

Xavier Louis Edouard Michel

Covid-19: alternativas terapêuticas e os seus efeitos adversos

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2021

Xavier Louis Edouard Michel

Covid-19: alternativas terapêuticas e os seus efeitos adversos

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2021

Xavier Louis Edouard Michel

Covid-19: alternativas terapêuticas e os seus efeitos adversos

Orientadora: Professora Doutora Carla Sousa e Silva

Coorientadora: Professora Doutora Ana Cristina Vinha

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa

como parte dos requisitos para obtenção de grau de

Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Xavier Louis Edouard Michel

RESUMO

A COVID-19 é uma doença emergente, reportada pela primeira vez em 2019, e responsável pela atual pandemia. O objetivo deste trabalho de revisão bibliográfica passa por estudar as alternativas terapêuticas e profiláticas, disponíveis e promissoras, que podem ser utilizadas no combate ao SARS-CoV-2, assim como os seus efeitos adversos na saúde humana.

Muitas abordagens têm sido propostas, investigadas e usadas pela comunidade científica para o combate a esta pandemia, incluindo antivirais, antimaláricos, antiparasitários, antibióticos, imunoterapia, vacinas, entre outras. Algumas destas opções parecem ter eficácia e segurança, dependendo do estágio da doença (estágio de prevenção, estágio inicial, estágio tardio). Contudo, atualmente ainda não há cura conhecida para a doença COVID-19, mas várias abordagens terapêuticas ou profiláticas continuam em fase de desenvolvimento. Por exemplo, a Organização Mundial de Saúde prossegue a realização de ensaios clínicos de medicamentos, já usados para outras doenças, para tratar a covid-19.

Embora a vacinação, amplamente distribuída nos países mais ricos, pareça ser uma arma segura e eficaz para controlar esta doença, é essencial torná-la igualmente acessível a países de renda baixa / média. A economia é um fator importante a ter em conta na situação atual, decisivo para garantir que, a nível global, não deve haver falta de profilaxia nem tratamento, de forma a que todos os esforços sejam feitos para controlar a COVID-19.

Palavras-chave: Alternativas terapêuticas; Profilaxia; Covid-19; SARS-CoV-2; Efeitos adversos.

ABSTRACT

COVID-19 is an emerging disease, first reported in 2019, and responsible for the current pandemic. The aim of this bibliographic review work is to study the available and promising therapeutic and prophylactic alternatives that can be used to combat SARS-CoV-2, as well as its adverse effects on human health.

Many approaches have been proposed, investigated and used by the scientific community to fight this pandemic, including antivirals, antimalarials, antiparasitics, antibiotics, immunotherapy, vaccines, among others. Some of these options appear to have efficacy and safety depending on the stage of the disease (prevention stage, early stage, late stage). However, there is currently no known cure for COVID-19 disease, but several therapeutic or prophylactic approaches are still under development. For example, the World Health Organization continues to carry out clinical trials of drugs, already used for other diseases, to treat covid-19.

Although vaccination, widely distributed in richer countries, appears to be a safe and effective weapon to control this disease, it is essential to make it equally accessible to low/middle income countries. Economy is an important factor to take into account in the current situation, decisive to ensure that, globally, there should be no lack of prophylaxis or treatment, so that every effort is made to control COVID-19.

Keywords: Therapeutic alternatives; Prophylaxis; Covid-19; SARS-CoV-2; Adverse effects.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela confiança, amor e apoio. Ao meu pai, por ser a minha inspiração para toda a minha vida.

A toda minha família e aos meus preciosos irmãos, por todos as vezes que estive ausente nestes 5 anos.

Aos meus sogros pela disponibilidade, carinho e incentivo sem par.

A Léa, que me apoiou e sempre me motivou.

À minha orientadora, Prof. Carla Sousa e Silva, pela sabedoria e disponibilidade dedicados à orientação deste trabalho e, sobretudo, pela força nas alturas de desânimo.

A todos os professores que tive o prazer de conhecer e que me ensinaram durante estes 5 anos passados em Portugal.

À Universidade Fernando Pessoa, para me ter dado a oportunidade de realizar o meu sonho.

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| RESUMO | v |
| ABSTRACT | vi |
| AGRADECIMENTOS | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| ÍNDICE DE TABELAS | xii |
| I. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| II. DESENVOLVIMENTO | 6 |
| 1. Coronavírus | 6 |
| i. MERS-CoV, SARS-CoV e SARS-CoV-2 | 7 |
| 2. Alternativas terapêuticas no combate ao SARS-CoV-2..... | 10 |
| i. Antivirais de ação direta..... | 11 |
| a. Inibidores de RNA polimerase dependente de RNA | 11 |
| b. Inibidores da protease..... | 14 |
| c. Outros antivirais..... | 15 |
| ii. Proteína recombinante | 16 |
| iii. Antiparasitários | 16 |
| iv. Antimaláricos | 17 |
| v. Antibióticos | 19 |
| a. Macrólidos | 19 |

| | |
|--|----|
| b. Azitromicina | 20 |
| c. Glicopeptídeos | 20 |
| vi. Fármacos usados no tratamento da gota | 21 |
| vii. Imunoterapia..... | 22 |
| a. Anticorpos monoclonais | 23 |
| b. Anticorpos policlonais..... | 25 |
| c. Plasma de convalescença | 26 |
| 3. Medicamentos à base de plantas..... | 27 |
| 4. Quercetina..... | 29 |
| 5. Vitaminas e oligoelementos..... | 29 |
| i. Vitamina C | 30 |
| ii. Calciferol (metabolito da vitamina D)..... | 31 |
| iii. Selénio e zinco | 32 |
| 6. Terapia celular | 35 |
| i. Células-tronco mesenquimais..... | 35 |
| ii. Células exterminadoras naturais..... | 36 |
| 7. Inibidores das Janus Associated Kinases (JAK1 e JAK2) | 37 |
| 8. Terapia profilática..... | 38 |
| i. Vacinas | 38 |
| a. Vacinas compostas por subunidades recombinantes | 41 |
| b. Vacinas de DNA..... | 42 |

| | |
|--|----|
| c. Vacinas de mRNA | 43 |
| d. Vacinas inativadas e vacinas vivas atenuadas (LAV) | 44 |
| e. Vacinas de partículas semelhantes a vírus | 45 |
| f. Vacinas baseadas em vetores virais replicativos e não replicantes | 45 |
| III. CONCLUSÃO..... | 47 |
| BIBLIOGRAFIA | 48 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 : Representação esquemática do SARS-CoV-2 | 6 |
| Figura 2 : Patogénese do SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 | 9 |
| Figura 3 : Mecanismos farmacológicos moleculares dos potenciais agentes terapêuticos mais utilizados para o tratamento da COVID-19 | 10 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|---|
| Tabela 1: Comparação entre SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 | 8 |
|--|---|

ABREVIATURAS

| | |
|------|--|
| ACE | Enzima conversora de angiotensina, do inglês “angiotensin-converting enzyme” |
| ACE2 | Enzima conversora da angiotensina humana 2 |
| ADCC | Citotoxicidade celular dependente dos anticorpos, do inglês “antibody-dependent cellular cytotoxicity” |
| CoVs | Coronavírus |
| DGS | Direção-Geral da Saúde |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico, do inglês “deoxyribonucleic acid” |
| DPP4 | Dipeptidil Peptidase Humana 4 (ou CD26) |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FiO2 | Fração de oxigênio inspirado, do inglês “fraction of inspired oxygen” |
| HIV | Vírus da imunodeficiência adquirida, do inglês “human immunodeficiency vírus” |
| IFN | Interferão, do inglês “Interferon” |
| IL | Interleucina |
| IVIg | Imunoglobulina intravenosa |
| JAK | Janus quinase, do inglês “Janus Associated Kinase” |
| LAV | Vacinas vivas atenuadas, do inglês “live attenuated vaccines” |
| MERS | Síndrome respiratória do Médio Oriente, do inglês “Middle East respiratory syndrome” |

| | |
|------------------|--|
| MERS-CoV | Coronavírus relacionado com a síndrome respiratória do Médio Oriente, do inglês “Middle East respiratory syndrome-related coronavirus” |
| MSC | Células-tronco mesenquimais do inglês “mesenchymal stem cells” |
| NK | Exterminadoras naturais do inglês “natural killer” |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PaO ₂ | Pressão parcial de oxigênio do inglês “Partial pressure of oxygen” |
| PCR – | Reação em cadeia da polimerase, do inglês “polymerase chain reaction” |
| RBD | Domínio de ligação ao recetor, do inglês “receptor-binding domain” |
| rhACE2 | Enzima conversora de angiotensina humana recombinante 2, do inglês “recombinant human angotensin-converting enzyme 2” |
| RdRp | RNA polimerase dependente de RNA, do inglês “RNA dependent RNA polymerase” |
| RNA | Ácido ribonucleico, do inglês “ribonucleic acid” |
| RSV | Vírus respiratório sincicial, do inglês “respiratory syncytial virus” |
| SARS | Síndrome respiratória aguda grave do inglês “severe acute respiratory syndrome” |
| SARS-CoV | Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave, do inglês “severe acute respiratory syndrome coronavirus” |
| SARS-CoV-2 | Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave, do inglês “severe acute respiratory syndrome coronavirus 2” |
| SDRA | Síndrome de deficiência respiratória aguda |
| STAT | Transdutores de sinal e ativadores de transcrição, do inglês “signal transducer and activator of transcription” |

| | |
|-----|--|
| UCI | Unidades de cuidados intensivos |
| VSV | Vírus da estomatite vesicular recombinante, do inglês “vesicular stomatitis virus” |

I. INTRODUÇÃO

Este trabalho de conclusão de ciclo intitula-se “COVID-19: alternativas terapêuticas e os seus efeitos adversos” e consiste numa revisão bibliográfica. Tem como objetivo estudar as alternativas terapêuticas, disponíveis ou promissoras, para lutar contra o novo coronavírus responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), e seus efeitos adversos para a saúde humana. Tendo em conta a atual pandemia, este tema é de enorme interesse e pertinência para um aluno finalista de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

COVID-19 é uma nova doença emergente global, que afeta humanos direta e indiretamente. Oficialmente os primeiros casos de COVID-19, provocados pelo SARS-CoV-2 e manifestados por pneumonia ou síndrome respiratória aguda grave, foram relatados em Wuhan, na província de Hubei, China, em dezembro de 2019 (Shanmugaraj *et al.*, 2020). De facto, o primeiro grupo de casos relatado foi associado a uma história de exposição no Mercado Atacadista de Frutos do Mar de Huanan (Vida Selvagem), em Wuhan. No entanto, as análises filoepidemiológicas sugerem que o mercado de Huanan não foi a fonte do 2019-nCoV. O vírus foi importado de outro lugar e impulsionado no mercado lotado (Yu *et al.*, 2020). Um estudo italiano refere que anticorpos específicos para o domínio de ligação ao recetor SARS-CoV-2 (RBD) foram detetados em amostras de sangue de pessoas assintomáticas inscritas num ensaio de rastreamento prospetivo para cancro de mama e pulmão, entre setembro de 2019 e março de 2020. Mais concretamente, os anticorpos específicos anti-SARS-CoV-2 RBD foram detetados em 111 dos 959 indivíduos testados (11,6%) (Apolone *et al.*, 2020). No entanto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) só classificou a COVID-19 como uma pandemia global no dia 11 de março de 2020 (Chary *et al.*, 2020).

Desde o aparecimento desta nova doença, que as pessoas tiveram que aprender a adaptar-se para enfrentar a epidemia. Relações humanas, valores humanos, sistemas de saúde, aspetos socioeconómicos, entre outros, tiveram que sofrer alterações (Chen *et al.*, 2020). Por outras palavras, pode-se dizer que todos os setores da sociedade foram afetados. As pessoas foram levadas a pensar muito mais sobre a sua relação com os outros, adotando gestos de barreira no seu comportamento quotidiano. A produção industrial, sendo um

processo em cadeia em que o progresso é interrompido quando apenas um elo da cadeia entra em colapso, foi altamente prejudicada, e o mundo inteiro tem vindo a ser muito afetado economicamente devido à queda da indústria. Além disso, a proibição imposta a relativamente à realização de viagens resultou em perdas económicas para as companhias aéreas e para a indústria do turismo. A nível religioso, houve proibições temporárias de eventos e peregrinações. Também o ensino teve que se adaptar, tendo havido proibição de frequentar escolas e universidades presencialmente, o que dificultou a educação de qualidade. Todas estas mudanças na vida quotidiana afetaram a saúde mental das pessoas, causando tédio, solidão, raiva, ansiedade, depressão e estigma de familiares e amigos (Ali e Alharbi, 2020; Yi *et al.*, 2020).

De acordo com a OMS, a 7 de setembro de 2021, contabilizavam-se no mundo, desde o início da pandemia, 220 904 838 casos confirmados, e destes 4 570 946 eram óbitos. A nível do processo de vacinação, a 6 de setembro 2021, já tinham sido administradas no mundo um total de 5 352 927 296 doses de vacina (WHO, 2021).

A 6 de setembro 2021, segundo a Direção-Geral da Saúde (DGS), Portugal registava, desde o início da pandemia, 1 047 710 casos covid-19 confirmados, 987 935 recuperados, e 17 810 óbitos. Na mesma data, relativamente à situação vacinal, 14 438 815 vacinas já tinham sido administradas, incluindo 8 382 528 primeiras doses e 6 056 287 segundas doses (DGS, 2021).

O SARS-CoV-2, responsável pela COVID-19, é um vírus da família dos coronavírus. Os coronavírus são vírus de RNA de fita simples, de sentido positivo e envelopados, que comumente causam doenças em aves, mamíferos e humanos. O SARS-CoV-2 é o terceiro coronavírus considerado altamente patogénico para humanos, depois do MERS-CoV e do SARS-CoV. O SARS-CoV-2 é sensível aos raios ultravioleta e ao calor. Entre as substâncias que inativam o vírus estão o éter, etanol a 75%, desinfetante contendo cloro, ácido peracético, clorofórmio, entre outros (Chary *et al.*, 2020; Yi *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 originou a pandemia global COVID-19 em decretada em 2020, e demonstrou ter um potencial extremamente alto de disseminação, superior ao do MERS-CoV e do SARS-CoV sendo, no entanto, o SARS-CoV-2 menos mortal. Os agentes causadores de cerca de 15% dos resfriados comuns são coronavírus, considerados não fatais, ao contrário do que acontece quando se trata de SARS e MERS (Yi *et al.*, 2020).

Os sintomas causados por este vírus podem ser leves a graves e, em alguns casos, levar à morte das pessoas infetadas. Sintomas como febre, fadiga, dor de cabeça, vômitos, congestão nasal, coriza, dor muscular, tonturas, anosmia, disgeusia, dor de garganta, rinorreia, dor no peito, diarreia, náusea, tosse (que pode ser seca), falta de ar e pneumonia. Alguns desses sintomas aparecem geralmente entre 2 e 14 dias após a exposição viral. Nos casos mais graves, pode haver dispneia e / ou hipoxemia, uma semana após o início da doença, e/ou o desenvolvimento da síndrome respiratória aguda, choque séptico, acidose metabólica e coagulopatia. Em alguns casos, a doença prevalece após 27 dias. De acordo com um estudo chinês, o período médio de incubação desta patologia é de 5,2 dias. Em pessoas com um estado de saúde mais debilitado, podem ocorrer complicações cardiorrespiratórias, hepáticas, gastrointestinais e neurológicas, podendo ser fatais. Hoje, na comunidade científica, é aceite que a transmissão do vírus entre humanos se dá por espirros, gotículas respiratórias ou pelo contato direto ou indireto com pessoas infetadas, através das mucosas ocular, oral ou nasal, e também através do tubo digestivo. O vírus pode sobreviver de 2 horas a alguns dias em gotículas de espirro ou tosse, no chão ou noutras superfícies. As pessoas assintomáticas também conseguem transmitir o vírus, propagando-o entre humanos (Ali e Alharbi, 2020; Li *et al.*, 2020a; Shanmugaraj *et al.*, 2020; Vijayvargiya *et al.*, 2020; Yi *et al.*, 2020).

Um estudo epidemiológico francês, divulgado em dezembro de 2020, mostrou que 35% das contaminações dentro da esfera privada ocorrem em casa quando a origem da infeção é conhecida, provindo do cônjuge (64,4%), de um filho (25,1%), do pai ou da mãe (4,8%) ou de outra pessoa (5,6%). Colegas e amigos também são responsáveis pela transmissão do vírus em cerca de 29% e 21%, respetivamente. É especificado no mesmo estudo que 44% das pessoas infetadas sabem qual é a origem da sua infeção. Outra conclusão importante deste estudo é sobre o isolamento dos pacientes, sendo que apenas 54% dos inquiridos ficaram isolados desde os primeiros sintomas (Galmiche *et al.*, 2020).

Do lado da prevenção e gestão para controlar a COVID-19, os esforços coletivos do povo e dos governos são essenciais. Para isso, alguns gestos devem ser seguidos no nosso dia a dia, tais como lavar as mãos com sabonete e água, ou desinfetante, cobrir a boca e o nariz com máscara, lavar bem os alimentos, desinfetar locais de residência regularmente (a limpeza frequente das superfícies com o uso de desinfetante permite controlar a epidemia), evitar ou limitar ao máximo as interações sociais, a frequência de locais públicos, os transportes públicos comuns e viagens (Ali e Alharbi, 2020).

