. Kuypers FA, Rostad CA, Anderson EJ, et al. Secretory phospholipase A2 in SARS-CoV-2 infection and multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *Exp Biol Med*.2021; 15353702211028560.
48. Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, Binder M, Arditi M, Bahar I. Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020 Oct.
49. Diorio C, Henrickson SE, Vella LA, et al (2020) Multisystem inflammatory syndrome in children and COVID-19 are distinct presentations of SARS-CoV-2. *J Clin Invest* 130:5967–5975.
50. Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, Binder M, Arditi M, Bahar I. Caráter superantigênico de uma inserção exclusiva do pico de SARS-CoV-2 suportado por repertório TCR enviesado em pacientes com hiperinflamação. *Proc Natl Acad Sci USA*.2020;117:25254–62.
51. Ahmed M, Advani S, Moreira A, Zoretic S, Martinez J, Chorath K, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: a systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020 Set;26:100527. Doi:10.1016/j.eclinm.2020.100527.
52. Vinh DC, Abel L, Bastard P, Cheng MP, Condino-Neto A, Gregersen PK, Haerynck F, Cicalese MP, Hagin D, Soler-Palacín P, Planas AM, Pujol A, Notarangelo LD, Zhang Q, Su HC, Casanova JL, Meyts I; COVID Human Genetic Effort. Harnessing Type I IFN Immunity Against SARS-CoV-2 with Early Administration of IFN- $\beta$ . *J Clin Immunol*. 2021 Oct;41(7):1425-1442. doi: 10.1007/s10875-021-01068-6.
53. Ramoz N, Rueda LA, Bouadjar B, Montoya LS, Orth G, and Favre M. Mutations in two adjacent novel genes are associated with epidermodysplasia verruciformis. *Nat. Genet*. 2002;32, 579–581 10.1038/ng1044.
54. Rigaud S, Fondanèche MC, Lambert N, Pasquier B, Mateo V, Soulas P, Galicier L, Le Deist F, Rieux-Laucat F, Revy P, Fischer A, de Saint Basile G, Latour S. XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome. *Nature*. 2006;444(7115):110-4. doi: 10.1038/nature05257.
55. Li B, Zhang S, Zhang R, Chen X, Wang Y, Zhu C. Epidemiological and Clinical Characteristics of COVID-19 in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Pediatrics*. 2020;8, 591132. doi: 10.3389/fped.2020.591132.
56. Centers for Disease Control and Prevention. Webinar May 19, 2020 - multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with coronavirus disease 2019 (COVID-19). Atlanta: CDC; 2020.
57. Belhadjer Z, Auriou J, Méot M, Oualha M, Renolleau S, Houyel L, Bonnet D. Addition of corticosteroids to immunoglobulins is associated with recovery of cardiac function in multi-inflammatory syndrome in children. *Circulation*. 2020;142:2282-4.



58. Ouldali N, Toubiana J, Antona D, et al. Association of intravenous immunoglobulins plus methylprednisolone vs immunoglobulins alone with course of fever in multisystem inflammatory syndrome in children. *JAMA*. 2021;325:855-64.
59. Redon R et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006 Nov; 444:444–54.
60. Riggs ER et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *American College of Medical Genetics and Genomics*. 2019.
61. Scherer S W, Lee C, Birney E, Altshuler D M, Eichler E E, Carter N P et al. Challenges and standards in integrating surveys of structural variation. *Nature Genetics*. 2007 Jul;39(7):S7- 15. Doi 10.1038/ng2093
62. Lins TCL. Variação estrutural no número de cópias e sua implicação na expressão de microRNA em humanos. 2014. Orientador: Rinaldo Wellerson Pereira. Tese (Doutorado em Patologia Molecular) - Universidade de Brasília. <http://repositorio2.unb.br/jspui/handle/10482/16506>
63. South S T, Lee C, Lamb A N, Higgins A W, Kearney H M. ACMG Standards and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genetics in Medicine*. 2013;15(11):901-9.
64. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Chatila T, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Franco JL, Holland SM, Klein C, Morio T, Ochs HD, Oksenhendler E, Picard C, Puck J, Torgerson TR, Casanova JL, Sullivan KE. Human inborn errors of immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020 Jan;40(1):24-64. doi:10.1007/s10875-019-00737-x.
65. Hughes AE, Orr N, Esfandiary H, Diaz-Torres M., Goodship T, Chakravarthy U. A common CFH haplotype, with deletion of CFHR1 and CFHR3, is associated with lower risk of age-related macular degeneration. *Nature Genet*. 38: 1173-1177, 2006. Note: Erratum: *Nature Genet*. 2007;39:567only.
66. Hellwage J, Jokiranta TS, Koistinen V, Vaarala O, Meri S, Zipfel PF. **Functional properties of complement factor H-related proteins FHR-3 and FHR-4: binding to the C3d region of C3b and differential regulation by heparin.** *FEBS Lett*.1999; 462:345-52.
67. Skerka C, Kühn S, Günther K, Lingelbach K, Zipfel PF. A novel short consensus repeat-containing molecule is related to human complement factor H. *J Biol Chem*. 1993 Feb 5;268(4):2904-8.
68. Fritsche L G, Lauer N, Hartmann A, Stippa S, Keilhauer CN, Oppermann M, Pandey M J, Kohl J, Zipfel PF, Weber B H F, Skerka C. An imbalance of human complement regulatory proteins CFHR1, CFHR3 and factor H influences risk for age-related macular degeneration (AMD). *Hum. Molec. Genet*. 2010;19:4694-704.
69. Vassalakis JA. O papel do componente C3 do sistema complemento na infecção in vivo por *Leptospira interrogans*. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Universidade de São Paulo. doi:10.11606/D.42.2018.tde-20022018-143003.
70. Noris M, Mescia F, Remuzzi G. STEC-SHU, SHU atípica e PTT são todas doenças de ativação do complemento. *Nat Rev Nephrol*. 2012; 11:622–33.