A doença representa uma ameaça mundial emergente que tem vindo a sobrecarregar a capacidade global de assistência médica. É por isso que é imperativo estudar e desenvolver tratamentos farmacológicos adequados para a prevenção e o tratamento da COVID-19. Até ao momento, nenhum tratamento é oficialmente reconhecido como eficaz contra o vírus SARS-CoV-2, ou seja, não há um padrão de entendimento claramente definido (Vijayvargiya *et al.*, 2020). Isso leva a comunidade científica e, nomeadamente a indústria farmacêutica, a tentar desenvolver várias estratégias de tratamento e controlo da COVID-19, com base em antivirais e vacinas, essencialmente. De facto, desde o aparecimento deste novo patógeno, que tem havido uma grande mobilização da comunidade científica para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas direcionadas para enfrentar o SARS-CoV-2. Entre as mais utilizadas e/ou experimentadas, conhecidas até ao momento, podem citar-se:

- antivirais de ação direta (Chary *et al.*, 2020);
- proteínas recombinantes (Chary *et al.*, 2020);
- antiparasitários (Sharun *et al.*, 2020);
- antimaláricos (Million *et al.*, 2020);
- antibióticos (Jean, Lee e Hsueh, 2020);
- medicamentos usados no tratamento da gota (Scarsi *et al.*, 2020);
- imunoterapia (Babaei *et al.*, 2021);
- medicina chinesa (Jean, Lee e Hsueh, 2020);
- homeopatia (Ali e Alharbi, 2020);
- antimicrobianos (Ali e Alharbi, 2020);
- vitaminas e oligoelementos (Ali e Alharbi, 2020);
- terapia celular (Golchin, 2021);
- inibidores das Janus Kinase (Satarker *et al.*, 2021).

Como terapia profilática, é fundamental referirem-se as vacinas, com resultados promissores (Black *et al.*, 2020; Tregoning *et al.*, 2020).

É de notar que, até ao momento, nenhum agente terapêutico foi aprovado para uso comercial em humanos, pois não há tratamento específico disponível para SARS-CoV-2. (Song *et al.*, 2019; Xie e Chen, 2020). Diferentes abordagens têm sido usadas para controlar esta doença, incluindo o tratamento por oxigenoterapia e infusões de fluidos intravenosos, sempre que necessário (Ali e Alharbi, 2020). É, no entanto, de lembrar que a primeira linha de defesa a usar para diminuir o risco de infeção é o uso de máscaras faciais e as vacinas. As vacinas são vistas como parte da estratégia para controlar efetivamente a pandemia COVID-19 e para permitir o retorno aos padrões anteriores de trabalho, escolaridade e socialização (Tregoning *et al.*, 2020). Um ensaio realizado a nível mundial, designado SOLIDARITY e apoiado pela OMS, teve como objetivo investigar os fármacos promissores existentes para lutar contra o COVID-19 (Brown e McCullough, 2020). Este ensaio permitiu concluir que a terapêutica com remdesivir, hidroxicloroquina, lopinavir ou interferão teve pouco ou nenhum efeito em pacientes com COVID-19 hospitalizados, a avaliar pela mortalidade geral, início da ventilação e duração do internamento (WHO Solidarity Trial Consortium, 2021).

É de referir um fenómeno importante, associado a esta situação de pandemia, que surgiu pela necessidade desesperada de uma resposta rápida e eficaz para lutar contra o vírus, por parte de algumas pessoas, que recorreram a soluções com pouca ou nenhuma evidência de eficácia, o que em alguns casos causou mesmo a sua morte. Informações falsas veiculadas pelas redes sociais também contribuíram para agravar este fenómeno (Chary *et al.*, 2020).

Para cumprir os objetivos propostos, realizou-se uma revisão bibliográfica sobre o tema, tendo-se efetuado uma pesquisa entre outubro de 2020 e setembro de 2021, através de motores de busca como PubMed, Science Direct, b-On e Google Académico. Os critérios utilizados na seleção dos artigos resultantes da pesquisa científica foram o interesse para o tema, limitando a pesquisa a artigos científicos e estudos escritos em inglês, francês e português. As palavras-chave utilizadas foram: *covid 19, therapeutics, treatment, toxicity, SARS-CoV-2 treatment, COVID-19 treatment and toxicity, SARS and MERS, SARS MERS treatment, efficacy and safety drug meta-analysis Covid 19, efficacy and safety vaccine meta-analysis Covid 19*. Uma vez que a doença apareceu pela primeira vez

em dezembro de 2019, a pesquisa limitou-se essencialmente à busca de artigos científicos publicados dessa data até à conclusão da escrita deste documento, embora se possa ter usado ocasionalmente alguma bibliografia mais antiga, desde que com relevância para o tema.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Coronavírus

Os coronavírus causam principalmente infecções do trato respiratório e gastrointestinal e são geneticamente classificados em quatro gêneros principais: α -coronavírus, β -coronavírus, γ -coronavírus e δ -coronavírus. Seis tipos de coronavírus humanos já foram identificados, entre os quais HCoV-NL63 e HCoV-229E pertencentes ao gênero α e HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV e MERS-CoV pertencentes ao gênero β . Os coronavírus não ganharam atenção mundial até ao aparecimento de SARS em 2002, seguida pelo MERS em 2012 e, mais recentemente, pela pandemia de COVID-19 (Wu *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 tem quatro proteínas estruturais principais, incluindo glicoproteína de superfície de spike (S), proteína de revestimento (E), proteína de membrana (M) e proteína de núcleo (N). A Figura 1 mostra a estrutura do SARS-CoV-2 (Tsai *et al.*, 2021).

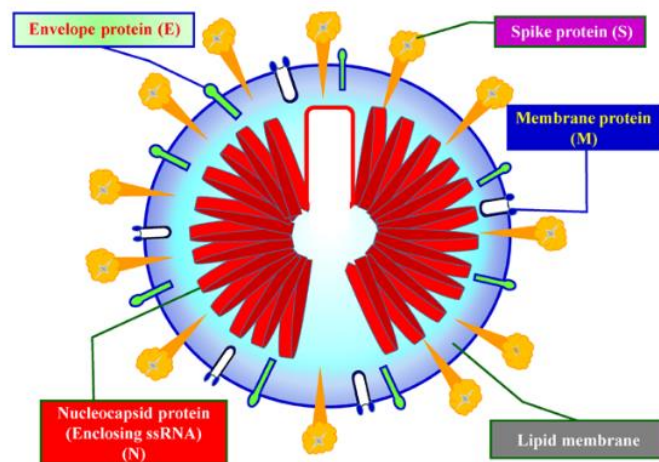


Figura 1 : Representação esquemática do SARS-CoV-2 (Retirado de Tsai *et al.*, 2021).

i. MERS-CoV, SARS-CoV e SARS-CoV-2

Acredita-se que os coronavírus já existem há séculos, mas as suas origens permanecem obscuras. Geralmente, os coronavírus (CoVs) são considerados patógenos respiratórios relativamente inofensivos para os humanos. Contudo, o aparecimento do SARS (em 2002) e do MERS (em 2012), ambos de origem zoonótica, que cruzaram a barreira das espécies, resultou em altas taxas de patogenicidade e mortalidade em populações humanas.

O mecanismo de transmissão de CoVs de animais para humanos não é bem conhecido, mas acredita-se que a transmissão ocorra através do contato direto com hospedeiros animais intermediários ou do consumo direto do animal ou de produtos derivados. A transmissão de pessoa para pessoa do SARS-CoV e MERS-CoV ocorre principalmente por meio da transmissão nosocomial, principalmente durante a hospitalização (Yin e Wunderink, 2018; Song *et al.*, 2019).

É conhecido que os CoVs mutam. As taxas de mutação em CoVs humanos são moderadas a altas em comparação com outros vírus de RNA de fita simples, com taxas médias de substituição de cerca de 10^{-4} substituições por local a cada ano (Awadasseid *et al.*, 2021). A recombinação ocorre quando dois ou mais vírus relacionados invadem a mesma célula e resultam em diferenças genéticas nos vírus descendentes, o que pode afetar a função do hospedeiro, a virulência, a evasão imune do hospedeiro e a resistência aos antivirais (Awadasseid *et al.*, 2021).

No caso do SARS-CoV-2, existem diferentes genótipos, devido a mutações na cadeia de aminoácidos do vírus. Foi relatado que as mutações nos epítomos principais podem teoricamente levar à reinfeção (Brouqui *et al.*, 2021). Este ponto é particularmente importante para a proteína spike, por ser alvo de vírus resultantes da bioengenharia (Jackson *et al.*, 2020).

A tabela 1 resume as principais características dos coronavírus SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2.

Tabela 1: Comparação entre SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 (Song *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020; Petrosillo *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020; Yao *et al.*, 2020; Tsai *et al.*, 2021).

| | SARS-CoV | MERS-CoV | SARS-CoV-2 |
|--|--|---|---|
| Origem | Província de Guangdong, China (início em 2002) | Península Arábica (início em 2012) | Wuhan, Província de Hubei, China (início em 2019) |
| Género | β | β | β |
| Recetor predominante | Enzima conversora da angiotensina humana 2 (ACE2), e CD209L como recetor alternativo | Dipeptidil peptidase humana 4 (DPP4 ou CD26) | Enzima conversora da angiotensina humana 2 (ACE2) |
| Número total de infetados informado à OMS | Mais de 8098 pessoas | 2254 (de 2012 a 16 de setembro de 2018) | > 48,3 milhões de pessoas infetadas em cerca de 200 países (em 2 de novembro de 2020) |
| R0 (número básico de reprodução) | Entre 1,7 e 1,9 | <1 | Entre 2 e 2,5 |
| Letalidade | 9,5% | 34,4% | 2,3% |
| Reserva natural possível | Bastão | | |
| Hospedeiro intermediário | Palmito civeta | Camelo dromedário | Desconhecido |
| Sintomas | Sintomas semelhantes - incluem principalmente febre, dor de cabeça, mialgia, tosse, falta de ar, dor de garganta, náuseas, vômitos e diarreia. Em casos graves, pode surgir síndrome do desconforto respiratório agudo, lesão renal aguda e morte. | | |
| Tratamentos possíveis | <ul style="list-style-type: none"> - Inibidores de protease hospedeira (Remdesivir, Ribavirin, Galidesivir, Lopinavir, Bananinas, derivados das 5-hidroxicromonas, Dissulfiram) - Inibidores de protease viral (Ribavirin, Galidesivir) - Anticorpos monoclonais e policlonais - Plasma convalescente - Interferões | <ul style="list-style-type: none"> - Inibidores de protease hospedeira (Favipiravir, Ribavirin, Penciclovir, Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, Darunavir) - Inibidores de protease viral (Remdesivir) - Anticorpos monoclonais e policlonais | <ul style="list-style-type: none"> - Inibidores de protease hospedeira (Remdesivir, Ribavirin, Galidesivir, Lopinavir, Ritonavir, Mesilato de camostato) - Inibidores de protease viral (Favipiravir) - Anticorpos monoclonais e policlonais - Plasma convalescente |

| | | | |
|--|--|---|-------------------------------|
| | | - Plasma convalescente - Interferões | - Interferões - Cloroquina |
|--|--|---|-------------------------------|

Até ao momento, acredita-se que a infecção provocada por MERS-CoV tem a duração mais longa, sendo o SARS-CoV-2 o mais infeccioso. As infecções por SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 apresentam sintomas semelhantes. SARS-CoV e SARS-CoV-2 são quase idênticos em termos de invasão e autorreplicação, enquanto o MERS-CoV tem alvos diferentes, como se ilustra na figura 2 (Chen *et al.*, 2020).

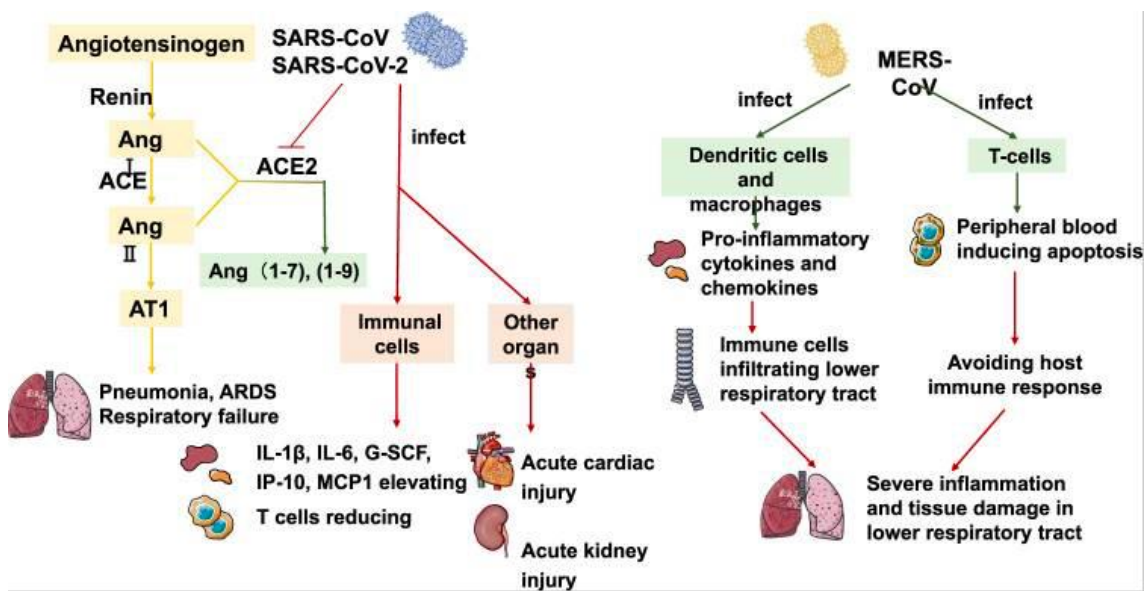


Figura 2 : Patógenese do SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 (Retirado de Chen *et al.*, 2020)

Atualmente ainda não há tratamento específico disponível para SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 ou outras infecções por HCoV. A base do tratamento para pacientes infectados é a terapia sintomática e de suporte para HCoV (Yin e Wunderink, 2018; Song *et al.*, 2019; Xie e Chen, 2020).

O período de incubação do SARS-CoV-2 é estimado entre dois e catorze dias, com média de três a sete dias. De acordo com estes dados, a OMS recomenda uma vigilância de

catorze dias (Li *et al.*, 2020a). A OMS continua a recomendar a quarentena, em compartimento isolado, de qualquer pessoa que tenha estado em contato com um caso confirmado ou provável de infecção por SARS-CoV-2, por 14 dias, desde o último contacto, a fim de reduzir tanto quanto possível o risco de transmissão (OMS, 2021a). Se os sintomas aparecerem durante a quarentena, um teste de triagem deve ser feito. No caso de um teste com resultado positivo, a pessoa deve permanecer isolada por, pelo menos, dez dias a partir da data do resultado (OMS, 2021c).

2. Alternativas terapêuticas no combate ao SARS-CoV-2

Em geral, utilizam-se duas abordagens distintas, quer para prevenir a entrada do vírus nas células hospedeiras, quer para suprimir vários estágios da replicação do vírus dentro das mesmas: utilização de fármacos convencionais e desenvolvimento de novas drogas terapêuticas (Majumder e Minko, 2021).

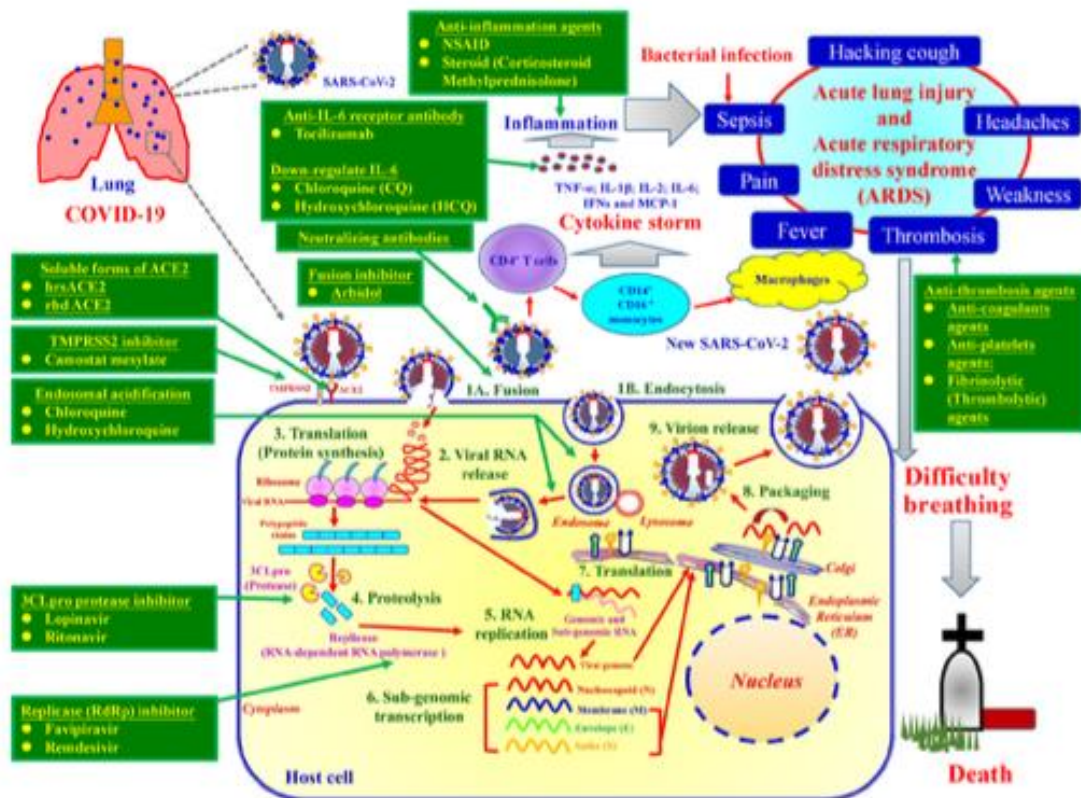


Figura 3 : Mecanismos farmacológicos moleculares dos potenciais agentes terapêuticos mais utilizados para o tratamento da COVID-19 (Retirado de Tsai *et al.*, 2021).

i. Antivirais de ação direta

a. Inibidores de RNA polimerase dependente de RNA

Inibidores de RNA polimerase dependente de RNA são análogos de nucleosídeos, cuja função é interromper a produção de novo RNA viral. A toxicidade que outros análogos de nucleosídeos podem originar, são acidose metabólica (com duração de tratamento superior a um mês ou intoxicação aguda), neuropatia periférica, supressão da medula óssea, pancreatite e miopatia. Parte dessa toxicidade pode estar ligada à disfunção mitocondrial. Não existe um antídoto específico, mas a tiamina, a riboflavina, a L-carnitina e a vitamina C ajudam na recuperação de pacientes com intoxicação grave (Chary *et al.*, 2020).

Remdesivir

O remdesivir tem um amplo espectro de atividade contra muitas famílias de vírus. Este age interrompendo a transcrição do RNA viral. Os estudos realizados com este medicamento têm sido promissores, tanto *in vitro*, quanto *in vivo*, a atenuar a doença ou a curá-la. Contudo, além de ser administrado por via intravenosa, causa efeitos colaterais que podem ser graves em humanos, como náuseas, vômitos, sangramento retal e toxicidade hepática (Jean, Lee e Hsueh, 2020).

É um pró-fármaco metabolizado num análogo do nucleotídeo da adenosina e, de facto, já demonstrou eficácia *in vitro* contra SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 (Chary *et al.*, 2020). Apesar do remdesivir ter uma atividade inibitória da replicação do SARS-CoV-2, ainda é necessária a realização de ensaios para comprovar tanto a eficácia, como a inocuidade (Li *et al.*, 2020a).

Um estudo pouco extenso, realizado em outubro de 2020, mostrou que o remdesivir administrado a doentes COVID-19 adultos, hospitalizados e com sinais de infecção respiratória inferior foi superior ao placebo na redução do tempo de recuperação (Beigel *et al.*, 2020).

Foi relatado que o uso compassivo de remdesivir em pacientes com COVID-19 grave originou uma melhora clínica em 68% dos casos, no entanto, 13% dos doentes morreram. Ainda segundo o mesmo estudo, efeitos adversos como aumento das enzimas hepáticas, diarreia, erupção cutânea, insuficiência renal e hipotensão foram comuns em 60% dos

casos. Uma vez que isso foi feito em uma pequena coorte, estudos mais abrangentes devem ser considerados para confirmar o benefício clínico do remdesivir em pacientes com COVID-19 grave (Grein *et al.*, 2020).

Contudo, há casos de doentes imunocomprometidos, em que, apesar do tratamento com remdesivir, o SARS-CoV-2 persiste. Durante o período de tratamento com remdesivir ocorrem mutações no gene do vírus SARS-CoV-2, alterando aminoácidos que residem principalmente no gene spike e no domínio de ligação ao recetor do vírus, o que explica a resistência à imunidade (Choi *et al.*, 2020).

Por outro lado, um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo com o número de registro NCT04257656, foi realizado para avaliar a eficácia e segurança do remdesivir intravenoso em pacientes adultos com COVID-19 grave. Em ambos os grupos, o uso concomitante foi continuado com o tratamento convencional e o grupo remdesivir não mostrou nenhum efeito clínico ou antiviral significativo em pacientes em comparação com o grupo placebo (Wang *et al.*, 2020b).

Um ensaio realizado a nível mundial e apoiado pela OMS, designado SOLIDARITY, teve como objetivo investigar os fármacos promissores já existentes para lutar contra a COVID-19 (Brown e McCullough, 2020). Este ensaio permitiu concluir que a terapêutica com remdesivir teve pouco ou nenhum efeito em pacientes com COVID-19 hospitalizados, a avaliar pela mortalidade geral, início da ventilação e duração do internamento (WHO Solidarity Trial Consortium, 2021).

Favipiravir

O favipiravir é conhecido por ter uma função inibidora dos vírus da gripe A, B e C (Jean, Lee e Hsueh, 2020). Imita a adenosina e a guanina, sendo um agente antiviral que inibe seletiva e potentemente a RNA polimerase dependente de RNA de vírus de RNA (Chary *et al.*, 2020).

A adição de favipiravir ao protocolo de tratamento não reduziu o número de admissões ou intubações nas unidades de cuidados intensivos ou a mortalidade hospitalar. Também não encurtou o tempo para a recuperação clínica ou o tempo de internamento hospitalar (Solaymani-Dodaran *et al.*, 2021).

Ribavirina

A ribavirina é um análogo da guanosina que interfere na replicação dos vírus de RNA e DNA e tem atividade antiviral direta (interfere na replicação viral) e indireta (estimula o sistema imunológico). Esta molécula já é bem conhecida, barata e acessível em todo o mundo, tendo sido já amplamente utilizada durante as epidemias de SARS e MERS (Khalili *et al.*, 2020).

A ribavirina tem uma ação antivírica contra o vírus da hepatite C, o vírus respiratório sincicial (RSV) e vírus responsáveis pelas febres hemorrágicas. Tem a particularidade de diminuir a concentração da hemoglobina, o que pode complicar o cuidado dos doentes com dificuldade respiratória (Li *et al.*, 2020a) e, como efeito colateral, pode causar anemia (Yang *et al.*, 2020).

Possui uma atividade antiviral de largo espectro, tendo sido já usado em Hong-Kong em associação com esteroides, para combater a epidemia do SARS (Li *et al.*, 2020a). De acordo com o trabalho realizado por Liu *et al.* (2020a), não há evidência direta de benefícios no uso de ribavirina em pacientes com COVID-19, sendo também de referir que os resultados dos estudos que avaliaram o tratamento com este fármaco nas anteriores epidemias de SARS e MERS não evidenciaram uma redução na mortalidade.

Interferão

Interferão- β (ou (IFN β)-1b) é um agente imunomodulador. Demonstrou ação sobre o vírus MERS-CoV (Jean, Lee e Hsueh, 2020). Num ensaio clínico randomizado, o interferão- β -1b mostrou eficácia na melhoria clínica de pacientes de COVID-19 e não provocou efeitos adversos graves. Além disso, parece diminuir a mortalidade associada ao SARS-CoV-2 (Rahmani *et al.*, 2020)

Um outro ensaio clínico randomizado com interferão- β -1a também demonstrou que este fármaco reduz a mortalidade de pacientes com COVID-19, mas refere, no entanto, a possibilidade de efeitos colaterais, como febre, calafrios, mialgias, cefaleias, reação de hipersensibilidade cutânea e problemas neuropsiquiátricos (Davoudi-Monfared *et al.*, 2020).

Num estudo prospetivo não controlado, usou-se interferão- β -1a em associação com hidroxicloroquina e lopinavir/ ritonavir. Esta combinação demonstrou ser benéfica para pacientes infetados com SARS-CoV-2, permitindo uma recuperação rápida, melhoria clínica, inexistência de reações adversas significativas e nenhum registo de mortes durante o período de tratamento (Dastan *et al.*, 2020a)

Por outro lado, o interferão- α (ou IFN- α de tipo I) parece ter a capacidade de inibir a replicação do vírus SARS-CoV-2, estimulando também a imunidade adquirida e inata, o que já foi demonstrado em ensaios clínicos e estudos científicos (Li *et al.*, 2020a).

Um estudo sugere a eficácia do interferão- α -2b no tratamento da COVID-19. De facto, num pequeno grupo de pacientes, foi observada uma diminuição da excreção viral e redução do marcador de inflamação da reação em cadeia da polimerase (PCR) (Zhou *et al.*, 2020).

De acordo com Liu *et al.* (2020a), o interferão não mostrou vantagem na depuração viral (viral clearance) ou no tempo de internamento de pacientes com COVID-19.

b. Inibidores da protease

Inibidores da replicação viral são capazes de impedir que as células infetadas formem novas partículas virais (Chary *et al.*, 2020).

Lopinavir / Ritonavir

São usados para tratar infeções provocadas pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). Lopinavir e ritonavir, em associação ou não com outros antivirais, permitem melhorias da síndrome de deficiência respiratória aguda decorrente dos vírus SARS ou MERS (Li *et al.*, 2020a).

Uma investigação sobre o efeito anti SARS-CoV-2 deste fármaco originou um resultado inconclusivo. Para além disso, mostrou efeitos gastrointestinais adversos, como náuseas, lesões hepáticas, vômitos e diarreia, para além de cefaleias. Contudo, o seu uso parece ter resultado num menor número de óbitos de infetados por SARS-CoV-2 (Jean, Lee e Hsueh, 2020).

Contudo, um ensaio clínico randomizado, realizado em pacientes adultos de SARS-CoV-2 hospitalizados, não mostrou qualquer benefício no uso de lopinavir/ ritonavir, estando estes doentes também a receber tratamento standard, que podia incluir terapia antiviral, suplemento de oxigénio, ventilação não invasiva ou invasiva, corticosteroides, agentes antibióticos, suporte vasopressor, terapia de substituição renal e oxigenação por membrana extracorpórea (Cao *et al.*, 2020a). Babaei *et al.* (2021) também consideraram que não há benefício claro no uso de lopinavir / ritonavir. No entanto, esta combinação de fármacos em associação com ribavirina demonstrou reduzir a mortalidade da SARS, e, no caso da MERS, esta mesma associação mostrou uma redução de 40% do risco de infeção, sem apresentar efeitos adversos (Roberts, Ray e Buckley, 2008; Chary *et al.*, 2020).

c. Outros antivirais

Arbidol ou Umifenovir

É um medicamento já amplamente usado na China e na Rússia no combate ao vírus da gripe. Este medicamento inibe a reprodução do SARS-CoV-2 *in vitro*, e após ter demonstrado modestas provas de eficácia, encontra-se em ensaios clínicos para aplicação na terapêutica do SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2020a).

Umifenovir (arbidol) é um medicamento antiviral que tem sido usado contra certos vírus, como influenza, ébola e hepatite B e C, inibindo o processo de fusão da membrana dos vírus influenza (Kadam e Wilson, 2017).

Huang *et al.* (2021) conduziram uma revisão sistemática e meta-análise para avaliar a eficácia e segurança do umifenovir no tratamento da COVID-19. Mostraram que o umifenovir é seguro e está associado à taxa de PCR negativa mais expressiva, no 14º dia, em pacientes com COVID-19. Porém, não há evidências que apoiem o uso de umifenovir para melhorar os resultados dos pacientes com COVID-19.

ii. Proteína recombinante

APN01 (Apeiron Biologics)

Considerada um inibidor de entrada viral, é uma enzima conversora de angiotensina humana recombinante 2 (rhACE2), que foi desenvolvida pela primeira vez para tratar a SARS de 2002. Esta enzima pode prevenir a entrada do vírus SARS-CoV-2 e reduzir os danos pulmonares. A APN01 demonstrou ser bem tolerada e isenta de efeitos cardiovasculares colaterais. A toxicidade de proteínas recombinantes, em geral, surge da ativação inadvertida do sistema imunológico (imunogenicidade não intencional) e da ligação das proteínas recombinantes a outros recetores de superfície celular, desencadeando cascatas de transdução de sinal celular que não foram corretamente direcionadas (ligação fora do alvo). Além disso, tal pode levar à formação de anticorpos antifármaco que podem ser depositados nos tecidos na forma de complexos imunes (Chary *et al.*, 2020).

iii. Antiparasitários

Ivermectina

A ivermectina parece ter potencial para ser um novo candidato à profilaxia e terapia da COVID-19. Este antiparasitário de largo espectro, pertencente à família das avermectinas, que são compostos produzidos pelo microrganismo *Streptomyces avermitilis*, é usado no tratamento da anguilulose gastrointestinal, filariose linfática e escabiose. O mecanismo antiviral da ivermectina contra vários vírus é conhecido. Esta molécula exerce atividade antiviral de largo espectro contra vários vírus de animais e humanos, incluindo vírus de RNA e DNA. Sabe-se, por exemplo, que, *in vitro*, permite uma redução do RNA de 5000 vezes em 48 horas para células recém-infetadas (Sharun *et al.*, 2020).

Uma vez que o SARS-CoV-2 é um vírus de RNA, a atividade antiviral da ivermectina pode ser mediada pela inibição do transporte nuclear. Parece que a ivermectina reduz a taxa de mortalidade quando usada na dose de 150 µg / kg. Mas, este fármaco apresenta problemas no que toca à sua alta citotoxicidade e baixa solubilidade, que foram superados pelo uso de um sistema de lipossomas utilizado na função de nanotransportador. Isso teve como consequência a redução da citotoxicidade em relação à ivermectina na forma livre.

Além disso, existe a hipótese da ivermectina, em combinação com a hidroxicloroquina, poder ter um efeito sinérgico sobre a SARS-CoV-2 (Sharun *et al.*, 2020).

Um estudo *in vitro* mostrou que a ivermectina conseguiu reduzir 93% do material genético do SARS-CoV-2 em 24 horas e 99,8% após 48 horas. Contudo, para já não há resultados sobre a sua eficácia e segurança em humanos, estando o uso da ivermectina para o tratamento da COVID-19 dependente dos ensaios clínicos que ainda estão a decorrer (Caly *et al.*, 2020; Shih *et al.*, 2020).

iv. Antimaláricos

Cloroquina e Hidroxicloroquina

A cloroquina e a hidroxicloroquina são inibidores da entrada viral. A cloroquina é uma 4-aminoquinolina usada principalmente para tratar a malária, uma doença infecciosa causada por várias espécies de *Plasmodium* (Hempelmann, 2007). A hidroxicloroquina, derivada da cloroquina, desempenha um papel na inibição dos sistemas de sinalização de citocinas pró-inflamatórias (Schrezenmeier e Dörner, 2020), sendo considerada menos tóxica (Chary *et al.*, 2020).

In vitro, a cloroquina tem a capacidade de diminuir a afinidade do recetor ACE2 pela proteína spike do vírus SARS-CoV, e verificou-se que inibe a infeção por SARS-CoV (Vincent *et al.*, 2005), e as homologias de sequência e estrutura entre SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 sugerem que este fármaco pode reduzir a infecciosidade de SARS-CoV-2 e que também pode diminuir a entrada do SARS-CoV-2 nas células hospedeiras (Chary *et al.*, 2020). Contudo, em doses altas, a cloroquina pode causar efeitos colaterais graves, tais como, disritmias ventriculares ou hipocalcemia (Riou *et al.*, 1988). Esta molécula também demonstrou causar anemia, convulsões, depressão do sistema nervoso central, alargamento do intervalo QTc e torsades de pointes (Jaeger *et al.*, 1987; Guly e Driscoll, 1992).

No caso de tratamento de longo prazo, estas duas moléculas podem originar retinopatia, tendo, no entanto, este efeito colateral afetado menos de 1% dos casos (Wolfe e Marmor, 2010).

De facto, a cloroquina é usada já há 70 anos como antipalúdico, sendo um medicamento relativamente seguro e com um custo modesto. Há autores que defendiam que o seu potencial efeito antiviral de largo espectro parecia eliminar com grande eficácia o vírus SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2020a). A cloroquina, agente lisosomótrofo (sensível ao pH endossomal/ lisossomal), é metabolizada pelo citocromo P450 (CYP), enzima que metaboliza outros fármacos, como digitoxina e tamoxifeno, podendo haver interferência. A cloroquina tem um efeito sinérgico na sinalização dos glucocorticoides (ao estabilizar o recetor de glucocorticoides), tendo sido recomendada no tratamento de pacientes com SARS grave. Tem um efeito antiviral de amplo espectro, nomeadamente para os vírus CoV, HIV e influenza A e B. Em células Vero E6, estudadas *in vitro*, a cloroquina inibiu a infeção por SARS-CoV-2, nas fases de entrada e pós-entrada (Yang e Shen, 2020).

A hidroxicloroquina foi usada, no tratamento da COVID-19, sozinha ou em combinação com outros medicamentos, como suplementos (vitamina C, D, zinco), azitromicina, antivirais, anticorpos monoclonais (Babaei *et al.*, 2021). Uma análise retrospectiva de um estudo, realizado em Marselha, França, envolvendo 1061 pacientes com teste positivo para SARS-CoV-2 tratados, pelo menos três dias, com o seguinte protocolo: hidroxicloroquina (200 mg três vezes por dia durante dez dias) + azitromicina (500 mg no dia 1 seguido de 250 mg por dia durante os quatro dias seguintes). Este tratamento resultou numa baixa proporção de pacientes com agravamento da doença, sendo que 0,9% dos mesmos foram transferidos para a unidade de cuidados intensivos e apenas 0,75% faleceram, além de originar uma baixa expressão viral persistente. Ao nível do paciente, o tratamento foi bem tolerado, com apenas 2,4% de eventos adversos, todos leves (Million *et al.*, 2020).

Em março de 2020, Gautret *et al.* realizaram um ensaio clínico controlado randomizado aberto com hidroxicloroquina em pacientes com COVID-19. Todos os pacientes tratados receberam 3 doses de 200 mg de hidroxicloroquina por dia, durante 10 dias, enquanto o grupo controle recebeu os cuidados habituais para COVID-19. Os resultados revelaram que no dia 6 pós-inclusão, 70% dos pacientes tratados com hidroxicloroquina foram considerados curados (tiveram resultados de PCR negativos nos swabs nasofaríngeos) em comparação com 12,5% no grupo controle ($p = 0,001$).

Um ensaio mais recente, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, recrutou 117 pacientes, com pelo menos 18 anos, hospitalizados no mínimo desde 48 horas, com um

teste SARS-CoV-2 RT-PCR positivo. A intervenção consistiu em administrar azitromicina (500 mg/ dia nos primeiros 3 dias e 250 mg/ dia nos 12 dias seguintes) combinada com 200 mg de hidroxicloroquina, duas vezes ao dia, durante 15 dias. O grupo controle recebeu um placebo. Este ensaio concluiu que a combinação de azitromicina e hidroxicloroquina não melhorou a sobrevivência ou o tempo de hospitalização em pacientes com COVID-19 (Sivapalan *et al.*, 2021).

Vários artigos referem os efeitos antivirais e imunomoduladores da cloroquina e da hidroxicloroquina como os responsáveis pelo seu efeito anti-inflamatório. Neste âmbito, outros efeitos, como o antitrombótico, foram demonstrados (Gies *et al.*, 2020; Roldan *et al.*, 2020). Os estudos *in silico* sugerem que a hidroxicloroquina / cloroquina podem ter efeitos benéficos, aumentando a resposta imune mediada por células e a atividade antiviral (Tarek e Savarino, 2020).