71. Ixon BP, Gruppo RA. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Clin North Am.* 2018 Jun;65(3):509-25.
72. Campistol JM, Arias M, Ariceta G, et al. Uma atualização para a síndrome hemolítico-urêmica atípica: diagnóstico e documento de tratamento. *Nefrologia.* 2015;5:421-7.
73. Balgradean M, Cinteza E, Aria LA, Matei RL, Marin L, Moga L, Negritoru SC, Slavulete RE, Stefan MC, Ionescu M. Clinical and Pathogenic Correlations Between SARS-CoV-2 Infection and Hemolytic Uremic Syndrome in Children. *Maedica (Bucur).* 2020 Sep;15(3):376-380. doi: 10.26574/maedica.2020.15.3.376.
74. Kavanagh D, Goodship T. Genética e complemento em SHU atípica. *Pediatr Nephrol.* 2010;12 :2431-42.
75. Geerdink LM, Westra D, Van Wijk JAE, Dorresteijn EM, Lilien MR, Davin JC, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome in children: complement mutations and clinical characteristics. *Pediatr Nephrol J.* 2012 Aug;27(8):1283-91.
76. Schaefer F, Ardissino G, Ariceta G, Fakhouri F, Scully M, Isbel N, et al. Clinical and genetic predictors of atypical hemolytic uremic syndrome phenotype and outcome. *Kidney Int.* 2018 Aug;94(2):408-18.
77. Wang Y, Wrennall J A, Cai Z, Li H, Sheppard DN. Understanding how cystic fibrosis mutations disrupt CFTR function: from single molecules to animal models. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 52: 47-57, 2014.
78. Fremeaux-Bacchi V, Miller EC, Liszewski MK, Strain L, Blouin J, Brown AL, et al. Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2008;112(13):4948-52.
79. Lotti V, Merigo F, Lagni A, Di Clemente A, Ligozzi M, Bernardi P, Rossini G, Concia E, Plebani R, Romano M, Sbarbati A, Sorio C, Gibellini D. CFTR Modulation Reduces SARS-CoV-2 Infection in Human Bronchial Epithelial Cells. *Cells.* 2022 Apr 15;11(8):1347.
80. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Baltimore; Bethesda: BeMcKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine; Johns Hopkins University; National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine.
81. Deakyne JS, Mazin AV. Fanconi anemia: at the crossroads of DNA repair. *Biochemistry.* 2011; 76:36-48.
82. Sagaseta IM, Molina J, Lezáun I, Valiente A, Durán G. Anemia de Fanconi. Consideraciones actuales. *Anales Sis San Navarra.* 2003;26:63-78.
83. Zen PR G et al. Características clínicas de pacientes com anemia de Fanconi. *Revista Paulista de Pediatria.* 2011; 29(3).
84. Kennedy RD, D'Andrea AD. DNA repair pathways in clinical practice: lessons from pediatric cancer susceptibility syndromes. *J Clin Oncol* 2006;24:3799-808.
85. Taniguchi T. Fanconi Anemia. In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K editors. *GeneReviews.* Seattle: University of Washington; 1993.

86. Svojgr K, Sumerauer D, Puchmajerova A, et al. Fanconi anemia with biallelic FANCD1/BRCA2 mutations - Case report of a family with three affected children. *European Journal of Medical Genetics*. 2016 Mar;59(3):152-7. doi: 10.1016/j.ejmg.2015.11.013. PMID: 26657402.
87. Winter JP, Joenje H. The genetic and molecular basis of Fanconi anemia. *Mutat Res*. 2009;668:11-9.
88. Sarma A et al. Tracheal aspirate RNA sequencing identifies distinct immunological features of COVID-19 ARDS. *Nat Commun*. 2021 Aug 26;12(1):5152.doi:10.1038/s41467-021-25040-5.
89. Zhou, M. et al. PTEN–Foxo1 signaling triggers HMGB1-mediated innate immune responses in acute lung injury. *Immunologic Res*.2015; 62: 95-105.
90. Schabbauer G. et al. Myeloid PTEN promotes inflammation but impairs bactericidal activities during murine pneumococcal pneumonia. *J. Immunol*. 2010;185:468-76.
91. Teresi RE, Zbuk KM, Pezzolesi MG, Waite KA, Eng C. Cowden syndrome-affected patients with PTEN promoter mutations demonstrate abnormal protein translation. *Am J Hum Genet*. 2007Oct;81(4):756-67. Doi:10.1086/521051.
92. .Li Y., Zhang K., Chen H., Sun F., Xu J., Wu Z., Li P., Zhang L., Du Y., Luan H., et al. A genome-wide association study in Han Chinese identifies a susceptibility locus for primary Sjögren’s syndrome at 7q11.23. *Nat. Genet*. 2013;45:1361-1365. doi: 10.1038/ng.2779.
93. Olsson L.M, Johansson C, Gullstrand B, Jönsen A, Saevarsdottir S, Rönnblom L, Leonard D, Wetterö J, Sjöwall C, Svenungsson E, et al. A single nucleotide polymorphism in the *NCF1* gene leading to reduced oxidative burst is associated with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis*. 2017;76:1607–1613. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211287.
94. Zhao J, Ma J, Deng Y, Kelly J, Kim K, Bang SY, Lee HS, Li QZ, Wakeland QZ.K, Qiu R, et al. A missense variant in *NCF1* is associated with susceptibility to multiple autoimmune diseases. *Nat. Genet*. 2017;49:433-7.
95. Zhang L, Wax J, Huang R, Petersen F, Yu X. Meta-analysis and systematic review of the association between a hypoactive *ncf1* variant and various autoimmune diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2022Aug.16;11(8):1589. Doi:10.3390/antiox11081589.
96. Savitsky K, et al., A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science*. 1995 Schon, K., van Os. Genotype, extrapyramidal features, and severity of variant ataxia-telangiectasia. *Ann. Neurol*.2019;85:170-80.
97. Mastropasqua L, Toto L, Chiricosta L, Diomede F, Gugliandolo A, Silvestro S, Marconi GD, Sinjari B, Vecchiet J, Cipollone F, D'Ardes D, Auricchio A, Lanzini M, Caputi S, D'Aloisio R, Mazzon E, Trubiani O. Transcriptomic analysis revealed increased expression of genes involved in keratinization in the tears of COVID-19 patients. *Sci Rep*. 2021 Oct 6;11(1):19817. Doi: 10.1038/s41598-021-99344-3.
98. Nicolas L et al. Cutting edge: ATM influences germinal center integrity. *J. Immunol*. 2019Jun 1;202(11):3137-42. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801033>(2019).
99. Matei I R, Guidos C J, Danska J S. ATM-dependent DNA damage surveillance in T-cell development and leukemogenesis: the DSB connection. *Immunol. Rev*. 2006 Feb;209:142-58. Doi:10.1111/j.0105-2896.2006.00361.