Contudo, há evidências conflitantes sobre a segurança e toxicidade destes fármacos (Hernandez *et al.*, 2020). Uma meta-análise de 28 estudos clínicos randomizados publicados e não publicados, incluindo 10.319 pacientes, mostra que o tratamento com hidroxicloroquina foi associado ao aumento da mortalidade em pacientes com COVID-19 e que não houve benefício do tratamento com cloroquina (Axfors *et al.*, 2021).

v. Antibióticos

a. Macrólidos

Os antibióticos macrólidos inibem a síntese de proteínas, tendo como alvo o ribossomo bacteriano. Estes ligam-se ao túnel de saída do peptídeo nascente e obstruem-no parcialmente. Assim, os macrólidos têm sido considerados "tampões de túnel" que interrompem a síntese de proteínas. Evidências mais recentes, entretanto, demonstram que os macrólidos inibem seletivamente a tradução de um subconjunto de proteínas celulares e que a sua ação é criticamente dependente da sequência proteica nascente e da estrutura do antibiótico. Portanto, os macrólidos parecem ser moduladores da tradução, em vez de inibidores globais da síntese de proteínas (Vázquez-Laslop e Mankin, 2018).

b. Azitromicina

A azitromicina é um antibiótico macrolídeo que inibe a tradução bacteriana do mRNA e a síntese de proteínas. É prescrito para diferentes tipos de infecções, como infecções respiratórias, infecções de pele e doenças sexualmente transmissíveis. Demonstrou-se que a azitromicina tem efeitos imunomoduladores e anti-inflamatórios (Peters, Friedel e McTavish, 1992; Parnham *et al.*, 2014).

A azitromicina é também conhecida por ter propriedades antivirais. Existem múltiplas evidências clínicas do papel da azitromicina na síndrome da dificuldade respiratória aguda e na MERS (Pani *et al.*, 2020).

A azitromicina tem ação *in vitro* contra o SARS-CoV-2 e pode atuar em diferentes momentos do ciclo viral. As suas propriedades imunomoduladoras incluem a capacidade de diminuir a produção de citocinas, manter a integridade das células epiteliais ou prevenir a fibrose pulmonar. O uso de azitromicina já foi associado a uma redução da mortalidade e do número de dias de ventilação em outras infecções virais, podendo estas propriedades serem benéficas no caso do COVID-19. No entanto, as evidências para o seu uso são escassas e de baixa qualidade. A azitromicina, que tem um perfil de segurança bem conhecido, foi avaliada em estudos observacionais retrospectivos, principalmente em combinação com hidroxicloroquina, que não mostrou nenhum benefício (Echeverría-Esnal *et al.*, 2021). Pelo facto da azitromicina ter mostrado efeitos antivirais, foi adicionada à hidroxicloroquina para melhorar a depuração viral em casos de COVID-19 (Rameshrad *et al.*, 2020).

c. Glicopeptídeos

Teicoplanina, Dalbavancina, Oritavancina e Telavancina

A teicoplanina e análogos (dalbavancina, oritavancina e telavancina) são capazes de impedir a entrada dos vírus SARS no citoplasma das células humanas, inibindo de maneira específica as catepsinas L e B das células alvos, que têm o papel de recetor para a entrada nas células alvo (Jean, Lee e Hsueh, 2020).

A teicoplanina, um antibiótico usado para tratar infecções por estafilococos, demonstrou anteriormente ser eficaz na inibição do primeiro estágio do ciclo de vida viral da MERS-CoV em células humanas. Esta atividade mantém-se em relação ao SARS-Cov-2, colocando a teicoplanina como um tratamento potencial para pacientes com este vírus (Baron *et al.*, 2020).

A teicoplanina tem atividade antiviral potencial expressa contra o SARS CoV 2. Um estudo observacional multicêntrico e retrospectivo avaliou o impacto da teicoplanina no curso da COVID-19 em pacientes gravemente enfermos. Cinquenta e cinco pacientes com COVID-19 grave foram hospitalizados em UCI, dos quais 34 pacientes foram tratados com teicoplanina (grupo Tei-COVID), enquanto 21 constituíram o grupo controle. Na primeira etapa, a mortalidade parecia menor no grupo Tei-COVID, mas descobriu-se que não havia significância estatística (Ceccarelli *et al.*, 2021).

vi. Fármacos usados no tratamento da gota

Febuxostat

É um inibidor não purínico da xantina oxidase, usado no tratamento da hiperuricemia em doentes afetados por gota, e possui efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e anti-apoptóticos. Além disso, protege da inflamação pulmonar e acelera a recuperação da barreira endotelial pulmonar. Num ensaio clínico randomizado, administraram-se febuxostat ou hidroxicloroquina, por 5 dias, a pacientes adultos em ambulatório com doença respiratória moderada, decorrente de infecção por COVID-19. Os doentes foram avaliados por tomografia computadorizada na admissão e 14 dias após o início do tratamento. Este ensaio clínico sugere o febuxostat como um tratamento alternativo à hidroxicloroquina para pacientes com COVID-19 (Davoodi *et al.*, 2020).

Colchicina

Num estudo de coorte, em que se usou colchicina para o tratamento de adultos hospitalizados com pneumonia COVID-19 e síndrome de desconforto respiratório agudo, este fármaco ficou associado a um menor risco de morte. O estudo relata que a administração de colchicina (1 mg / dia, 21 dias) com tratamento padrão (sem medicamentos antivirais) a 122 pacientes hospitalizados com COVID-19 pode aumentar

significativamente a taxa de sobrevivência, em comparação com 144 grupos de controle (84,2% vs. 63,6%) tratados com cuidados padrão (hidroxicloroquina intravenosa e / ou dexametasona e / ou lopinavir / ritonavir). Além disso, não há provas de que a colchicina possa piorar o curso de uma doença induzida por um vírus. Este estudo dá suporte à possível utilização da colchicina no tratamento da fase inicial da COVID-19, com o objetivo de prevenir a resposta autoinflamatória do hospedeiro (Scarsi *et al.*, 2020).

Num ensaio clínico randomizado, denominado GRECCO-19, realizado com 105 pacientes hospitalizados com COVID-19, de 3 de abril a 27 de abril de 2020, um grupo recebeu colchicina e o outro não (controle). A administração de colchicina seguiu o seguinte esquema: dose de ataque de 1,5 mg, seguida de 0,5 mg após 60 min, e doses de manutenção de 0,5 mg duas vezes ao dia, por até 3 semanas. Neste ensaio clínico randomizado, os participantes que receberam colchicina apresentaram uma melhora clínica forma estatisticamente significativa em comparação ao grupo control (Deftereos *et al.*, 2020).

Os resultados do estudo GRECCO-19 mostraram a segurança e a eficácia da colchicina, contudo estudos maiores e de longo prazo são necessários para confirmar os efeitos úteis desta molécula em pacientes com COVID-19 (Rabbani, Parikh e Rafique, 2020).

vii. Imunoterapia

A imunoterapia é o segundo grupo terapêutico mais utilizado em ensaios clínicos no âmbito da COVID-19. Vários medicamentos imunomoduladores têm sido testados, incluindo anticorpos monoclonais, glucocorticoides, inibidores Janus quinase, certos medicamentos imunossupressores (como anakinra), imunoglobulinas e interferões considerados como imunoterapia. Tocilizumab, pembrolizumab, sarilumab, meplazumab, bevacizumab, IFX-1 (fator de complemento C5a anti-humano) e TJ003234 (anticorpo monoclonal anti-GM-CSF) são anticorpos monoclonais usados em ensaios clínicos da COVID-19 (Babaei *et al.*, 2021).

a. Anticorpos monoclonais

A imunoterapia é um método eficaz de tratamento de doenças infecciosas. Uma terapia baseada na imunidade passiva por anticorpos pode ser considerada uma alternativa para limitar a nova pandemia. O novo vírus, SARS-CoV-2, tem características clínicas e genéticas semelhantes ao SARS-CoV, e uma vez que os anticorpos monoclonais já mostraram resultados promissores *in vivo* e *in vitro* no combate ao SARS-CoV e ao MERS-CoV, este tipo de tratamento pode ter bons resultados no futuro. A infecção por Cov começa com a interação no domínio de ligação do vírus - recetor (proteína spike (S) do SARS-CoV-2 e o recetor ACE2). O vírus SARS-CoV-2 utiliza o recetor alvo ACE-2, existente na superfície da célula hospedeira e que pode ser considerado como a “fechadura” de porta, que é reconhecida pela “chave” - a proteína S do vírus. Assim, os anticorpos podem ser destinados a interagir com a proteína S ou o recetor ACE2, a fim de prevenir a entrada do vírus no organismo humano (Shanmugaraj *et al.*, 2020).

Anticorpos monoclonais ligam-se especificamente aos recetores do vírus SARS-CoV-2, impedindo o vírus de entrar e infectar as células humanas. Existem dois anticorpos monoclonais (CR3014 e CR3022), que neutralizam o vírus de maneira sinérgica. Mas o anticorpo CR3022 combina-se com mais eficácia ao domínio de ligação ao recetor (RBD) do vírus SARS-CoV-2. O CR3022 tem também a vantagem de não se sobrepor ao local de ligação de ACE2 no RBD do SARS-CoV-2. Assim, isto faz do CR3022 um bom candidato para o tratamento da COVID-19, podendo ser usado sozinho ou em associação com outros anticorpos monoclonais (Li *et al.*, 2020a).

Leronlimab

O Leronlimab (CytoDyn) é considerado um inibidor da entrada viral. É um anticorpo monoclonal IgG4, k humanizado para o recetor de quimiocina CCR5, encontrado nos linfócitos T. O CCR5 atua como um co-recetor para a entrada de vírus nos glóbulos brancos do sangue (HIV, dengue), mas também bactérias (*Staphylococcus aureus*). Este anticorpo monoclonal tem vindo a ser estudado para o tratamento da COVID-19, com o intuito de melhorar sintomas como febre, mialgia, dispneia e tosse. No contexto da administração para tratar HIV e cancro de mama, nenhum efeito colateral ou evento adverso foi relatado. Mas sabe-se que os anticorpos monoclonais podem causar efeitos colaterais idiossincráticos, e que cada tipo de anticorpo causa um grau diferente de

imunossupressão ou ativação de células imunológicas. Assim, para a prática de um tratamento baseado nesses anticorpos humanizados, o interesse é reduzir a suscetibilidade de causar doenças séricas (Chary *et al.*, 2020).

Tocilizumab

É um anticorpo monoclonal humanizado recombinante da imunoglobulina G1K (gama1, Kappa), que se liga aos recetores solúveis da interleucina-6 (IL-6) e aos recetores de IL-6 ligados à membrana, seguido pela inibição da cascata de transdução de sinal que inicia a atividade biológica de IL-6.

Num ensaio clínico prospetivo não controlado, cujo objetivo foi avaliar os efeitos do tocilizumab como um antagonista da IL-6, em pacientes com infeção grave ou crítica por SARS-CoV-2, este fármaco foi administrado na dose de 400 mg em dose única, via infusão intravenosa durante 2 h. Este estudo concluiu que o tocilizumab pode fornecer um tratamento promissor em pacientes graves ou críticos com SARS-CoV-2, quando administrado no início da fase grave (Dastan *et al.*, 2020b).

A IL-6 tem atividade inflamatória implicada na patogénese da pneumonia, que é a causa mais comum de morte em pacientes com COVID-19. O tocilizumab inibe a atividade pró-inflamatória da IL-6. No estudo prospetivo TOCIVID-19, de braço único, um estudo multicêntrico de fase 2, investigou-se o efeito do tocilizumab nas taxas de letalidade em 14 e 30 dias de uso. A administração foi realizada na dose de 8 mg/ Kg até ao máximo de 800 mg por dose. Concluiu-se que este fármaco não apresentou toxicidade significativa, além de reduzir a mortalidade (Perrone *et al.*, 2020).

A administração de tocilizumab aos pacientes pode melhorar a pneumonia COVID-19 grave com síndrome hiperinflamatória (Babaei *et al.*, 2021). Além disso, o tratamento com tocilizumab está associado. Além disso, os pacientes com maior risco de morte podem produzir níveis mais elevados de IL-6, e o tocilizumabe, pela rápida saturação dos recetores de IL-6, desencadeia uma maior quantidade de IL-6 circulante nestes pacientes. Assim, monitorar os níveis séricos de IL-6, após a toma de tocilizumabe, pode ser de grande valor na pneumonia COVID-19 que pode progridir para síndrome de tempestade de citocinas, pois esse recurso pode ajudar os médicos no processo. É, no entanto, de referir que os níveis séricos de IL-6 parecem ser diferentes entre não sobreviventes e

sobreviventes, após o tratamento da pneumonia por COVID-19 com tocilizumab (Quartuccio *et al.*, 2020).

Baricitinib

É um inibidor JAK1 / JAK2, que interrompe a passagem e a montagem intracelular de SARS-CoV-2 em células-alvo mediadas pelo recetor ACE2, inibindo também o sinal pró-inflamatório de várias citocinas, como IL-6, IL-12, IL-23 e IFN. Desta forma, pode haver uma redução na inflamação induzida por uma tempestade de citocinas (Zhang *et al.*, 2020b).

Anakinra

Anakinra é um antagonista da IL-1. Um estudo de coorte retrospectivo mostrou que uma dose alta de anakinra (5 mg / kg, duas vezes ao dia, por 21 dias, intravenosa) era segura e estava associada à melhoria clínica em 72% dos pacientes com COVID-19 e SDRA que estavam fora da unidade de cuidados intensivos (Cavalli *et al.*, 2020).

Sugere-se que a suprarregulação da via IL-1 / IL-6 tem um papel central na progressão da inflamação e nas consequências da insuficiência respiratória em pacientes com COVID-19 grave e que anakinra pode inibir a IL-1 e, portanto, diminuir a IL-6, que é induzida por IL-1. Portanto, o anakinra não apenas inibe a IL-1, mas também reduz a produção de IL-6, tendo por isso uma ação semelhante à do tocilizumab. Além disso, o anakinra não bloqueia a via IFN-STAT1 / STAT2 em comparação com os inibidores de JAK, o que é crucial para a defesa do hospedeiro contra vírus (Babaei *et al.*, 2021).

b. Anticorpos policlonais

Imunoglobulina gama

A imunoglobulina intravenosa (IVIg) é um produto sanguíneo obtido de doadores saudáveis e contém anticorpos policlonais. Num ensaio clínico duplo-cego randomizado, controlado por placebo, avaliou-se a eficácia da IVIg num pequeno grupo de pacientes com infeção COVID-19 grave. Estes doentes receberam tratamento diário com IVIg, por três dias consecutivos. Os resultados do estudo sugerem que a administração de IVIg em

pacientes com infecção grave por COVID-19 parece melhorar o estado clínico e, assim, reduzir as taxas de mortalidade (Gharebaghi *et al.*, 2020).

c. Plasma de convalescença

O plasma de convalescença contém anticorpos imunoglobulinas que têm a capacidade de suprimir a virémia (Jean, Lee e Hsueh, 2020). Tem interesse particularmente quando há falta de opções terapêuticas ou preventivas contra um agente patogénico, como os vírus, nomeadamente, o SARS-CoV-2. Esta opção terapêutica já foi estudada para tratar outros vírus, como MERS-CoV, SARS-CoV e H1N1. O plasma de convalescença permite rapidez de tratamento, enquanto se espera por uma vacina ou outro medicamento. Além disso, pode ter uma eficácia profilática ou curativa, porque a proteção pode durar entre algumas semanas até alguns meses (Brown e McCullough, 2020).

Infeções virais podem ser tratadas efetivamente com anticorpos IgG, IgA, IgM, IgE e IgD existentes no plasma de convalescença. Esta técnica de imunização passiva, já é usada no tratamento de vírus como o da gripe, ébola e poliomielite. É uma técnica promissora no tratamento e na prevenção da COVID-19 (Li *et al.*, 2020b).

Uma vez administrado, o plasma convalescente tem a capacidade de tornar rapidamente uma carga viral no sangue virtualmente indetetável e melhorar a oxigenação, ao reduzir a hipóxia, mesmo em indivíduos com doença grave. Como qualquer tratamento, pode ter efeitos colaterais, como lesão pulmonar aguda e sobrecarga circulatória, ambas associadas à transfusão, assim como reações alérgicas ou anafiláticas. Também pode haver outros riscos, como transmissão de infeções, reações transfusionais febris não hemolíticas, reações transfusionais hemolíticas e aloimunização de glóbulos vermelhos. Na prática, há apenas a reportar reações menores devidos à perfusão, como febre e calafrios (no caso da gripe A (H1N1) ou do SARS), e não eventos adversos significativos em pacientes graves, tratados no contexto de SARS-CoV-2 (Chary *et al.*, 2020).

A terapia com plasma convalescente de pacientes recuperados (doadores) está em estudo. Até agora, o plasma convalescente contendo anticorpos neutralizantes parece melhorar os resultados clínicos, mas as condições do paciente e do doador, como o nível de anticorpos plasmáticos no doador, o tempo de administração do plasma convalescente

(estado inicial ou tardio da doença) e a co-terapia com outros fármacos, como antivirais, esteroides, entre outros, deve ser considerado (Babaei *et al.*, 2021).

Num ensaio clínico aberto e randomizado, 160 pacientes hospitalizados foram recrutados e divididos em dois grupos: um grupo tratado com plasma convalescente e um grupo controle. Os resultados mostraram que não houve diferenças significativas entre o grupo que recebeu o plasma de convalescença e o grupo controle (Sekine *et al.*, 2021).

Eventos adversos graves com uma relação potencial com o uso do plasma convalescente incluem mortalidade, sobrecarga circulatória associada à transfusão, lesão pulmonar aguda associada à transfusão e reações alérgicas transfusionais graves (Joyner *et al.*, 2020).

3. Medicamentos à base de plantas

Os medicamentos fitoterápicos (medicina chinesa e ayurvédica) geralmente não são tóxicos e não apresentam efeitos colaterais. Além disso, plantas como *Glycyrrhiza glabra*, *Allium cepa*, *Allium sativum*, *Ocimum sanctum*, *Ocimum tenuiflorum*, *Piper nigrum*, *Cinnamomum verum*, *Daucus maritimus*, *Curcuma longa*, entre outras, são há muito tempo conhecidas pela sua atividade antiviral, por exemplo, nas infeções causadas pelo vírus da constipação (Ali e Alharbi, 2020).

Em medicina chinesa, há registo do uso de seis plantas no tratamento da COVID-19: *Astragali Radix* (*Huangqi*), *Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma* (*Gancao*), *Saposhnikoviae Radix* (*Fangfeng*), *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (*Baizhu*), *Lonicerae Japonicae Flos and Fructus forsythia* (*Lianqiao*) (Jean, Lee e Hsueh, 2020).

Raízes de alcaçuz contêm um composto ativo chamado glicirrizina. Este composto foi usado no tratamento da SARS e foi considerado eficaz, porque tem a capacidade de ligar-se aos recetores ACE2, permitindo um efeito inibidor anti-COVID-19, sendo também capaz de inibir a replicação deste vírus *in vitro*. Alguns ensaios clínicos comprovaram a sua eficácia clínica no tratamento da SARS (Li *et al.*, 2020a).

Hesperetina é um flavonoide conhecido em medicina chinesa, encontrado geralmente nos citrinos, que tem propriedade antivíricas. Este composto inibe o recetor ACE2 e,

consequentemente, tem a capacidade de impedir a infecção por SARS-CoV. Também suprime a atividade da protease semelhante a 3C (3CLpro) do SARS-CoV-2 em ensaios *in vitro* (Li *et al.*, 2020a).

A baicaline é também um flavonoide vegetal, que existe na planta *Scutellaria baicalensis*. Demonstrou ter atividade *in vitro* contra o SARS-CoV, nomeadamente em 10 isolados clínicos do vírus (Li *et al.*, 2020a).

A medicina tradicional chinesa, que tem milhares de anos, ganhou uma grande experiência no tratamento de doenças pandémicas e endémicas, o que lhe pode dar alguma vantagem no tratamento ou prevenção da SARS. Os benefícios da experiência milenar da medicina chinesa podem residir na evidência de que as ervas usadas têm a capacidade potencial de modular as células T e, portanto, melhorar a capacidade imunológica do hospedeiro. Mas também a capacidade de melhorar os sintomas e reduzir a progressão da doença. Como exemplo, pode-se referir a glicirrizina, um dos principais constituintes ativos da raiz de alcaçuz, que é a erva chinesa mais usada, inibiu fortemente a replicação de isolados clínicos do vírus SARS (Yang *et al.*, 2020).

Medicamentos fitoterápicos, suplementos ou agentes biológicos podem ajudar a tratar a COVID-19, sendo vários os mecanismos de ação possíveis. Os produtos naturais podem desencadear (i) efeitos inibitórios em alvos específicos dos coronavírus, como a proteína S e a replicação viral; (ii) efeitos modulatórios no sistema imunológico que previnem processos inflamatórios; (iii) efeitos antivirais, (iv) efeitos antifibróticos, entre outras possibilidades (Babaei *et al.*, 2021).

A fitoterapia chinesa é considerada uma potencial intervenção no tratamento da atual pandemia de COVID-19. As evidências evidenciam a fitoterapia chinesa como um complemento ao tratamento padrão, uma vez que parece melhorar os resultados clínicos em casos de COVID-19. A combinação do tratamento padrão ocidental para a COVID-19 com a medicina chinesa pode ser eficaz no controle dos sintomas e na redução da taxa de progressão da doença, contudo o nível de evidência permanece baixo (Fan *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2021).

4. Quercetina

A quercetina é um flavonoide vegetal, também conhecido pela sua ação antivírica, nomeadamente contra vírus respiratórios de RNA e DNA, uma vez que tem capacidade de inibir a virulência, a entrada e a replicação dos vírus, evidenciando ainda propriedades imunorreguladoras, antioxidantes e anti-inflamatórias. Com concentração inferior ou igual a 1g/dia, geralmente não tem efeitos adversos importantes. A quercetina pode ser administrada em associação com vitamina C, como profilaxia da população de alto risco e tratamento de casos ligeiros e graves. A dosagem sugerida vai depender do estado da SARS. Em caso de profilaxia e de doença ligeira, a dose recomendada de quercetina é 250 a 500 mg, 2 vezes por dia; para casos de doença severa, será de 500 mg, 2 vezes por dia. Quanto à vitamina C, em caso de profilaxia e de doença ligeira, a dose recomendada é 500 mg, 2 vezes por dia; para casos de doença severa, a dose recomendada é 3 g, a cada 6 horas, durante 7 dias (Colunga Biancatelli *et al.*, 2020).

A quercetina é amplamente usada em medicina chinesa, sendo importante no tratamento e na prevenção da COVID-19. A capacidade antiviral deste flavonoide passa pela inibição de CoV 3CLpro (protease principal) e pelo bloqueio da entrada do vírus nas células alvo (Li *et al.*, 2020b).

5. Vitaminas e oligoelementos

Tem vindo a ser constatado que, na maioria dos casos, as mortes prematuras causadas pela COVID-19, dizem respeito a idosos, o que pode estar relacionado com a baixa imunidade deste grupo etário. Para estimular o sistema imunológico, é importante consumir várias vitaminas, principalmente as vitaminas A, C, D e E, e oligoelementos (zinco e iodo) (Ali e Alharbi, 2020).

Parece que os pacientes com COVID-19 grave evidenciam deficiência em mais de um nutriente, o que sugere que as carências nutricionais podem promover o aparecimento de COVID-19, assim como aumentar a gravidade da doença (Bae e Kim, 2020). Assim, a suplementação em múltiplos micronutrientes, com funções de suporte imunológico, pode modular a função imunológica e reduzir o risco de infeção (Grant *et al.*, 2020).

O aporte adequado de micronutrientes reduziu drasticamente a incidência de COVID-19 e a deterioração clínica em pacientes hospitalizados. A não deficiência em vitamina D ou zinco tem um efeito protetor na incidência da COVID-19, diminuindo as chances de incidência em 63% (Wang, Gwee e Pang, 2021).

A suplementação em vitaminas C e D reduz o risco de infecções respiratórias agudas, enquanto a suplementação em vitamina C e zinco parece encurtar a duração dos sintomas das mesmas. A suplementação em micronutrientes pode prevenir (vitamina D e C) e tratar (vitaminas D e C, e zinco) infecções respiratórias agudas, onde se inclui a infecção por SARS-CoV-2. Contudo, não está ainda claro se a relevância do efeito desses micronutrientes é clinicamente significativa (Abioye, Bromage e Fawzi, 2021).

i. Vitamina C

A vitamina C, ou ácido ascórbico, é essencial para o corpo humano, e tem numerosas atividades, entre as quais antivírica. Esta estimula a atividade dos linfócitos (propriedade imunorreguladora) e a produção de interferão- α , tem efeito modulador de citocinas, ação anti-inflamatória e, *in vitro*, possui um efeito virucida. A proposta de tratamento multimedicamentoso para profilaxia da população de alto risco e tratamento de casos ligeiros e graves de COVID-19, com vitamina C, depende do estado da doença. Para tratamento profilático e de doença ligeira, a dose recomendada é 500 mg, 2 vezes por dia; em casos graves (como a síndrome respiratória aguda grave), a dose recomendada é 3000 mg por dia, durante 7 dias. Além disso, o ascorbato tem uma capacidade de potenciar a eficácia da quercetina. Em face das propriedades antivíricas e de outras vantagens, nomeadamente económicas, a associação destes dois compostos é recomendada para a profilaxia e tratamento de doentes com COVID-19 (Colunga Biancatelli *et al.*, 2020).

A vitamina C tem propriedades importantes, como antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora, é barata e há evidências de que a sua administração oral (2 a 8 g/ dia) pode reduzir a incidência e duração das infecções respiratórias, sendo que quando administrada intravenosamente (6 a 24 g/ dia) reduz a mortalidade, a permanência nas unidades de cuidados intensivos, os internamentos hospitalares e o tempo de ventilação mecânica para infecções respiratórias graves. Além disso, não parece ter contraindicações, efeitos colaterais significativos ou toxicidade (Holford *et al.*, 2020).

Todavia, e de acordo com um estudo piloto, altas doses de vitamina C intravenosa não conseguiram reduzir a mortalidade, mas mostraram um potencial benefício em termos da oxigenação dos pacientes gravemente doentes com COVID-19 (Zhang *et al.*, 2021).

A vitamina C teve um efeito modesto na prevenção de infecções respiratórias agudas e na redução da duração dos sintomas das mesmas. Não há relação significativa entre a dose de vitamina C e o risco de infecções respiratórias agudas ou a duração dos sintomas, e os estudos incluídos não avaliaram eventos adversos do ácido ascórbico (Abioye, Bromage e Fawzi, 2021).

ii. Calciferol (metabolito da vitamina D)

Também conhecido como 25-hidroxivitamina D₃, é um dos principais metabolitos endócrinos da vitamina D. A vitamina D₃ é produzida na pele pela ação da radiação UVB. A vitamina D tem várias funções, como reduzir o risco de infecções virais respiratórias, fortalecer a imunidade celular inata, modular a imunidade adaptativa, entre outras. Ao suplementar com esta vitamina, é recomendada a toma simultânea de magnésio, pois ajuda a ativar a vitamina D, que, por sua vez, ajuda a regular a homeostasia do cálcio e do fosfato para influenciar o crescimento e manutenção dos ossos (Grant *et al.*, 2020).

Num estudo piloto, o calciferol mostrou reduzir a gravidade da COVID-19, parecendo diminuir significativamente a necessidade de tratamento intensivo (Castillo *et al.*, 2020).

A suplementação em vitamina D é segura e, de modo geral, reduz o risco de infecções respiratórias agudas em comparação com o placebo, embora a redução do risco tenha sido pequena. A proteção foi associada a doses diárias de 400-1000 UI (Grant *et al.*, 2020).

De acordo com uma meta-análise, o efeito preventivo da vitamina D contra infecções agudas do trato respiratório (IRA) é maior quando o diagnóstico é clínico ou baseado em teste laboratorial, ao invés de autorrelato. Um regime de dosagem ideal incluiria uma dose diária ≥ 2.000 UI de vitamina D e uma dose de ataque <60.000 UI. Já é conhecido que a suplementação com vitamina C e D reduz o risco de IRA, e que a suplementação de vitamina C e zinco encurta a duração dos sintomas das mesmas. Novas descobertas indicam que a suplementação em micronutrientes pode prevenir (vitamina D e C) e tratar

(vitamina D, C e zinco) IRA, incluindo a infeção por SARS-CoV-2. Não está claro se a relevância dos efeitos destes micronutrientes é clinicamente significativa. A eficácia e a segurança dos micronutrientes, nos intervalos de dosagem em que os seus efeitos são mais significativos, precisam de ser testadas em estudos randomizados em pacientes com COVID-19 e outras infeções respiratórias graves (Abioye, Bromage e Fawzi, 2021).

Os resultados de uma meta-análise indicam que a suplementação em vitamina D reduz o risco de infeção respiratória aguda em 3% no geral e em 18% quando a mesma é diagnosticada com base em testes laboratoriais ou diagnóstico clínico (Abioye, Bromage e Fawzi, 2021). Isto pode ser explicado pelo facto dos níveis de vitamina D serem insuficientes em, pelo menos, 50% da população mundial, embora a exposição moderada ao sol deva ser suficiente para evitá-la (Van Schoor e Lips, 2017). A vitamina D modula a imunidade por meio de efeitos sobre macrófagos, dendríticos e função das células T. Além disso, muitos patógenos causam stresse oxidativo e a vitamina D aumenta a produção de enzimas antioxidantes que o neutralizam (Lei *et al.*, 2017).

iii. Selénio e zinco

O selénio tem funções antivirais, aumentando a função das células efectoras citotóxicas. Além disso, o selénio é importante para a maturação e as funções dos linfócitos T, desempenhando um papel importante na produção de anticorpos (Bae e Kim, 2020).

As concentrações séricas de selénio e zinco parecem estar relacionadas com o prognóstico de pacientes com COVID-19, sendo a idade do doente um fator determinante. Se as concentrações destes dois elementos estiverem dentro dos intervalos de referência a chance de sobrevivência será mais alta, enquanto deficiências graves são motivo de preocupação e para se considerar a suplementação (Heller *et al.*, 2021).

A terapia com zinco faz sentido na COVID-19 devido ao efeito inibitório deste mineral na replicação viral, e porque os baixos níveis de Zn parecem ser comuns em portadores desta doença. A deficiência em zinco tem sido associada a um aumento da taxa de complicações, aumento do risco da síndrome do desconforto respiratório agudo, maior tempo de internação hospitalar e aumento da mortalidade com uma relação independente

entre baixo nível de zinco sérico e a gravidade da doença (Jothimani *et al.*, 2020; Yasui *et al.*, 2020).

O limite superior da ingestão oral diária de zinco elementar é de 40 mg / dia conforme definido pelo *National Institutes of Health* e um mínimo de 25 mg / dia conforme definido pela *European Food Safety Authority* (Patel *et al.*, 2021).

O zinco inibe infecções virais em ambientes clínicos e experimentais, incluindo a replicação de SARS-CoV. A biodisponibilidade do zinco administrado por via enteral é baixa, portanto, a via intravenosa, com o Zn em altas doses, deve ser a forma de administração preferida. Um estudo duplo-cego investigou a segurança, viabilidade e efeito biológico da administração de altas doses de zinco intravenoso em pacientes com COVID-19. Este estudo demonstrou a segurança e a viabilidade da terapia intravenosa com zinco e a capacidade de altas doses de Zn intravenoso para reverter a fase aguda da deficiência deste mineral associada ao COVID-19, surgindo apenas uma irritação periférica mínima no local de infusão (Patel *et al.*, 2021).

Um estudo demonstrou que a suplementação oral com 50 mg de zinco elementar (sulfato de zinco), em combinação com hidroxicloroquina (200 mg, duas vezes ao dia) e azitromicina (500 mg por dia) por cinco dias consecutivos foi associada a uma redução significativa das hospitalizações (Derwand, Scholz e Zelenko, 2020). Da mesma forma, (Carlucci *et al.*, 2020), usando a mesma combinação, perceberam que 50 mg de sulfato de zinco, quando adicionado a hidroxicloroquina e azitromicina, reduziu a mortalidade e a hospitalização. No entanto, estes estudos revelaram algumas falhas, incluindo o facto das intervenções não terem sido controladas ou cegas, e dos pacientes não serem randomizados ou monitorados para vários outros parâmetros laboratoriais (Patel *et al.*, 2021).

Evidências de meta-análises atuais e anteriores mostram que a suplementação em zinco encurta consideravelmente a duração das infecções respiratórias agudas (Jackson, Peterson e Lesho, 1997; D’Cruze, Arroll e Kenealy, 2009; Johnstone *et al.*, 2012). Além disso, a suplementação em Zn previne a morte por pneumonia grave (Wang e Song, 2018).

A deficiência de zinco é generalizada, afetando quase 20% da população mundial, e a ingestão de quantidades adequadas de Zn é necessária para evitá-la. O zinco é um componente de centenas de enzimas e fatores de transcrição e desempenha um papel

essencial na expressão de genes, divisão celular e imunidade (Read *et al.*, 2019). Este mineral regula a proliferação, diferenciação, maturação e função de células epiteliais e leucócitos. Também modula a produção de linfócitos T, citocinas e espécies reativas de oxigênio. Além disso, o zinco melhora o apetite e a sua deficiência leva à anorexia, alterando a ingestão de macronutrientes e micronutrientes, essenciais a uma resposta imunitária robusta (Prasad, 2009; Tanumihardjo *et al.*, 2016).

Um aumento das concentrações intracelulares de catião zinco também pode interferir no processamento proteolítico de poliproteínas em muitos vírus de RNA (Lanke *et al.*, 2007). Além disso, todos os coronavírus são unificados exigindo uma RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que é uma enzima central no seu processo de síntese de RNA. Níveis aumentados de Zn^{2+} inibem diretamente complexos RdRp isolados e RdRps recombinantes purificados, replicação do vírus SARS-CoV-1 em cultura de tecidos e replicação de outros vírus de RNA de sentido positivo (Lanke *et al.*, 2007; Te Velthuis *et al.*, 2010).

Um artigo científico relata o caso de quatro pacientes ambulatoriais consecutivos, com características clínicas e / ou laboratoriais confirmadas de COVID-19, que foram tratados com pastilhas de sal de zinco em altas doses. Nesta série de casos não controlados, o início da toma de pastilhas de sal de zinco em altas doses foi seguido, num período de 24 horas, por melhoria sintomática e objetiva dos 4 pacientes consecutivos, com sinais e sintomas clínicos e / ou testes laboratoriais que indicavam COVID-19 (Finzi, 2020).

O zinco também foi proposto para ser um cofator útil no tratamento de COVID-19 com hidroxicloroquina (Derwand e Scholz, 2020; Shittu e Afolami, 2020; Skalny *et al.*, 2020). Um ensaio clínico randomizado foi conduzido em três grandes hospitais universitários no Egito. O objetivo foi avaliar o efeito da combinação de hidroxicloroquina com zinco no tratamento de pacientes com COVID-19. Cento e noventa e um pacientes com diagnóstico confirmado de infecção por COVID-19 foram randomizados em dois grupos: 96 pacientes do grupo I receberam hidroxicloroquina e zinco, e 95 pacientes do grupo II receberam apenas hidroxicloroquina. Os resultados mostraram que os suplementos de zinco não melhoraram a eficácia clínica da hidroxicloroquina (Abd-Elsalam *et al.*, 2021).

6. Terapia celular

A corrida entre países e empresas para desenvolver vacinas e terapias COVID-19 eficazes continua. A terapia celular concentra-se nas fases moderada a grave do COVID-19 e os resultados são promissores. Dentro da terapia celular destacam-se a utilização de (i) células-tronco mesenquimais (MSC) graças ao seu comportamento pró / anti-inflamatório e imunomodulador; e (ii) as células *Natural Killer* (NK) devido à sua capacidade de lisar células infetadas pelo vírus e regular a resposta imunológica resultante. A aplicação da terapia celular para o tratamento de COVID-19 e infeções virais semelhantes parece promissora. Ao contrário das terapias convencionais, as terapias celulares devem ser administradas sob demanda. Um dos principais desafios da terapia celular é a relação custo-benefício do tratamento completo. Os preços podem atingir 475.000 US \$ ou 373.000 US \$ para uma única dose de tratamento (Golchin, 2021).

i. Células-tronco mesenquimais

As células-tronco mesenquimais (MSC), com origem no sangue ou no cordão umbilical, têm funções anti-inflamatórias e imunorreguladoras. Este tipo de células é capaz de melhorar lesões pulmonares agudas e crónicas, e a SDRA, impedindo a infiltração das células imunitárias no tecido pulmonar, assim como a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Estas células também contribuem para a redução da fibrosa pulmonar e para a melhoria da reparação tecidual (Li *et al.*, 2020a).