100. Sengupta S, Robles AI, Linke SP, Sinogeeva NI, Zhang R, Pedoux R, et al. Functional interaction between BLM helicase and 53BP1 in a Chk1-mediated pathway during S-phase arrest. *J. Cell Biol.* 2004;166: 801–13. doi: 10.1083/jcb.200405128.
101. Kaur E, Agrawal R, Sengupta S. Functions of BLM Helicase in Cells: Is it acting like a double-edged sword? *Front Genet.* 2021 Mar 12;12:634789. Doi:10.3389/fgene.2021.634789.
102. Ildebrandt J, Yalcin E, Bresser HG, Cinel G, Gappa M, Haghghi A, Kiper N, Khalilzadeh S, Reiter K, Sayer J, Schwerk N, Sibbersen A, Van Daele S, Nübling G, Lohse P, Griese M. Characterization of CSF2RA mutation related juvenile pulmonary alveolar proteinosis. *Orphanet J Raro Dis.* 2014 Nov 14; 26(9):171.
103. Fukunaga R, Seto Y, Mizushima S, Nagata S. Three different mRNAs encoding human granulocyte colony-stimulating factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990 Nov; 87(22):8702-6. Doi: 10.1073/pnas.87.22.8702.
104. Triot A, Järvinen PM, Arostegui JI, Murugan D, Kohistani N, Dapena Díaz JL, Racek T, Puchałka J, Gertz EM, Schäffer AA, Kotlarz D, Pfeifer D, Díaz de Heredia Rubio C, Ozdemir MA, Patiroglu T, Karakukcu M, Sánchez de Toledo Codina J, Yagüe J, Touw IP, Unal E, Klein C. Inherited biallelic CSF3R mutations in severe congenital neutropenia. *Blood.* 2014 Jun 12;123(24):3811-7
105. Namkoong H et al. DOCK2 is involved in the host genetics and biology of severe COVID-19. *Nature.* 2022 Sep;609(7928):754-60. doi: 10.1038/s41586-022-05163-5.
106. Schulert GS, Cron RQ. A genética da síndrome de ativação de macrófagos. *Genes Immun.* 2020; 21:169-81.
107. Cron RQ, Chatham WW. O papel do reumatologista na COVID-19. *J Rheumatol.* 2020;47:639-42.
108. Elahi E, Shafaghati Y, Asadi S, Absalan F, Goodarzi H, Gharaii N, Karimi-Nejad MH, Shahram F, Hughes AE. Os haplótipos SNP intragênicos associados à mutação 84dup18 em TNFRSF11A em quatro pedigrees FEO sugerem três origens independentes para essa mutação. *J Bone Miner Metab.* 2007;25(3):159-64.
109. Silva CA; et al. Imunopatogênese no desenvolvimento da covid-19. *Revista Saúde & Ciência online.* 2021 jan-abr; 85-102.
110. Whittaker A, Anson M, Harky A. Neurological Manifestations of COVID-19: A systematic review and current update. *Acta Neurol. Scand.* 2020; 142:14-22.
111. Asadi-Pooya AA, Simani L. Central nervous system manifestations of COVID-19: A systematic review. *J. Neurol. Sci.* 2020; 413:116832.
112. Bassiri H, Canna SW. IL-1 receptor antagonist, MIS-C, and the peculiar autoimmunity of SARS-CoV-2. *Lancet Rheumatol.* 2022 May;4(5):e305-e307. doi: 10.1016/S2665-9913(22)00090-X.
113. Lacina L, Brábek J, Fingerhutová Š, Zeman J, Smetana K Jr. Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome (PIMS) - Potential role for cytokines such as IL-6. *Physiol Res.* 2021 Apr.30;70(2):153-9. Doi: 10.33549/fisiolres.934673
114. Gao YM, Xu G, Wang B, Liu BC. Cytokine storm syndrome in coronavirus disease 2019: A narrative review. *J Intern Med.* 2021 Feb;289(2):147-61. Doi: 10.1111/joim.13144.

115. Ruusala, A., Aspenstrom, P. Isolation and characterisation of DOCK8, a member of the DOCK180-related regulators of cell morphology. *FEBS Lett.* 2004;572:159-166.
116. Abuhammour W, Yavuz L, Jain R, Abu Hammour K, Al-Hammouri GF, El Naofal M, Halabi N, Yaslam S, Ramaswamy S, Taylor A, Wafadari D, Alsarhan A, Khansaheb H, Deesi ZO, Varghese RM, Uddin M, Al Suwaidi H, Al-Hammadi S, Alkhaja A, AlDabal LM, Loney T, Nowotny N, Al Khayat A, Alsheikh-Ali A, Abou Tayoun A. Genetic and clinical characteristics of patients in the middle east with multisystem inflammatory syndrome in children. *JAMA Netw Open.* 2022 May 2;5(5):e2214985. Doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.14985.
117. Gelzo M, Castaldo A, Giannattasio A, Scalia G, Raia M, Esposito MV, Maglione M, Muzzica S, D'Anna C, Grieco M, Tipo V, La Cava A, Castaldo G. MIS-C: A COVID-19-associated condition between hypimmunity and hyperimmunity. *Front Immunol.* 2022 Oct. 3;13:985433. Doi: 10.3389/fimmu.2022.985433.

## ANEXOS

### ANEXO A - PARÂMETROS PARA INCLUSÃO DE PACIENTES PEDIÁTRICOS NO ESTUDO

## PARÂMETROS PARA INCLUSÃO DE PACIENTES PADIÁTRICOS NO ESTUDO

Para ser incluído no estudo, o paciente deve apresentar (ou ter apresentado na fase ativa da doença) **TODOS** os parâmetros descritos abaixo:

Adequado de protocolos do CDC (EUA) e da OMS.