Um ensaio clínico mostrou que o transplante intravenoso de células-tronco mesenquimais de cordão umbilical humano é um método seguro e eficiente, que pode ser usado para pacientes com COVID-19 grave (Shu *et al.*, 2020). Um outro estudo também concluiu que a infusão intravenosa de MSC em pacientes com COVID-19 foi bem tolerada (Wei *et al.*, 2021).

Um estudo, em que se usaram exossomos derivados de células-tronco mesenquimais da medula óssea, mostrou que esta é uma terapia promissora para pacientes com COVID-19 grave, devido ao seu perfil de segurança, à sua capacidade de restaurar a oxigenação e a imunidade, e à sua aptidão para regular a tempestade de citocinas (Sengupta *et al.*, 2020).

As MSC têm capacidade de migração, função imunorreguladora, efeitos anti-inflamatórios e potencial de diferenciação multilinhagem. A terapia com células-tronco mesenquimais não tem efeitos colaterais adversos no paciente, mostrando as MSC perfis de segurança elevados (Golchin, 2021).

As MSC podem regular a resposta inflamatória, reduzindo os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas e promover a reparação e regeneração do tecido, por meio do aumento de IL-10 e fator de crescimento endotelial vascular (Babaei *et al.*, 2021).

Os resultados de um estudo clínico multicêntrico, aberto e controlado em paralelo, sugerem que o transplante de MSC derivado do sangue menstrual reduz significativamente a mortalidade por COVID-19 induzido por SARS-CoV-2 grave e crítico. Quarenta e quatro pacientes foram incluídos, de janeiro a abril de 2020, num estudo exploratório multicêntrico, aberto, não randomizado e controlado em paralelo. Os pacientes do grupo MSC apresentaram mortalidade significativamente menor. O transplante de MSC derivado de sangue menstrual reduz drasticamente a mortalidade de COVID-19 induzida por SARS-CoV-2 grave e crítico. As MSC derivadas do sangue menstrual podem funcionar, aliviando as dificuldades respiratórias causadas pelo COVID-19 e reduzindo os sintomas de SDRA ou dispneia expiratória (Xu *et al.*, 2021).

De acordo com uma meta-análise, que analisou diferentes estudos sobre MSC de medula óssea, cordão umbilical, sangue menstrual, tecido adiposo ou outro, verificou-se que o uso desta terapia celular está relacionado com uma tendência de diminuição da mortalidade, não sendo, contudo, esta estatisticamente significativa (Qu *et al.*, 2020).

ii. Células exterminadoras naturais

As células exterminadoras naturais são importantes para o nosso organismo, porque permitem a defesa inata do sistema imunitário contra células infetadas, nomeadamente por vírus. Quando uma célula se encontra infetada, os anticorpos ligam-se aos antígenos expressos na superfície das células infetadas. A partir desse momento, as células NK humanas vão lisar a célula infetada ocorrendo um processo de citotoxicidade celular dependente dos anticorpos (ADCC). Como tal, este processo ADCC pode ser eficaz

contra o SARS-CoV-2, estando previsto usar células NK na prevenção e tratamento da pneumonia decorrente da COVID-19 (Li *et al.*, 2020a).

Em relação ao papel das células NK contra a COVID-19, uma hipótese é que as células NK têm um efeito duplo contra o SARS-CoV-2. Primeiro, células NK saudáveis, em pessoas com baixo risco, podem eliminar a infecção viral e prevenir danos nos pulmões. Segundo, células NK anormais, em indivíduos de alto risco, inibem a eliminação viral e induzem respostas inflamatórias, o que resulta em danos pulmonares (Market *et al.*, 2020; Saldanha-Araujo *et al.*, 2020).

7. Inibidores das Janus Associated Kinases (JAK1 eJAK2)

JAK (Janus quinase) e STAT (transdutores de sinal e ativadores de transcrição) fazem parte da via envolvida na tempestade de citocinas induzida pelo SARS-CoV-2 (Seif *et al.*, 2020).

As citocinas no COVID-19 contribuem para o agravamento da doença, e a sua inibição permite reduzir a inflamação, e tem sido por isso uma estratégia de controle da doença. (Bousoik e Montazeri Aliabadi, 2018).

Com o objetivo de reduzir a inflamação excessiva, os inibidores de JAK / STAT, de que são exemplo ruxolitinib, baricitinib e tofacitinib medeiam as suas ações por meio de supressores de sinalização de citocinas, proteínas contendo SH2 induzível por citocina, inibidores de proteína de STAT ativado e proteínas tirosina fosfatases. Embora estas moléculas tenham alguns efeitos colaterais, as autoridades reguladoras têm apoiado o seu uso, assim como vários ensaios clínicos para provar sua a segurança e eficácia. Além disso, o mecanismo exato de inibição de JAK / STAT ao nível molecular permanece especulativo, necessitando de uma investigação mais aprofundada (Satarker *et al.*, 2021).

Ruxolitinib

É utilizado para o tratamento de mielofibrose em adultos que sofrem de esplenomegalia (baço dilatado) ou apresentam sintomas relacionados com a doença, e de policitemia vera em adultos intolerantes ou resistentes ao tratamento com o medicamento hidroxiureia. De acordo com um único estudo multicêntrico controlado e randomizado, os pacientes

COVID-19 de uma pequena amostra foram separados aleatoriamente em 2 grupos: o grupo de tratamento, que recebeu ingestão oral de ruxolitinib 5 mg, 2 vezes ao dia, complementado com tratamento standard e o grupo controle, que recebeu placebo (100 mg de vitamina C), 2 vezes ao dia, igualmente associado a tratamento standard. A dose de 5 mg de ruxolitinib, 2 vezes ao dia, é uma dose frequentemente usada para o tratamento de doenças autoimunes / inflamatórias e demonstrou inibição eficaz das proteínas da inflamação em estudos anteriores. O tratamento standard incluiu terapia antiviral, oxigênio suplementar, ventilação não invasiva / invasiva, corticosteroides, agentes antibióticos, suporte vasopressor, terapia de substituição renal ou oxigenação extracorpórea. Este ensaio randomizado permitiu descobrir que, embora a associação de ruxolitinib ao tratamento standard não tenha resultado em melhoria clínica significativa em pacientes graves, originou melhora clínica numericamente mais rápida comparativamente à do grupo controle. A associação ruxolitinib - tratamento standard, que foi bem tolerada, com baixa toxicidade hematológica e não hematológica, parece aliviar significativamente a exuberante tempestade de citocinas típica da COVID-19 grave, o que justifica o uso deste fármaco para reduzir a inflamação sistêmica (Cao *et al.*, 2020b).

O ruxolitinib inibe as JAK 1 e JAK 2, evitando assim a ativação dos STAT e a translocação nuclear. A inibição da via IL-6 / JAK / STAT3 induzida pelo ruxolitinib pode levar a uma redução significativa dos níveis de IL-6 (Verstovsek, 2013). Pode evitar complicações devido à hiperativação imune, por meio da via de transdução de sinal JAK e STAT e, potencialmente, reverter a hiperinflamação, reduzindo o envolvimento pulmonar e restaurando a relação PaO₂ e FiO₂ em pacientes com COVID-19 (Capochiani *et al.*, 2020). O ruxolitinibe é usado para tratar a doença COVID-19 grave associada à SDRA por meio da inibição da sinalização de citocinas (Cao *et al.*, 2020b).

8. Terapia profilática

i. Vacinas

Para o desenvolvimento de vacinas humanas, agências reguladoras em diferentes países têm solicitado, historicamente, um número crescente de estudos clínicos com grande número de pacientes e complexidade. Estas medidas garantem que o produto final da

vacina seja seguro e eficaz para diferentes subgrupos da população antes da autorização para uso comercial. Normalmente, são necessários entre 10 e 15 anos desde a conclusão dos estudos pré-clínicos até à obtenção da aprovação da vacina (Black *et al.*, 2020). De facto, o desenvolvimento de uma vacina leva anos, até décadas: de cerca de 40 anos para a poliomielite a 5 anos para o ébola, a maioria das vacinas leva 15 anos em média (Deb, Shah e Goel, 2020; Thanh Le *et al.*, 2020). O processo de desenvolvimento de uma vacina mais rápido tinha sido, até agora, para a vacina do ébola, e tinha durado cinco anos (Black *et al.*, 2020).

Os ensaios clínicos em humanos podem ser divididos em quatro fases: fase 1, na qual a vacina é administrada a voluntários saudáveis, para a sua segurança e dosagem serem determinadas; fase 2, na qual a estimulação imune inicial é avaliada e a segurança é estudada num pequeno número de pessoas saudáveis; fase 3, em que a eficácia da vacina na prevenção da doença é determinada após a sua administração a uma grande coorte; e a fase 4, que ocorre após a aprovação da vacina, para garantir a sua segurança e estudar os efeitos em longo prazo (Rab *et al.*, 2020). A necessidade dessas fases é unânime no campo da vacinologia.

Estas etapas devem ser realizadas de forma sistemática e mensurável. A duração do processo está relacionada com a própria natureza da vacina, que visa proteger as pessoas saudáveis da infeção por patógenos. Eventos adversos e efeitos deletérios não são tolerados quando se trata de vacinas. O risco ou a análise de benefício para medicamentos e para a administração de vacinas são diferentes (Wibawa, 2021).

As vacinas são preparações biológicas que, quando são administradas a um indivíduo, estimulam a produção de anticorpos e conferem imunidade contra uma ou mais entidades específicas que podem causar doenças, como vírus ou bactérias. As vacinas são preparadas a partir do agente essencial de uma doença, seus produtos ou um substituto sintético, que são especificados para atuar como um antígeno sem induzir a doença. As vacinas estimulam o sistema imunológico, criando uma forma de memória que permite ao indivíduo responder mais rapidamente e mais eficazmente a uma ameaça do que da primeira vez. Proteínas, ácidos nucleicos (DNA e RNA) ou mesmo organismos inteiros podem ser usados para vacinação, muitas vezes em combinação com adjuvantes que podem aumentar a sua potência. As vacinas, ao contrário da maioria dos medicamentos terapêuticos, são geralmente usadas para a profilaxia de infeções ou doenças. Os agentes

terapêuticos afetam diretamente a doença, enquanto as vacinas modulam o sistema imunológico, aumentando a sua capacidade de lutar contra a enfermidade. Do ponto de vista individual, o objetivo da vacinação é prevenir ou modificar a doença. Do ponto de vista da saúde pública, o objetivo da vacinação é limitar a propagação de um patógeno dentro de uma população. Se bem-sucedidos, a defesa pessoal e o controle da epidemia levam à completa eliminação ou extermínio do patógeno. Desafios biológicos, incluindo, limitações a nível de eficiência, variação considerável na resposta imune, anticorpos ou níveis de marcadores imunes celulares entre indivíduos; obstáculos técnicos, operacionais ou logísticos; e questões políticas, sociais, éticas e religiosas são os principais fatores que determinam a eficácia da vacina (Graham, 2013).

Existem várias estratégias de desenvolvimento de vacinas para doença provocadas por coronavírus, incluindo vacina de primeira geração (vacina viva atenuada e inativada), vacina de segunda geração (subunidade de proteína e vacina de vetor) e vacina de terceira geração (vacina de ácido nucleico e nanomateriais) (Babaei *et al.*, 2021). É de referir que as vacinas de ácido nucleico podem introduzir mutações no genoma humano (Chary *et al.*, 2020).

Estudos anteriores sugeriram que várias mutações nas proteínas-alvo do coronavírus podem estar associadas à resistência aos medicamentos e a mudanças na estrutura das proteínas-alvo que podem levar à ineficácia das vacinas (Naqvi *et al.*, 2020).

As vacinas são a medida de saúde pública mais importante para proteger as pessoas contra a COVID-19 globalmente, uma vez que o SARS-CoV-2 é altamente contagioso e infeta as populações ampla e globalmente (Amanat e Krammer, 2020).

A invenção de uma vacina COVID-19, eficaz e amplamente disponível, tem tido vários desafios a superar:

- A falta de compreensão da patogénese e do papel preditivo das vacinas nas pessoas infetadas com SARS-CoV-2 (Cao e Li, 2020; Li *et al.*, 2020b; Yuki, Fujiogi e Koutsogiannaki, 2020);
- Grande discordância entre os especialistas sobre como determinar os epítomos e antígenos mais imunogénicos da SARS-CoV-2 (Zhang *et al.*, 2020a; Enayatkhani *et al.*, 2021);

- A descoberta de um efeito colateral que pode ocorrer após a exposição, conhecido como “aprimoramento dependente de anticorpo”, e que pode deixar o organismo mais vulnerável a infecções graves por SARS-CoV-2 após a vacinação (Iwasaki e Yang, 2020; Ulrich, Pillat e Tárnok, 2020);
- A falta de modelos animais estabelecidos para os testes de desafio da vacina COVID-19, o que levanta especulações sobre o uso de estudos com infecção humana controlada (CHI) como uma abordagem potencial (Deb, Shah e Goel, 2020);
- E finalmente, a especulação de que a duração da proteção pela resposta imune na infecção natural não é suficientemente longa (Long *et al.*, 2020).

Até o momento, pelo menos 112 vacinas candidatas estão sob avaliação clínica (OMS, 2021b).

a. Vacinas compostas por subunidades recombinantes

As vacinas de subunidades incluem um ou mais antígenos de alta imunogenicidade que podem estimular efetivamente o sistema imunológico do hospedeiro. Em geral, esta plataforma de vacina é relativamente segura e fácil de produzir, mas requer a adição de adjuvantes para induzir uma forte resposta imunológica (Zhang *et al.*, 2020a).

Como vacinas inativadas que são, as vacinas de subunidades não contêm componentes vivos e são consideradas seguras. As vacinas de subunidade não contêm componentes vivos do patógeno, mas apenas fragmentos antigênicos do patógeno, necessários para induzir uma resposta imune protetora. As vacinas de subunidades são amplamente classificadas em três classes: vacinas de subunidades de proteínas, vacinas de polissacarídeos e vacinas conjugadas (OMS, 2013). As vacinas de subunidades de proteínas apresentam antígenos ao sistema imunológico sem usar partículas virais; em vez disso, estas vacinas usam um isolado de proteínas patogênicas específico. A principal desvantagem dessa plataforma é que os isolados de proteínas desnaturantes podem produzir ligação com outros anticorpos não-alvo (Yang *et al.*, 2004; Sumirtanurdin e Barliana, 2021).

Sabe-se que o SARS-CoV-2 tem dez vezes mais afinidade para o recetor ACE2 do que o SARS-CoV-1 (Chary *et al.*, 2020). A proteína S do SARS-CoV-2 é o antígeno mais adequado para induzir anticorpos neutralizantes contra o patógeno. A proteína S é composta por duas subunidades, a subunidade S1 e a subunidade S2 (Kaur e Gupta, 2020). O vírus entra na célula por endocitose, por meio da ligação da proteína S ao recetor ACE2. Portanto, a proteína S e os seus fragmentos antigénicos são os principais alvos usados nas vacinas de subunidades (Wang *et al.*, 2020a).

O genoma SARS-CoV-2, de aproximadamente 29,8 kb, contém 14 estruturas de leitura aberta que codificam 27 proteínas, incluindo as quatro proteínas estruturais principais, proteína de envelope, proteína de matriz, proteína de núcleo e proteína spike (Wu *et al.*, 2020). Destas, a proteína spike trimérica imunodominante é a fonte primordial de todos os principais alvos antigénicos da vacina até ao momento, tendo as outras proteínas recebido muito menos atenção como candidatas a antígenos de vacina (Pollet, Chen e Strych, 2021).

b. Vacinas de DNA

As vacinas de DNA fornecem proteção por injeção direta de plasmídeos que codificam antígenos para gerar uma ampla resposta imune. Este benefício tem sido aplicado a vacinas profiláticas e terapêuticas (Yang *et al.*, 2004).

As vacinas de DNA são constituídas por um plasmídeo de expressão contendo genes, ou fragmentos dos mesmos, que codificam antígenos imunogénicos do hospedeiro. Esta abordagem induz eficientemente respostas imunes humorais e mediadas por células (Silveira *et al.*, 2017; Lee, Izzard e Hurt, 2018).

A formulação de uma vacina é feita de forma a que o material genético seja transferido para o núcleo da célula do hospedeiro. Assim que isso for conseguido, o promotor mamífero presente na estrutura do vetor é ativado, desencadeando a transcrição do gene usado para a vacina através do maquinário celular do hospedeiro (Silveira *et al.*, 2017; Lee, Izzard e Hurt, 2018).

As vacinas de DNA são consideradas superiores às vacinas de mRNA, em termos de formulações necessárias para manter a estabilidade e a eficiência da administração. No

entanto, as vacinas de DNA devem entrar no núcleo da célula, onde estão sujeitas ao risco de integração e mutação no genoma do hospedeiro (Liu, 2019).

Estas vacinas permitem o desenvolvimento de uma resposta imune específica ao antígeno patogénico. Para tal, o princípio é inserir plasmídeo de DNA nas células hospedeiras, que são depois codificadas para os antígenos. Há evidências de que os animais que receberam a vacina mostraram produzir anticorpos e células T contra o vírus COVID-19. Os efeitos colaterais relatados com este tipo de profilaxia são sintomas no local da injeção, cefaleias, mal-estar, mialgia e possível elevação da creatina fosfoquinase e / ou parestesia. No entanto, este tipo de vacina pode causar mutações no genoma humano. Assim, para além das reações anteriormente referidas, as vacinas de DNA levantam a preocupação de eventos adversos decorrentes da integração do plasmídeo no DNA do hospedeiro, interrompendo a transcrição usual. No entanto, os estudos *in vitro* sugerem que a taxa de mutagénese por inserção é menor do que a taxa de mutações espontâneas em células de mamíferos (Chary *et al.*, 2020).