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE (NOME COMPLETO):

As informações listadas abaixo devem ser respondidas com **SIM** ou **NÃO**

Idade ≤ 15 anos	Febre > 38° C por ≥ 24 horas	Ao menos 01 parâmetro laboratorial indicativo de inflamação*	Acometimento multissistêmico (≥ 2 órgãos)**	Sem outro diagnóstico plausível***	+SARS-CoV-2 (RT-PCR ou Sorologia)

\*Evidências laboratoriais de inflamação: proteína C reativa, procalcitonina, velocidade de hemossedimentação, fibrinogênio, D-dímero, ferritina, lactato desidrogenase, IL-6, neutrofilia, linfopenia, hipoalbuminemia.

\*\*Evidência de doença clínica grave, necessitando hospitalização, com ao menos 02 das seguintes alterações: rash ou conjuntivite bilateral não purulenta ou sinais inflamatórios mucocutâneos; cardíaca (ex.: hipotensão ou choque, elevação da troponina, pró-BNP, alterações ecocardiográficas ou arritmias); renal (ex.: injúria renal aguda ou insuficiência renal); respiratória (pneumonia, síndrome respiratória aguda ou embolia pulmonar); hematológica (ex.: evidência de coagulopatia - D-dímero elevado, trombofilia ou trombocitopenia); gastrointestinal (ex.: elevação da bilirrubina, enzimas hepáticas vômito, dor abdominal ou diarreia); neurológica (ex.: acidente vascular cerebral, meningite asséptica ou encefalopatia).

\*\*\* Sem outra causa microbiológica evidente de inflamação, incluindo sepse bacteriana, síndrome do choque tóxico estafilocócico e estreptocócico.

### INFORMAÇÕES A SEREM COLETADAS DURANTE A COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO (RETORNO)

Pais e/ou irmãos tiveram COVID-19?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não soube informar
Pais e/ou irmãos com quadro clínico grave por COVID-19?	<input type="checkbox"/> Sim, (UTI, óbito?) <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não soube informar
Histórico familiar de imunodeficiências primárias ou outras doenças genéticas?	<input type="checkbox"/> Sim, (qual parentesco e doença?) <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não soube informar
Consanguinidade entre os pais da criança?	<input type="checkbox"/> Sim, (grau de parentesco?) <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não soube informar

## ANEXO A - PARÂMETROS PARA INCLUSÃO DE PACIENTES PADIÁTRICOS NO ESTUDO

## FICHA DE COLETA DE DADOS

### 1. INFORMAÇÕES GERAIS

1.1 Nome completo			
1.2 Data de nascimento (DD/MM/AA):	1.3 Idade:	1.4 Data de coleta (DD/MM/AA):	1.5 Óbito:  ( ) Sim ( ) Não
1.6 Nº do prontuário:	1.7 Sexo:  ( ) Masculino ( ) Feminino	1.8 Raça/cor referida:  ( ) Branca ( ) Amarela ( ) Indígena ( ) Preta ( ) Parda	
1.9 Endereço de residência/Município:			
1.10 Telefones para contato (máximo de contatos – parentes, vizinhos, etc):			

### 2. QUADRO CLÍNICO

2.1 Data do início dos sintomas:			2.2 Data da interação:				
2.3 Sinais e sintomas na internação:							
	Sim	Não	Ignorado		Sim	Não	Ignorado
Febre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ( $\geq 24\text{h}$ )				Saturação de $\text{O}_2 < 95\%$			
Duração da febre antes da hospitalização dias:				Mal-estar geral			
Dor de garganta				Dores articulares			
Tosse seca				Dor muscular			
Tosse produtiva				Dor abdominal			
Dispnéia/desconforto respiratório				Diarreia			
Astenia/Adinamia				Vômitos			
Cefaléia				Alteração de olfato/paladar			
Envolvimento mucocutâneo (oral)				Conjuntivite não purulenta bilateral			
Exantema				Eritema ou edema de mãos ou pés			
Linfadenopatia cervical				Taquicardia			
Critério completo para a doença de Kawasaki (incluindo febre $\geq 5$ dias)							
Outros:							



Ministério da Saúde  
 FIOCRUZ  
 Fundação Oswaldo Cruz  
 Instituto Aggeu Magalhães

INOVA FIOCRUZ  
 Determinantes Genéticos da Síndrome Inflamatória  
 Multissistêmica Pediátrica (SIM-P) Associada à Covid-19

2.4 Foi administrado algum tratamento antiviral ou antibiótico no momento da internação? ( ) SIM ( ) NÃO

Especifique:

### 3. DIAGNÓSTICO NA INTERNAÇÃO (NÃO USAR SIGLAS):

	Diagnóstico	Data da interação (DD/MM/AA)
Diag1		
Diag2		
Diag3		
Diag4		

### 4. CONDIÇÕES DE SAÚDE PREGRESSAS

4.1 No momento do adoecimento apresentou alguma das seguintes condições?

Condição	Sim	Não	Ignorado/ Não sabe	Condição	Sim	Não	Ignorado/ Não sabe
Síndrome de Down				Asma			
Outra síndrome cromossômica				Bronquiectasia			
Diabetes Mellitus (1/2)				Doença Pulmonar Intersticial Difusa			
Imunodeficiência primária				História de tuberculose (recente ou antiga)			
HIV ou outra imunodeficiência/imunodepressão				Bronquiectasia			
Doença cardiovascular crônica				Obesidade (IMC)			
Doença renal crônica				Tratamento imunossupressor			IMC?
Doença hematológica crônica				Transplante de medula óssea ou células-tronco			
Neoplasia				Desnutrição			
Pneumopatia				Hipertensão arterial crônica			
Doença hepática crônica							

Doenças congênicas ou outras condições (especifique):



### 5. QUADRO CLÍNICO NA HOSPITALIZAÇÃO

Sinais vitais no momento da hospitalização	Dia de ingresso Enfermaria/apto ( / / )	Dia entrada cuidados intermediários ( / / )	Dia entrada na UTI ( / / )
5.1 Temperatura máxima (°C)			
5.2 Pressão arterial mais baixa (sis/dias)			
5.3 Frequência respiratória mais alta/min*			
5.4 Frequência cardíaca mais alta/min*			
5.5 Suporte ventilatório	( ) O <sub>2</sub> máscara ( ) ventilador	( ) O <sub>2</sub> máscara ( ) ventilador	( ) O <sub>2</sub> máscara ( ) ventilador
5.6 Saturação O <sub>2</sub> mais baixa (%)			
5.7 FiO <sub>2</sub> (fração de oxigênio inspirado)			

\* Mais alto ou mais baixo dos valores aferidos nesse dia.

### 6. ACHADOS TOMOGRÁFICOS E RADIOLÓGICOS

<p>Fez pelo menos uma tomografia de tórax? Descrever os principais achados:</p> <p>( ) Sim ( ) Não ( ) Não tem dados</p>
<p>Fez pelo menos um Raio X de tórax? Descrever os principais achados:</p> <p>( ) Sim ( ) Não ( ) Não tem dados</p>

### 7. COMPLICAÇÕES DURANTE A DOENÇA:

Em algum momento durante a doença requereu ou teve:		
Condição	Presente	Data (DD/MM/AA)
7.1 Tempo total de internação	dias:	
7.2 Ingresso em UTI	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.3 Tempo de internação na UTI	dias:	
7.4 Suplementação de oxigênio	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.5 Suporte ventilatório	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.6 Medicação vasopressora (ex: dopamina, noradrenalina).	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.7 Diálise/Hemodiálise	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.8 Ressuscitação cardiopulmonar	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.9 Síndrome de dificuldade respiratória aguda (SDRA)	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.10 Coagulação intravascular disseminada (CID)	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.11 Sepsis	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.12 Choque	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.13 Falência miocárdica	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.14 Infarto Miocárdio	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.15 Circulação extracorpórea	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.16 Insuficiência renal	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.17 Transfusão de sangue e derivados	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.18 Pneumonia	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.19 Aneurisma de artéria coronária	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.20 Piora na fração de encurtamento do ventrículo esquerdo	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.21 Administração de corticosteroides	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.22 Imunoglobulina intravenosa	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
7.23 Imunomodulação biológica (anticorpos monoclonais)	( ) Sim ( ) Não ( ) Sem dados	
Outro (especificar):		

## 8. ACHADOS LABORATORIAIS:

### 8.1 INESPECÍFICOS

Marcador	Exame	Ingresso Enfermaria/Apto ( / / )	Entrada cuidados intermediários ( / / )	Entrada UTI ( / / )
Infecção	Leucócitos total			
	Neutrófilos (N° e %)			
	Linfócitos (N° e %)			
Coagulação	Tempo de tromboplastina parcial			
	D-dímero			
	Albumina			
Bioquímica	TGO			
	TGP			
	Bilirrubinas (total e direta)			
	Creatina			
	Creatinofosfoquinase			
	Desidrogenase láctica			
	Glicemia			
	Triglicédeos			
Inflamação	Procalcitonina			
	Velocidade de eritrossedimentação			
	Interleucina			
	Ferritina			
	Proteína C reativa			
Outros (especificar):				

Observação: Se no prontuário você encontrar resultados de troponina I (cardíaca) anotar no item "outros".

## 8.2 ESPECÍFICOS

Ingresso Enf/Apt (DD/MM/AA)	Teste realizado	Realizado	Interpretação
	PCR SARS-CoV-2	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo
	Sorológico SARS-CoV-2	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo
	PCR Vírus Influenza (H1N1)	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo
	PCR Vírus Influenza (Vírus A)	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo
	PCR Vírus Influenza (Vírus B)	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo

## 9. OBSERVAÇÕES (DESCREVER OUTROS FATOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E LABORATORIAIS RELEVANTES):

### RESPONSÁVEL PELO PREENCHIMENTO

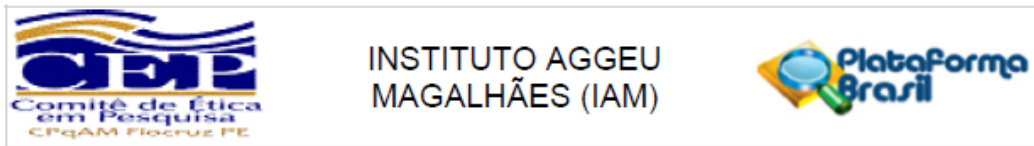
Nome completo:

Assinatura:

Data do preenchimento (DD/MM/AA):



## ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Identificação de fatores genéticos do hospedeiro que são determinantes para o desenvolvimento de formas graves da COVID-19 em adultos e crianças.

**Pesquisador:** LUYDSON RICHARDSON SILVA VASCONCELOS

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 36403820.2.0000.5190

**Instituição Proponente:** FUNDACAO OSWALDO CRUZ

**Patrocinador Principal:** FIOTEC - FUNDAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO EM SAÚDE

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.263.871

**Apresentação do Projeto:**

Informações fornecidas pelo pesquisador:

A infecção pelo SARS-CoV-2 resulta em grande diversidade clínica interindividual, variando da forma assintomática até os quadros respiratórios graves. Os estudos iniciais sobre a COVID-19 concentraram-se nas características clínicas, epidemiológicas e na caracterização genômica do agente etiológico. O papel de fatores genéticos do hospedeiro na suscetibilidade e gravidade da COVID-19 permanece incerto.

Os estudos populacionais no campo da epidemiologia genômica e o estudo de outliers – por exemplo, pacientes jovens e saudáveis que desenvolvem formas clínicas graves – representam oportunidades excepcionais para identificar fatores genéticos associados a doenças em humanos. Ao empregar essas abordagens, o presente projeto visa identificar alvos terapêuticos e marcadores biológicos de progressão para a COVID-19, compreender a interação patógeno-hospedeiro e, finalmente, colaborar com a construção de painéis de risco para a doença.