De modo geral, embora as vacinas de mRNA tenham chegado rapidamente à fase dos ensaios clínicos em humanos, a maioria das vacinas de DNA candidatas estão atualmente no estágio pré-clínico (Silveira, Moreira e Mendonça, 2021).

c. Vacinas de mRNA

As vacinas baseadas em RNA mensageiro contêm o genoma do antígeno, que pode então ser traduzido na célula hospedeira após a vacinação (Zhang *et al.*, 2019). A vacina de mRNA oferece uma alternativa promissora às abordagens vacinais convencionais devido ao seu alto potencial, ciclo de produção curto, baixo custo de produção e entrega segura (Pardi *et al.*, 2018).

O RNA deste tipo de vacina é muito instável, uma vez que no citosol das células hospedeiras, as vacinas de mRNA direcionam a produção de antígenos e se degradam rapidamente. Em comparação com as vacinas de DNA, o risco de mutação das vacinas de mRNA é reduzido, uma vez que estas não se integram no genoma do hospedeiro. Para melhorar a estabilidade da vacina de mRNA, foi utilizada uma técnica de encapsulação em nanopartículas lipídicas (Chary *et al.*, 2020).

Embora estas vacinas tenham benefícios potenciais promissores, várias preocupações em relação à segurança das vacinas de mRNA foram identificadas. Os riscos mais importantes incluem a possibilidade de poderem gerar respostas fortes de interferão tipo I potencialmente causadoras de inflamação e doenças autoimunes (Pardi *et al.*, 2018).

De acordo com Pormohammad *et al.* (2021), as vacinas COVID-19 baseadas em mRNA mostraram ser 94,6% eficazes em estudos clínicos e evidenciaram maior eficácia após a segunda dose. Entre os ensaios clínicos realizados com vacinas COVID-19, aquelas que eram baseadas em mRNA tiveram o nível mais alto de efeitos colaterais relatados. Todavia, poucas pessoas experimentaram efeitos colaterais extremos, tendo a vacina estimulado respostas imunológicas robustas.

As vacinas de mRNA são as mais eficazes contra COVID-19, enquanto o risco e o grau de eventos adversos não são significativos, em comparação com os sintomas graves induzidos por COVID-19 (Cheng *et al.*, 2021). As vacinas de mRNA têm eficiência superior a 94%, mas dependem de reforço para imunogenicidade ótima, especialmente em idosos (McDonald *et al.*, 2021).

d. Vacinas inativadas e vacinas vivas atenuadas (LAV)

Tanto vacinas com as células inativadas (células inteiras mortas), quanto as LAV, compreendem de forma semelhante vários componentes antigénicos e, portanto, são capazes de induzir uma ampla resposta imunológica (Sharma, Krause e Worgall, 2011). Ambas as plataformas são classificadas como vacinas convencionais com tecnologias de preparação maduras (Zhang *et al.*, 2020a). As vacinas inativadas são produzidas a partir de microrganismos que são mortos física ou quimicamente. Por outro lado, essas vacinas nem sempre são capazes de induzir uma resposta imunológica e, mesmo que ocorra uma resposta, pode não durar muito. Portanto, várias doses da vacina podem ser necessárias para gerar uma resposta imune adequada. Por outro lado, essa plataforma vacinal não apresenta risco de indução da doença e é considerada mais estável em relação às LAV (Sumirtanurdin e Barliana, 2021).

No entanto, o uso de LAV é limitado devido à sua baixa segurança e estabilidade. Patógenos atenuados ainda podem reverter à sua forma original e causar doenças, como

no caso da poliomielite parálitica associada à vacina. Pessoas com sistema imunológico enfraquecido, como infectados com HIV, não são candidatas a receber LAV. Além disso, o desenvolvimento das LAV implica o uso de culturas celulares e, portanto, estas vacinas estão sujeitas a contaminação por outros vírus presentes no meio de cultura (Sumirtanurdin e Barliana, 2021).

e. Vacinas de partículas semelhantes a vírus

Partículas semelhantes a vírus (VLPs) são estruturas supramoleculares de multiproteínas e possuem várias características de um vírus (Kushnir, Streatfield e Yusibov, 2020).

As VLPs mimetizam a conformação de vírus nativos sem possuir propriedades infecciosas, pois não carregam material genético. As VLPs podem ser produzidas em mais de 170 hospedeiros, incluindo bactérias, insetos, fungos, mamíferos e células vegetais. Quando dentro do sistema imunológico do hospedeiro, as VLPs induzem uma resposta imunológica, sem desencadear o aparecimento de efeitos colaterais, o que acontece com os vírus nativos (Sumirtanurdin e Barliana, 2021).

As vacinas baseadas em VLPs são projetadas principalmente para visar células B e induzir respostas de anticorpos potentes após a ativação de células T auxiliares (Sumirtanurdin e Barliana, 2021). Algumas vacinas de VLPs, candidatas ao combate à COVID-19, já estão em ensaio clínicos, com os identificadores NCT04773665 e NCT04450004.

f. Vacinas baseadas em vetores virais replicativos e não replicantes

Os vetores virais fornecem um meio de entrega de antígenos de uma vacina às células ou tecidos alvo. Esses vetores podem geralmente ser classificados como vetores replicativos ou não replicantes. Cada vetor possui características únicas, incluindo capacidade de inserção, para além de vantagens e desvantagens (Sumirtanurdin e Barliana, 2021).

O vírus da estomatite vesicular recombinante (VSV) tem sido usado para programas de desenvolvimento de vacinas candidatas à SARS-CoV-2. As vantagens do VSV, em relação a outros vetores, incluem a replicação no citoplasma, o que evita a interação com

o DNA da célula hospedeira, alta expressão do transgene devido à interrupção da tradução do mRNA da célula hospedeira, processos de produção fáceis, um baixo nível de imunidade prévia e a capacidade de ser entregue através da mucosa. No entanto, o VSV é neurovirulento em roedores e primatas não humanos. Assim, a atenuação da virulência deve ser realizada para atender aos critérios de segurança, e formas de melhorar a imunogenicidade do vetor atenuado devem ser exploradas (Johnson *et al.*, 2007).

Dois estudos da equipa responsável pela vacina Oxford para a COVID-19, descreveram as respostas imunológicas desencadeadas em adultos saudáveis, após uma ou duas doses da sua vacina baseada num vetor adenoviral:

- Em caso de dose única, a vacinação induziu uma resposta imune envolvendo linfócitos T reativos às proteínas S, linfócitos B, anticorpos IgG, IgM e IgA específicos para a proteína S;
- A segunda dose aumentou os títulos de anticorpos anti-proteína spike e a sua atividade neutralizante e promoveu ainda mais as respostas das células T, mas também melhorou a capacidade funcional dos anticorpos anti-proteína S para apoiar a fagocitose dependente de anticorpos e a ativação celular das células NK.

Assim, um regime de duas doses para a vacina é mais eficaz na promoção da imunidade contra a SARS-CoV-2 e também parece ser bem tolerado (Bordon, 2021). A eficácia das vacinas com vetor de adenovírus, após a primeira e segunda doses, foi maior contra o antígeno do domínio de ligação ao recetor, 3 semanas após as injeções. O adenovírus vetorizado para COVID-19 mostrou a maior eficácia após as primeiras doses (Pormohammad *et al.*, 2021).

III. CONCLUSÃO

Hidroxicloroquina, antivirais, anticorpos monoclonais ou outros fármacos imunomoduladores, medicamentos que intervêm no sistema renina-angiotensina são a medicação que mais estudada foi nos ensaios clínicos COVID-19. Parece que entre os diferentes mecanismos terapêuticos propostos, as propriedades antivirais, anti-inflamatórias e imunomoduladoras têm um papel central no combate à doença COVID-19. À medida que a incidência de COVID-19 aumentou ao longo do tempo, mais esforços foram feitos para preparar o caminho para estratégias terapêuticas para lidar com a progressão da doença. No entanto, várias abordagens terapêuticas ou profiláticas continuam em desenvolvimento para tratar/prevenir a COVID-19, incluindo terapia celular, uso do plasma do paciente em recuperação, remédios fitoterápicos, medicina tradicional chinesa, suplementos, medicamentos e vacinas.

Atualmente, ainda não há cura conhecida para esta doença, pelo que a corrida para desenvolver vacinas e fármacos eficazes para a COVID-19 continua a ser uma realidade. Para além de ser essencial promover profilaxia / tratamentos seguros e acessíveis, há que ter em atenção a situação dos países mais pobres, que continuam a ter uma grande dificuldade de acesso a vacinas e terapêutica. Há estudos que mostram que medicamentos que têm sido usados para tratar a COVID-19, de que é exemplo o remdesivir, poderiam ser fabricados a preços muito mais baixos. Apesar disso, os preços atuais desses fármacos são significativamente mais elevados do que os custos de fabrico.

BIBLIOGRAFIA

Abd-Elsalam, S., *et al.* (2021). Do zinc supplements enhance the clinical efficacy of hydroxychloroquine?: a randomized, multicenter trial. *Biological Trace Element Research*, 199(10), pp. 3642-3646.

Abioye, A. I., Bromage, S., e Fawzi, W. (2021). Effect of micronutrient supplements on influenza and other respiratory tract infections among adults: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Global Health*, 6(1), e003176.

Ali, I., e Alharbi, O. M. (2020). COVID-19: Disease, management, treatment, and social impact. *Science of the Total Environment*, 728, 138861.

Amanat, F., e Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*, 52(4), pp. 583-589.

Apolone, G., *et al.* (2020). Unexpected detection of SARS-CoV-2 antibodies in the pre-pandemic period in Italy. *Tumori Journal*, 0300891620974755.

Awadasseid, A., *et al.* (2021). SARS-CoV-2 variants evolved during the early stage of the pandemic and effects of mutations on adaptation in Wuhan populations. *International Journal of Biological Sciences*, 17(1), pp. 97-106.

Axfors, C., *et al.* (2021). Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials. *Nature Communications*, 12(1), pp. 1-13.

Babaei, F., *et al.* (2021). Review of registered clinical trials for the treatment of COVID-19. *Drug Development Research*, 82(4), pp. 474-493.

Bae, M., e Kim, H. (2020). The role of vitamin C, vitamin D, and selenium in immune system against COVID-19. *Molecules*, 25(22), pp. 1-12.

Baron, S. A., *et al.* (2020). Teicoplanin: an alternative drug for the treatment of COVID-19?. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(4), 105944.

Beigel, J. H. *et al.* (2020). Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *New England Journal of Medicine*, 383(19), pp. 1813–1826.

Black, S., *et al.* (2020). Transforming vaccine development. *Seminars in Immunology*, 50, 101413.

Bordon, Y. (2021). Immune readouts from the Oxford COVID-19 vaccine. *Nature Reviews Immunology*, 21(2), pp. 70-71.

Bousoik, E., e Montazeri Aliabadi, H. (2018). “Do we know jack” about JAK? A closer look at JAK/STAT signaling pathway. *Frontiers in Oncology*, 8, 287.

Brouqui, P., *et al.* (2021). COVID-19 re-infection. *European Journal of Clinical Investigation*, 51(5), e13537.

Brown, B. L., e McCullough, J. (2020). Treatment for emerging viruses: Convalescent plasma and COVID-19. *Transfusion and Apheresis Science*, 59(3), 102790.

Caly, L., *et al.* (2020). The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*, 178, 104787.

Cao, W., e Li, T. (2020). COVID-19: towards understanding of pathogenesis. *Cell Research*, 30(5), pp. 367-369.

Cao, B., *et al.* (2020a). A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 382(19), pp. 1787–1799.

Cao, Y., *et al.* (2020b). Ruxolitinib in treatment of severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A multicenter, single-blind, randomized controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 146(1), pp. 137-146.

Capochiani, E., *et al.* (2020). Ruxolitinib rapidly reduces acute respiratory distress syndrome in COVID-19 disease. Analysis of data collection from RESPIRE protocol. *Frontiers in Medicine*, 7, 466.

Carlucci, P. M., *et al.* (2020). Zinc sulfate in combination with a zinc ionophore may improve outcomes in hospitalized COVID-19 patients. *Journal of Medical Microbiology*, 69(10), pp. 1228-1234.

Castillo, M. E., *et al.* (2020). Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy on intensive care unit admission and mortality among patients hospitalized for COVID-19: A pilot randomized clinical study. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 203, 105751.

Cavalli, G., *et al.* (2020). Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *The Lancet Rheumatology*, 2(6), pp. e325-e331.

Ceccarelli, G., *et al.* (2021). The role of teicoplanin in the treatment of SARS-CoV-2 infection: A retrospective study in critically ill COVID-19 patients (Tei-COVID study). *Journal of Medical Virology*, 93(7), pp. 4319-4325.

Chary, M. A., *et al.* (2020). COVID-19: therapeutics and their toxicities. *Journal of Medical Toxicology*, 16(3), pp. 284-294.

Chen, B., *et al.* (2020). Overview of lethal human coronaviruses. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), pp. 1-16.

Cheng, H., *et al.* (2021). Efficacy and Safety of COVID-19 Vaccines in Phase III Trials: A Meta-Analysis. *Vaccines*, 9(6), 582.

Choi, B., *et al.* (2020). Persistence and evolution of SARS-CoV-2 in an immunocompromised host. *New England Journal of Medicine*, 383(23), pp. 2291-2293.

Colunga Biancatelli, R. M. L., *et al.* (2020). Quercetin and vitamin C: an experimental, synergistic therapy for the prevention and treatment of SARS-CoV-2 related disease (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, 11, 1451.

Dastan, F., *et al.* (2020a). Promising effects of tocilizumab in COVID-19: a non-controlled, prospective clinical trial. *International Immunopharmacology*, 88, 106869.

Dastan, F., *et al.* (2020b). Subcutaneous administration of interferon beta-1a for COVID-19: A non-controlled prospective trial. *International Immunopharmacology*, 85, 106688.

Davoodi, L., *et al.* (2020). Febuxostat therapy in outpatients with suspected COVID-19: A clinical trial. *International Journal of Clinical Practice*, 74(11), e13600.

Davoudi-Monfared, E., *et al.* (2020). A randomized clinical trial of the efficacy and safety of interferon β -1a in treatment of severe COVID-19. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(9), e01061-20.

D'Cruze, H., Arroll, B., e Kenealy, T. (2009). Is intranasal zinc effective and safe for the common cold? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Primary Health Care*, 1(2), pp. 134-139.

Deb, B., Shah, H., e Goel, S. (2020). Current global vaccine and drug efforts against COVID-19: Pros and cons of bypassing animal trials. *Journal of Biosciences*, 45(1), pp. 1-10.

Deftereos, S. G., *et al.* (2020). Effect of colchicine vs standard care on cardiac and inflammatory biomarkers and clinical outcomes in patients hospitalized with coronavirus disease 2019: the GRECCO-19 randomized clinical trial. *JAMA Network Open*, 3(6), pp. e2013136-e2013136.

Derwand, R., e Scholz, M. (2020). Does zinc supplementation enhance the clinical efficacy of chloroquine/hydroxychloroquine to win today's battle against COVID-19?. *Medical Hypotheses*, 142, 109815.

Derwand, R., Scholz, M., e Zelenko, V. (2020). COVID-19 outpatients: early risk-stratified treatment with zinc plus low-dose hydroxychloroquine and azithromycin: a retrospective case series study. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(6), 106214.

DGS (2021) Ponto de Situação Atual em Portugal. Direção Geral de Saúde. Disponível em: <https://covid19.min-saude.pt/ponto-de-situacao-atual-em-portugal/> (Acedido em: 7 de Setembro de 2021).

Echeverría-Esnal, D., *et al.* (2021). Azithromycin in the treatment of COVID-19: a review. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 19(2), pp. 147-163.

Enayatkhani, M., *et al.* (2021). Reverse vaccinology approach to design a novel multi-epitope vaccine candidate against COVID-19: an in silico study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(8), pp. 2857-2872.

Fan, A. Y., *et al.* (2020). Chinese herbal medicine for COVID-19: Current evidence with systematic review and meta-analysis. *Journal of Integrative Medicine*, 18(5), pp. 385–394.

Finzi, E. (2020). Treatment of SARS-CoV-2 with high dose oral zinc salts: A report on four patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 99, pp. 307-309.

Galmiche, S. *et al.* (2020). Etude des facteurs sociodémographiques, comportements et pratiques associés à l'infection par le SARS-CoV-2 (ComCor). Institut Pasteur en partenariat avec la Caisse Nationale d'Assurance Maladie, l'institut Ipsos et Santé Publique France. Disponível em: <https://www.pasteur.fr/fr/file/37907/download> (Acedido em: 26 de Janeiro de 2021).

Gautret, P., *et al.* (2020). Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1), 105949.

Gharebaghi, N., *et al.* (2020). The use of intravenous immunoglobulin gamma for the treatment of severe coronavirus disease 2019: a randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), pp. 1-8.

Gies, V., *et al.* (2020). Beyond anti-viral effects of chloroquine/hydroxychloroquine. *Frontiers in Immunology*, 11, 1409.

Golchin, A. (2021). Cell-based therapy for severe COVID-19 patients: clinical trials and cost-utility. *Stem Cell Reviews and Reports*, 17(1), pp. 56-62.

Graham, B. S. (2013). Advances in antiviral vaccine development. *Immunological Reviews*, 255(1), pp. 230-242.

Grant, W. B., *et al.* (2020). Evidence that vitamin D supplementation could reduce risk of influenza and COVID-19 infections and deaths. *Nutrients*, 12(4), 988.

Grein, J., *et al.* (2020). Compassionate use of remdesivir for patients with severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 382(24), pp. 2327-2336.

Guly, U., e Driscoll, P. (1992). The management of quinine-induced blindness. *Emergency Medicine Journal*, 9(3), pp. 317-322.

Heller, R. A., *et al.* (2021). Prediction of survival odds in COVID-19 by zinc, age and selenoprotein P as composite biomarker. *Redox Biology*, 38, 101764.

Hempelmann, E. (2007). Hemozoin biocrystallization in *Plasmodium falciparum* and the antimalarial activity of crystallization inhibitors. *Parasitology Research*, 100(4), pp. 671-676.