**Hipótese:** Existem variantes alélicas e genes que predisponem a um determinada forma clínica do COVID19.

**Desenho do estudo:** Serão coletadas células das vias respiratórias (swab) de indivíduos adultos (18-60 anos) com SARS-CoV-2 e sintomas leves (n=500) ou em estado grave/crítico (n=500). Os indivíduos serão recrutados em hospitais para a COVID-19 em Pernambuco, Brasil. A



INSTITUTO AGGEU  
MAGALHÃES (IAM)



Continuação do Parecer: 4.263.871

caracterização clínica será baseada em critérios estabelecidos pela OMS. As amostras serão pareadas de acordo com fatores confundidores conhecidos para a COVID-19. O DNA será extraído de todas as amostras e RNA de 20 indivíduos de cada grupo. Serão realizadas análises transcriptômicas para identificação das principais vias associadas à gravidade da COVID-19. Será então avaliado se SNPs em genes de vias relacionadas com a gravidade da COVID-19 são determinantes para o desfecho em adultos. Por fim, será realizado o exoma de 10 casos pediátricos (1 a 10 anos) com síndrome inflamatória multissistêmica pelo SARS-CoV-2 (Soc.Bras.Ped.), visando a identificação de variantes determinantes para essa condição em crianças. Para tanto caracterizamos os seguintes grupos de estudo: Grupos de estudo:

Grupo 1: Pacientes assintomáticos: Critérios de inclusão: Indivíduos com nenhum sintoma associado ao quadro de infecção aguda provocado pelo vírus e teste positivo para COVID19, através de teste rápido Imunocromatográfico/ELISA (IgG ou IgM) e/ou RT-PCR que detecta material genético do vírus. Critérios de exclusão: Indivíduos com sintoma associado ao quadro de infecção aguda provocado por outros vírus respiratórios.

Grupo 2: Pacientes sintomáticos: Critérios de inclusão: Indivíduos com sintomas associados ao quadro agudo viral em isolamento social ou enfermaria (geralmente tosse, falta de ar, febre, astenia, mantendo PO<sub>2</sub>>92%), com testes rápido Imunocromatográfico/ELISA (IgG ou IgM) e/ou teste molecular (RT-PCR) positivos para COVID19. Critérios de exclusão: Indivíduos com quadro sintomático associado a outros vírus respiratórios.

Grupo 3: Pacientes sintomáticos graves: Critérios de inclusão: Indivíduos com sintomas associados aos quadro agudo viral em UTI com critérios para indicação de intubação (geralmente tosse, falta de ar, febre, astenia, mantendo PO<sub>2</sub><92%), com teste rápido Imunocromatográfico/ELISA (IgG ou IgM) positivo para COVID19, e/ou teste molecular positivo (RT-PCR). Critérios de exclusão: Indivíduos com quadro sintomático associado a outros vírus respiratórios.

Grupo 4: Pacientes pediátricos: Critérios de inclusão: Indivíduos com sintomas associados aos quadro agudo viral associado a Síndrome inflamatória multissistêmica de acordo com nota técnica da sociedade brasileira de pediatria com teste rápido Imunocromatográfico/ELISA (IgG ou IgM) positivo para COVID19, e/ou teste molecular positivo (RT-PCR). Critérios de exclusão: Indivíduos com quadro sintomático associado a



Continuação do Parecer: 4.263.871

#### Recomendações:

Entregas de relatórios parciais e final devem ser feitas via notificação. Os relatórios parciais devem ser apresentados, pelo menos, semestralmente. Qualquer alteração no protocolo no decorrer da pesquisa, como também mudança de equipe, devem ser informados via emenda. Todas as ações deve ser realizadas via Plataforma Brasil.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Respostas às Pendências ao parecer 4.254.417 foram acatadas, não restando pendências nessa última versão do protocolo.

Conclusão: O Comitê avaliou e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012 e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP.

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1562178.pdf	03/09/2020 12:20:08		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID_19_Project.doc	03/09/2020 12:19:39	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.doc	03/09/2020 12:17:06	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_COVID_RESPONS_MENOR_LUYDSON_LIMPO.doc	03/09/2020 12:16:43	LUYDSON RICHARDSON SILVA VASCONCELOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_COVID_RESPONS_MENOR_LUYDSON.doc	03/09/2020 12:16:34	LUYDSON RICHARDSON SILVA VASCONCELOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TALE_COVID_LUYDSON_MENOR_IDADE_LIMPO.doc	03/09/2020 12:16:22	LUYDSON RICHARDSON	Aceito





INSTITUTO AGGEU  
MAGALHÃES (IAM)



Continuação do Parecer: 4.263.871

Justificativa de Ausência	TALE_COVID_LUYDSON_MENOR_IDA DE LIMPO.doc	03/09/2020 12:16:22	VASCONCELOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_COVID_LUYDSON_MENOR_IDA DE.doc	03/09/2020 12:16:13	LUYDSON RICHARDSON SILVA VASCONCELOS	Aceito
Outros	Biorrepositorio.doc	03/09/2020 12:14:44	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_COVID_LUYDSON_LIMPO.doc	26/08/2020 14:18:53	LUYDSON RICHARDSON SILVA VASCONCELOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_COVID_LUYDSON.doc	26/08/2020 14:18:46	LUYDSON RICHARDSON SILVA VASCONCELOS	Aceito
Outros	Declaracao_de_compromisso.doc	20/08/2020 14:27:35	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Outros	Protocolo_CIBIO.pdf	05/08/2020 14:32:36	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_ass.pdf	05/08/2020 14:19:07	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_IAM.pdf	15/07/2020 12:58:43	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_UNIVASF.pdf	13/07/2020 16:41:50	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_RHP.pdf	13/07/2020 16:41:39	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_HUOC.pdf	13/07/2020 16:41:32	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anuencia_dos_Participantes.pdf	13/07/2020 16:21:48	LUYDSON RICHARDSON SILVA	Aceito

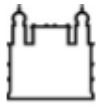
**Situação do Parecer:**

Aprovado

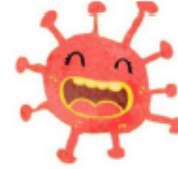
**Necessita Apreciação da CONEP:**



## ANEXO C - TERMO DE ASSENTIMENTO E ESCLARECIDO (TALE) MENOR DE IDADE



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
 Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães



Meu nome é Coronavirus



### TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE) (MENOR DE IDADE)

Prezado participante,

Olá Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa desenvolvida no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Fundação Oswaldo Cruz (CPqAM/FIOCRUZ), sob coordenação do Professor Dr. Luydson Richardson da Silva Vasconcelos.

#### Sobre essa pesquisa

Verificar se alguma coisa que você tem no seu organismo pode ajudar para descobrir formas de você melhorar.

#### Por que você está sendo convidado

O convite a sua participação se deve pelo fato, de estar com o coronavírus no seu corpo.

Sua participação é voluntária, isto é, ela não é obrigatória, e você pode decidir se quer ou não participar, bem como retirar sua participação da pesquisa ou suas amostras e dados coletados no prontuário a qualquer momento. Você não será prejudicado de nenhuma maneira caso decida não participar, ou desistir da mesma, **seu acompanhamento médico, hospitalar e ou laboratorial não será prejudicado se desistir de continuar na pesquisa ou não quiser participar.** Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa.

A sua participação na pesquisa que estamos fazendo será mantida em segredo.

#### Formas para garantir o segredo das informações coletadas

Qualquer informação que possa identificá-lo será retirado dos resultados da pesquisa, e o material será guardado em local seguro.

A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá perguntar ao pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, que poderá ser feito através dos meios de contato contidos neste Termo.

#### Como será a coleta do material para a pesquisa ?

A sua participação será através da coleta de um cotonete no buraco do nariz, que já é realizado para detecção do coronavírus e de informações de onde seu médico anota seu estado de saúde (prontuário). O procedimento para coletar o material será realizado por uma pessoa que já faz isso com muito cuidado, talvez você sinta um leve desconforto. **O seu cotonete com o material obtido ficará guardado durante a pesquisa, sendo jogado fora no fim da pesquisa.**

#### Benefícios da sua participação na pesquisa

Essa pesquisa pode trazer benefícios se for provado que o problema relacionado ao sistema de defesa é importante, mas no momento, esse fato está sendo avaliado;

Página 1 de 2

Rubrica pesquisador: \_\_\_\_\_

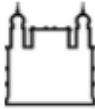
Rubrica participante: \_\_\_\_\_

Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária - Campus da UFPE

Recife - PE - CEP: 50.670-420

Telefones: (81) 2101.2500 / 2101.2600 Fax (81) 3453-1911

www.cpqam.fiocruz.br



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

**Previsão de riscos ou desconfortos**

Você poderá sentir um pequeno desconforto na coleta com o cotonete no seu nariz, mas isso será minimizado ao máximo, não havendo qualquer outro risco em participar da pesquisa.

**Sobre divulgação dos resultados da pesquisa**

Os resultados da pesquisa serão utilizados para publicar informações científicas importantes para melhorar o conhecimento da doença causada pelo Sars-Cov-2 os dados pessoais serão mantidos em segredo não sendo divulgada nenhuma informação;

**Observações:**

Este Termo é redigido em duas vias (não será fornecida cópia ao sujeito, mas sim outra via), sendo uma para o participante e outra para o pesquisador. E todas as páginas deverão ser rubricadas pelo participante da pesquisa e pelo pesquisador responsável (ou pessoa por ele delegada e sob sua responsabilidade), com ambas as assinaturas apostas na última página.

**Está garantido o ressarcimento e descrito como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes (Res. 466/2012 do CNS, Item IV.3g), além de garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa ((Res. 466/2012 do CNS, Item IV.3h).**

Tel/fax - 55 81 2101-2639

E-Mail: [comiteetica@cpqam.fiocruz.br](mailto:comiteetica@cpqam.fiocruz.br)

<http://www.cpqam.fiocruz.br/>

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-FIOCRUZ-PE

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, s/n - Campus da UFPE - Cidade Universitária | Recife/PE - Brasil | CEP: 50.740-465

Nome e Assinatura do Pesquisador – (pesquisador do campo)

Luydson Richardson Silva Vasconcelos

e-mail: [luydson.vasconcelos@cpqam.fiocruz.br](mailto:luydson.vasconcelos@cpqam.fiocruz.br)

Fone: 81 996452018

Recife, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

(Assinatura do participante da pesquisa)

Nome do participante: \_\_\_\_\_

Página 2 de 2

Rubrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rubrica participante: \_\_\_\_\_

Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária - Campus da UFPE

Recife - PE - CEP: 50.670-420

Telefones: (81) 2101.2500 / 2101.2600 Fax (81) 3453-1911

[www.cpqam.fiocruz.br](http://www.cpqam.fiocruz.br)

## ANEXO D - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (RESPONSÁVEL PELO PARTICIPANTE MENOR DE IDADE)



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
 Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (RESPONSÁVEL PELO PARTICIPANTE MENOR DE IDADE)

O menor \_\_\_\_\_, sob sua responsabilidade, está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **Identificação de fatores genéticos determinantes para evolução das formas clínicas do COVID-19 em crianças e adultos**. Nesta pesquisa, pretendemos identificar características do sangue que podem ser importantes no desenvolvimento de uma doença pior da COVID-19. O motivo que nos leva a pesquisar esse assunto é compreender porque as pessoas têm diferentes formas da doença (menos grave a mais grave) após a infecção pelo SARS-CoV-2. Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): Coleta de Swab nasal (cotonete no nariz) e de informações da ficha onde são anotadas as informações clínicas do menor. O procedimento para coletar o material da pesquisa já é feito rotineiramente para diagnóstico e será realizado por pessoas treinadas para isso. Para participar desta pesquisa, o menor sob sua responsabilidade não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, ele tem assegurado o direito à indenização. Ele será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. O (A) Sr. (a), como responsável pelo menor, poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação dele a qualquer momento. A participação dele é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma como é atendido (a) pelo pesquisador que irá tratar a identidade do menor sob sigilo absoluto. O risco por nós avaliado para o paciente será mínimo, exceto um pequeno desconforto na coleta de material biológico nasal, uma vez que a coleta é a menos invasiva possível e realizada por profissionais capacitados para tal fim, não havendo qualquer outro risco em participar da pesquisa. A pesquisa contribuirá para o entendimento do sistema de defesa na doença do COVID-19. Os resultados desta pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5(cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. A qualquer momento pode ser retirado a guarda das amostras e os dados coletados do prontuário e é garantido o ressarcimento das despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes (Res. 466/2012 do CNS, Item IV.3g).

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_, responsável pelo menor \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar a decisão do menor sob minha responsabilidade de participar, se assim o desejar. Recebi uma via original

Página 1 de 2

Rubrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rubrica participante: \_\_\_\_\_



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

“Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do IAM. O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade do sujeito a ser pesquisado.