Hernandez, A. V., *et al.* (2020). Hydroxychloroquine or chloroquine for treatment or prophylaxis of COVID-19: a living systematic review. *Annals of Internal Medicine*, 173(4), pp. 287-296.

Holford, P., *et al.* (2020). Vitamin C—An adjunctive therapy for respiratory infection, sepsis and COVID-19. *Nutrients*, 12(12), 3760.

Huang, D., *et al.* (2021). Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, 93(1), pp. 481-490.

Iwasaki, A., e Yang, Y. (2020). The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 20(6), pp. 339-341.

Jackson, J. L., Peterson, C., e Lesho, E. (1997). A meta-analysis of zinc salts lozenges and the common cold. *Archives of Internal Medicine*, 157(20), pp. 2373-2376.

Jackson, L. A., *et al.* (2020). An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *The New England Journal of Medicine*, 383(20), pp. 1920–1931.

Jaeger, A., *et al.* (1987). Clinical features and management of poisoning due to antimalarial drugs. *Medical Toxicology and Adverse Drug Experience*, 2(4), pp. 242-273.

Jean, S. S., Lee, P. I., e Hsueh, P. R. (2020). Treatment options for COVID-19: The reality and challenges. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 53(3), pp. 436-443.

Johnson, J. E., *et al.* (2007). Neurovirulence properties of recombinant vesicular stomatitis virus vectors in non-human primates. *Virology*, 360(1), pp. 36-49.

Johnstone, J., *et al.* (2012). Zinc for the treatment of the common cold: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Canadian Medical Association Journal*, 184(10), pp. E551-E561.

Jothimani, D., *et al.* (2020). COVID-19: Poor outcomes in patients with zinc deficiency. *International Journal of Infectious Diseases*, 100, pp. 343-349.

Joyner, M. J., *et al.* (2020). Early safety indicators of COVID-19 convalescent plasma in 5000 patients. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(9), pp. 4791–4797.

Kadam, R. U., e Wilson, I. A. (2017). Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(2), pp. 206-214.

Kaur, S. P., e Gupta, V. (2020). COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report. *Virus Research*, 288, 198114.

Khalili, J. S., *et al.* (2020). Novel coronavirus treatment with ribavirin: Groundwork for an evaluation concerning COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 92(7), pp. 740-746.

Kushnir, N., Streatfield, S. J., e Yusibov, V. (2012). Virus-like particles as a highly efficient vaccine platform: diversity of targets and production systems and advances in clinical development. *Vaccine*, 31(1), pp. 58-83.

Lanke, K., *et al.* (2007). PDTC inhibits picornavirus polyprotein processing and RNA replication by transporting zinc ions into cells. *Journal of General Virology*, 88(4), pp. 1206-1217.

Lee, L. Y. Y., Izzard, L., e Hurt, A. C. (2018). A review of DNA vaccines against influenza. *Frontiers in Immunology*, 9, 1568.

Lei, G. S., *et al.* (2017). Mechanisms of action of vitamin D as supplemental therapy for *Pneumocystis pneumonia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(10), pp. e01226-17.

Li, H., *et al.* (2020a). Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105951.

Li, X., *et al.* (2020b). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2), pp. 102-108.

Liu, M. A. (2019). A comparison of plasmid DNA and mRNA as vaccine technologies. *Vaccines*, 7(2), 37.

Long, Q. X., *et al.* (2020). Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature Medicine*, 26(8), pp. 1200-1204.

Luo, X., *et al.* (2021). The add-on effect of Chinese herbal medicine on COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine*, 85, 153282.

Majumder, J., e Minko, T. (2021). Recent Developments on Therapeutic and Diagnostic Approaches for COVID-19. *The AAPS Journal*, 23(1), pp. 1-22.

Market, M., *et al.* (2020). Flattening the COVID-19 curve with natural killer cell based immunotherapies. *Frontiers in Immunology*, 11, 1512.

McDonald, I., *et al.* (2021). Comparative systematic review and meta-analysis of reactogenicity, immunogenicity and efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. *Vaccines*, 6(1), pp. 1-14.

Million, M., *et al.* (2020). Early treatment of COVID-19 patients with hydroxychloroquine and azithromycin: A retrospective analysis of 1061 cases in Marseille, France. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 35, 101738.

Naqvi, A. A. T., *et al.* (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1866(10), 165878.

OMS (2013). Vaccins Sous-Unitaires. Organização Mundial de Saúde. Disponível em: <https://fr.vaccine-safety-training.org/vaccins-sous-unitaires.html> (Acedido em: 11 de Setembro de 2021).

OMS (2021a). Considérations relatives au placement en quarantaine des personnes ayant été en contact avec des cas de COVID-19. Organização Mundial de Saúde. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/342626/WHO-2019-nCoV-IHR-Quarantine-2021.1-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Acedido em: 9 de Agosto de 2021).

OMS (2021b). COVID-19 vaccine tracker and landscape. Organização Mundial de Saúde. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (Acedido em: 9 de Agosto de 2021).

OMS (2021c). Recherche des contacts dans le cadre de la COVID-19. Organização Mundial de Saúde. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/339599/WHO-2019-nCoV-Contact-Tracing-2021.1-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Acedido em: 9 de Agosto de 2021).

Pani, A., *et al.* (2020). Macrolides and viral infections: focus on azithromycin in COVID-19 pathology. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(2), 106053.

Pardi, N., *et al.* (2018). mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nature Reviews Drug Discovery*, 17(4), pp. 261-279.

Parnham, M. J., *et al.* (2014). Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacology e Therapeutics*, 143(2), pp. 225-245.

Patel, O., *et al.* (2021). A pilot double-blind safety and feasibility randomized controlled trial of high-dose intravenous zinc in hospitalized COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology*, 93(5), pp. 3261-3267.

Perrone, F., *et al.* (2020). Tocilizumab for patients with COVID-19 pneumonia. The single-arm TOCIVID-19 prospective trial. *Journal of Translational Medicine*, 18(1), pp. 1-11.

Peters, D. H., Friedel, H. A., e McTavish, D. (1992). Azithromycin. *Drugs*, 44(5), pp. 750-799.

Petrosillo, N., *et al.* (2020). COVID-19, SARS and MERS: are they closely related?. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(6), pp. 729-734.

Pollet, J., Chen, W. H. e Strych, U. (2021). Recombinant protein vaccines, a proven approach against coronavirus pandemics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 170, pp. 71-82.

Pormohammad, A., *et al.* (2021). Efficacy and Safety of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Vaccines*, 9(5), 467.

Prasad, A. S. (2009). Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition e Metabolic Care*, 12(6), pp. 646-652.

Qu, W., *et al.* (2020). Cell-based therapy to reduce mortality from COVID-19: Systematic review and meta-analysis of human studies on acute respiratory distress syndrome. *Stem Cells Translational Medicine*, 9(9), pp. 1007-1022.

Quartuccio, L., *et al.* (2020). Higher levels of IL-6 early after tocilizumab distinguish survivors from nonsurvivors in COVID-19 pneumonia: A possible indication for deeper targeting of IL-6. *Journal of Medical Virology*, 92(11), pp. 2852-2856.

Rab, S., *et al.* (2020). An update on the global vaccine development for coronavirus. *Diabetes e Metabolic Syndrome*, 14(6), 2053.

Rabbani, A. B., Parikh, R. V., e Rafique, A. M. (2020). Colchicine for the treatment of myocardial injury in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)—an old drug with new life?. *JAMA Network Open*, 3(6), pp. e2013556-e2013556.

Rahmani, H., *et al.* (2020). Interferon β -1b in treatment of severe COVID-19: a randomized clinical trial. *International Immunopharmacology*, 88, 106903.

Rameshrad, M., *et al.* (2020). A comprehensive review on drug repositioning against coronavirus disease 2019 (COVID19). *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393, pp. 1137-1152.

Read, S. A., *et al.* (2019). The role of zinc in antiviral immunity. *Advances in Nutrition*, 10(4), pp. 696-710.

Riou, B., *et al.* (1988). Treatment of severe chloroquine poisoning. *New England Journal of Medicine*, 318(1), pp. 1-6.

Roberts, D. M., Ray, J. E., e Buckley, N. A. (2008). Mild clinical toxicity and dose-dependent pharmacokinetics following acute lopinavir/ritonavir poisoning in a HIV-positive patient. *Aids*, 22(6), pp. 792-793.

Roldan, E. Q., *et al.* (2020). The possible mechanisms of action of 4-aminoquinolines (chloroquine/hydroxychloroquine) against Sars-Cov-2 infection (COVID-19): A role for iron homeostasis?. *Pharmacological Research*, 158, 104904.

Saldanha-Araujo, F., *et al.* (2020). Mesenchymal stem cells: a new piece in the puzzle of COVID-19 treatment. *Frontiers in Immunology*, 11, 1563.

Satarker, S., *et al.* (2021). JAK-STAT pathway inhibition and their implications in COVID-19 therapy. *Postgraduate Medicine*, 133(5), pp. 489-507.

Scarsi, M., *et al.* (2020). Association between treatment with colchicine and improved survival in a single-centre cohort of adult hospitalised patients with COVID-19 pneumonia and acute respiratory distress syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(10), pp. 1286-1289.

Schrezenmeier, E., e Dörner, T. (2020). Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(3), pp. 155-166.

Seif, F., *et al.* (2020). JAK inhibition as a new treatment strategy for patients with COVID-19. *International Archives of Allergy and Immunology*, 181(6), pp. 467-475.

Sekine, L., *et al.* (2021). Convalescent plasma for COVID-19 in hospitalised patients: an open-label, randomised clinical trial. *The European Respiratory Journal*, 2101471. Advance online publication. <https://doi.org/10.1183/13993003.01471-2021>

Sengupta, V., *et al.* (2020). Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19. *Stem Cells and Development*, 29(12), pp. 747-754.

Shanmugaraj, B., *et al.* (2020). Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pacific journal of Allergy and Immunology*, 38(1), pp. 10-18.

Sharma, A., Krause, A., e Worgall, S. (2011). Recent developments for *Pseudomonas* vaccines. *Human Vaccines*, 7(10), pp. 999-1011.

Sharun, K., *et al.* (2020). Ivermectin, a new candidate therapeutic against SARS-CoV-2/COVID-19. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19(1), 23.

Shih, H. I., *et al.* (2020). Fighting COVID-19: A quick review of diagnoses, therapies, and vaccines. *Biomedical Journal*, 43(4), pp. 341-354.

Shittu, M. O., e Afolami, O. I. (2020). Improving the efficacy of Chloroquine and Hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 may require Zinc additives-A better synergy for future COVID-19 clinical trials. *Infez Medicine*, 28(2), pp. 192-197.

Shu, L., *et al.* (2020). Treatment of severe COVID-19 with human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research e Therapy*, 11(1), pp. 1-11.

Silveira, M. M., *et al.* (2017). DNA vaccines against leptospirosis: A literature review. *Vaccine*, 35(42), pp. 5559-5567.

Silveira, M. M., Moreira, G., e Mendonça, M. (2021). DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. *Life Sciences*, 267, 118919.

Sivapalan, P., *et al.* (2021). Azithromycin and hydroxychloroquine in hospitalised patients with confirmed COVID-19-a randomised double-blinded placebo-controlled trial. *The European Respiratory Journal*, 2100752. Advance online publication. <https://doi.org/10.1183/13993003.00752-2021>

Skalny, A. V., *et al.* (2020). Zinc and respiratory tract infections: Perspectives for COVID-19. *International Journal of Molecular Medicine*, 46(1), pp. 17-26.

Solaymani-Dodaran, M., *et al.* (2021). Safety and efficacy of Favipiravir in moderate to severe SARS-CoV-2 pneumonia. *International Immunopharmacology*, 95, 107522.

Song, Z., *et al.* (2019). From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses*, 11(1), 59.

Sumirtanurdin, R., e Barliana, M. I. (2021). Coronavirus disease 2019 vaccine development: an overview. *Viral Immunology*, 34(3), pp. 134-144.

Tanumihardjo, S. A., *et al.* (2016). Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—vitamin A review. *The Journal of Nutrition*, 146(9), pp. 1816S-1848S.

Tarek, M., e Savarino, A. (2020). Pharmacokinetic basis of the Hydroxychloroquine response in COVID-19: Implications for therapy and prevention. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 45(6), pp. 715-723.

Te Velthuis, A. J., *et al.* (2010). Zn²⁺ inhibits coronavirus and arterivirus RNA polymerase activity in vitro and zinc ionophores block the replication of these viruses in cell culture. *PLoS Pathogens*, 6(11), e1001176.

Thanh Le, T., *et al.* (2020). The COVID-19 vaccine development landscape. Nature reviews. *Drug Discovery*, 19(5), pp. 305–306.

Tregoning, J. S., *et al.* (2020). Vaccines for COVID-19. *Clinical e Experimental Immunology*, 202(2), pp. 162-192.

Tsai, S. C., *et al.* (2021). Approaches towards fighting the COVID-19 pandemic (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 47(1), pp. 3–22.

Ulrich, H., Pillat, M. M., e Tárnok, A. (2020). Dengue fever, COVID-19 (SARS-CoV-2), and antibody-dependent enhancement (ADE): a perspective. *Cytometry Part A*, 97(7), pp. 662-667.

Van Schoor, N., e Lips, P. (2017). Global overview of vitamin D status. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 46(4), pp. 845-870.

Vázquez-Laslop, N., e Mankin, A. S. (2018). How macrolide antibiotics work. *Trends in Biochemical Sciences*, 43(9), pp. 668-684.

Verstovsek, S. (2013). Ruxolitinib: an oral Janus kinase 1 and Janus kinase 2 inhibitor in the management of myelofibrosis. *Postgraduate Medicine*, 125(1), pp. 128-135.

Vijayvargiya, P., *et al.* (2020). Treatment considerations for COVID-19: a critical review of the evidence (or lack thereof). *Mayo Clinic Proceedings*, 95(7), pp. 1454-1466.

Vincent, M. J., *et al.* (2005). Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology Journal*, 2(1), pp. 1-10.

Wang, L., e Song, Y. (2018). Efficacy of zinc given as an adjunct to the treatment of severe pneumonia: A meta-analysis of randomized, double-blind and placebo-controlled trials. *The Clinical Respiratory Journal*, 12(3), pp. 857-864.

Wang, N., *et al.* (2020a). Subunit vaccines against emerging pathogenic human coronaviruses. *Frontiers in Microbiology*, 11, 298.

Wang, Y., *et al.* (2020b). Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *The Lancet*, 395(10236), pp. 1569-1578.

Wang, M. X., Gwee, S. X. W., e Pang, J. (2021). Micronutrients Deficiency, Supplementation and Novel Coronavirus Infections—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 13(5), 1589.

Wei, F., *et al.* (2021). Efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells for the treatment of patients with COVID-19. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 76, e2604.

WHO (2021). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. World Health Organization. Disponível em: <https://covid19.who.int> (Acedido em: 7 de Setembro de 2021).

WHO Solidarity Trial Consortium. (2021). Repurposed antiviral drugs for COVID-19—interim WHO SOLIDARITY trial results. *New England Journal of Medicine*, 384(6), pp. 497-511.

Wibawa, T. (2021). COVID-19 vaccine research and development: ethical issues. *Tropical Medicine e International Health*, 26(1), pp. 14-19.

Wolfe, F., e Marmor, M. F. (2010). Rates and predictors of hydroxychloroquine retinal toxicity in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care e Research*, 62(6), pp. 775-784.

Wu, A., *et al.* (2020). Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host e Microbe*, 27(3), pp. 325-328.

Xie, M., e Chen, Q. (2020). Insight into 2019 novel coronavirus—An updated interim review and lessons from SARS-CoV and MERS-CoV. *International Journal of Infectious Diseases*, 94, pp. 119-124.

Xu, X., *et al.* (2021). Evaluation of the safety and efficacy of using human menstrual blood-derived mesenchymal stromal cells in treating severe and critically ill COVID-19 patients: An exploratory clinical trial. *Clinical and Translational Medicine*, 11(2), e297.

Yang, Z. Y., *et al.* (2004). A DNA vaccine induces SARS coronavirus neutralization and protective immunity in mice. *Nature*, 428(6982), pp. 561-564.

Yang, N., e Shen, H. M. (2020). Targeting the endocytic pathway and autophagy process as a novel therapeutic strategy in COVID-19. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1724.

Yang, Y., *et al.* (2020). Traditional Chinese medicine in the treatment of patients infected with 2019-new coronavirus (SARS-CoV-2): a review and perspective. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1708.

Yao, T. T., *et al.* (2020). A systematic review of lopinavir therapy for SARS coronavirus and MERS coronavirus—A possible reference for coronavirus disease-19 treatment option. *Journal of Medical Virology*, 92(6), pp. 556-563.

Yasui, Y., *et al.* (2020). Analysis of the predictive factors for a critical illness of COVID-19 during treatment-relationship between serum zinc level and critical illness of COVID-19-. *International Journal of Infectious Diseases*, 100, pp. 230-236.

Yi, Y., *et al.* (2020). COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1753.

Yin, Y., e Wunderink, R. G. (2018). MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology*, 23(2), pp. 130-137.

Yu, W. B., *et al.* (2020). Decoding the evolution and transmissions of the novel pneumonia coronavirus (SARS-CoV-2/HCoV-19) using whole genomic data. *Zoological Research*, 41(3), 247.

Yuki, K., Fujiogi, M., e Koutsogiannaki, S. (2020). COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology*, 215, 108427.

Zhang, C., *et al.* (2019). Advances in mRNA vaccines for infectious diseases. *Frontiers in Immunology*, 10, 594.

Zhang, J., *et al.* (2020). Progress and prospects on vaccine development against SARS-CoV-2. *Vaccines*, 8(2), 153.

Zhang, X., *et al.* (2020). Baricitinib, a drug with potential effect to prevent SARS-COV-2 from entering target cells and control cytokine storm induced by COVID-19. *International Immunopharmacology*, 86, 106749.

Zhang, J., *et al.* (2021). Pilot trial of high-dose vitamin C in critically ill COVID-19 patients. *Annals of Intensive Care*, 11(1), pp. 1-12.

Zhou, Q., *et al.* (2020). Interferon- α 2b Treatment for COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11, 1061.