**Observações:**

Este Termo é redigido em duas vias (não será fornecida cópia ao sujeito, mas sim outra via), sendo uma para o participante e outra para o pesquisador. E todas as páginas deverão ser rubricadas pelo participante da pesquisa e pelo pesquisador responsável (ou pessoa por ele delegada e sob sua responsabilidade), com ambas as assinaturas apostas na última página.

*Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar:*

Tel/fax - 55 81 2101-2639

E-Mail: [comiteetica@cpqam.fiocruz.br](mailto:comiteetica@cpqam.fiocruz.br)

<http://www.cpqam.fiocruz.br/>

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-FIOCRUZ-PE

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, s/n - Campus da UFPE - Cidade Universitária | Recife/PE - Brasil | CEP: 50.740-465

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_ .

\_\_\_\_\_  
Assinatura do(a) participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do(a) pesquisador(a)

**CONTATOS DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL :**

Nome: Luydson Richardson Silva Vasconcelos

Endereço: Rua prof Otavio de Freitas

CEP: 52.041-120/ Recife-PE

Fone: (.81)2101-2574

E-mail: [luydson.vasconcelos@fiocruz.br](mailto:luydson.vasconcelos@fiocruz.br)

Página 2 de 2

Rubrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rubrica participante: \_\_\_\_\_

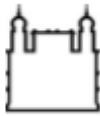
Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária - Campus da UFPE

Recife - PE - CEP: 50.670-420

Telefones: (81) 2101.2500 / 2101.2600 Fax (81) 3453-1911

[www.cpqam.fiocruz.br](http://www.cpqam.fiocruz.br)

**ANEXO E - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE**



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
 Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Prezado participante,

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa para avaliar a **Identificação de fatores genéticos determinantes para evolução das formas clínicas do COVID-19 em crianças e adultos a ser desenvolvida no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Fundação Oswaldo Cruz (CPqAM/FIOCRUZ)**, sob coordenação do Professor Dr. **Luydson Richardson da Silva Vasconcelos**.

#### **Sobre o objetivo central**

Identificar características da genética dos indivíduos que são determinantes para o desenvolvimento de formas graves na infecção pelo SARS-CoV-2.

#### **Por que o participante está sendo convidado (critério de inclusão)**

O convite a sua participação se deve pelo fato da pesquisa se dar com a inclusão de pacientes, infectados com Sars-COV-2 nos Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC), Hospital Universitário Unifaf e Hospital Real Português.

Sua participação é voluntária, isto é, ela não é obrigatória, e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como retirar sua participação ou suas amostras e dados coletados no prontuário a qualquer momento. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desistir da mesma, **seu acompanhamento médico, hospitalar e ou laboratorial não será prejudicado se ele desistir de continuar na pesquisa ou não quiser participar**. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas.

#### **Mecanismos para garantir a confidencialidade e a privacidade**

Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e o material será armazenado em local seguro.

A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

#### **Procedimentos que serão utilizados na pesquisa**

A sua participação consistirá na coleta de 1 tubo de sangue 4ml (aproximadamente 1 colher de sopa) e de informações do seu prontuário médico. O procedimento para coletar o material da pesquisa já é considerado de rotina para o seu diagnóstico e será realizado por profissionais treinados para tanto. **O material genético obtido ficará armazenado durante a pesquisa, sendo descartado ao final da pesquisa.**

#### **Benefícios diretos (individuais ou coletivos) ou indiretos aos participantes da pesquisa**

Essa pesquisa pode trazer benefícios se for provado que o problema genético relacionado ao sistema de defesa é importante, mas no momento, esse fato está sendo avaliado;

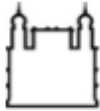
Página 1 de 2

Rubrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rubrica participante: \_\_\_\_\_

Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária - Campus da UFPE  
 Recife - PE - CEP: 50.670-420  
 Telefones: (81) 2101.2500 / 2101.2500 Fax (81) 3453-1911  
 www.cpqam.fiocruz.br





Ministério da Saúde  
 FIOCRUZ  
 FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
 Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

**Previsão de riscos ou desconfortos**

O risco por nós avaliado para o paciente será mínimo, exceto um pequeno desconforto na coleta de material biológico nasal, uma vez que a coleta é a menos invasiva possível, não havendo qualquer outro risco em participar da pesquisa.

**Sobre divulgação dos resultados da pesquisa**

Os resultados da pesquisa serão utilizados para publicar informações científicas importantes para melhorar o conhecimento da doença causada pelo Sars-Cov-2 e que meus dados serão mantidos em segredo não sendo divulgada nenhuma informação que possa me identificar;

"Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do IAM. O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade do sujeito a ser pesquisado.

**Observações:**

Este Termo é redigido em duas vias (não será fornecida cópia ao sujeito, mas sim outra via), sendo uma para o participante e outra para o pesquisador. E todas as páginas deverão ser rubricadas pelo participante da pesquisa e pelo pesquisador responsável (ou pessoa por ele delegada e sob sua responsabilidade), com ambas as assinaturas apostas na última página.

Está garantido o ressarcimento e descrito como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes (Res. 466/2012 do CNS, Item IV.3g), além de garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa ((Res. 466/2012 do CNS, Item IV.3h).

Tel/fax - 55 81 2101-2639

E-Mail: [comiteetica@cpqam.fiocruz.br](mailto:comiteetica@cpqam.fiocruz.br)

<http://www.cpqam.fiocruz.br/>

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-FIOCRUZ-PE

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, s/n - Campus da UFPE - Cidade Universitária | Recife/PE - Brasil | CEP: 50.740-465

Nome e Assinatura do Pesquisador – (pesquisador do campo)

Luydson Richardson Silva Vasconcelos

e-mail: [luydson.vasconcelos@cpqam.fiocruz.br](mailto:luydson.vasconcelos@cpqam.fiocruz.br)

Fone: 81 996452018

Recife, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

(Assinatura do participante da pesquisa)

Nome do participante: \_\_\_\_\_

Página 2 de 2

Rubrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rubrica participante: \_\_\_\_\_

Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária - Campus da UFPE

Recife - PE - CEP: 50.670-420

Telefones: (81) 2101.2500 / 2101.2600 Fax (81) 3453-1911

[www.cpqam.fiocruz.br](http://www.cpqam.fiocruz.br)