

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



A estratégia dos surfactantes pulmonares no SARS-CoV-2

Leonor Almeida Lago

Monografia orientada pela Professora Doutora Lídia Maria Veloso
Pinheiro, Professora Auxiliar e coorientada pela Professora Doutora Célia
Maria Cardona Faustino, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2022

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



A estratégia dos surfactantes pulmonares no SARS-CoV-2

Leonor Almeida Lago

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Lídia Maria Veloso
Pinheiro, Professora Auxiliar e coorientada pela Professora Doutora Célia
Maria Cardona Faustino, Professora Auxiliar

2022

Resumo

Esta monografia apresenta de forma resumida o novo coronavírus SARS-CoV-2 e a doença por si provocada (COVID-19). Neste contexto, faz-se uma breve apresentação das características do vírus, da fisiopatologia e epidemiologia da doença.

De acordo com as potenciais terapêuticas a aplicar no tratamento da COVID-19, o trabalho está centrado na terapêutica com surfactantes pulmonares. Deste modo, faz-se uma breve apresentação dos surfactantes, nomeadamente da classificação química dos mesmos.

Relativamente aos surfactantes pulmonares apresentam-se as suas principais características e aplicações terapêuticas.

Das várias abordagens terapêuticas discutem-se os benefícios e riscos dos surfactantes pulmonares. Estes não apresentam efeito profilático, nem eliminam o vírus, mas demonstram eficácia terapêutica associada a uma melhoria da capacidade respiratória dos doentes e conseqüentemente diminuem a necessidade da respiração assistida por ventiladores, assim como estão associados a uma diminuição da taxa de mortalidade.

Palavras-Chave: COVID-19; SARS-CoV-2; Surfactante pulmonar; Células alveolares tipo II; Terapia com surfactantes.

Abstract

This monograph briefly presents the new coronavirus SARS-CoV-2 and the disease it causes (COVID-19). In this context, this monograph shows a brief presentation of the virus's characteristics and the disease's pathophysiology and epidemiology.

According to the potential therapies to be applied in the treatment of COVID-19, the main focus is pulmonary surfactant therapy. Thus, the surfactants are discussed, namely their chemical classification.

The main characteristics and therapeutic applications of pulmonary surfactants are also described. It also presents the benefits and risks of pulmonary surfactants among the various therapeutic approaches.

These do not have a prophylactic effect, nor do they eliminate the virus, but demonstrate therapeutic efficacy associated with an improvement in the respiratory capacity of patients and consequently reduce the need for ventilator-assisted breathing, as well as being associated with a decrease in the mortality rate.

Keywords: Coronavirus disease-19; SARS-CoV-2; Pulmonary surfactant; Alveolar type-II cells; Surfactant therapy.

Agradecimentos

A realização desta monografia representa a conclusão de cinco anos de muito trabalho e dedicação. Não podia terminar sem deixar mais um agradecimento a quem fez a diferença neste meu percurso.

Gostaria de agradecer à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, bem como a todo o seu corpo docente. Um professor deixa sempre a sua marca nos alunos e não poderia estar mais agradecida pela transmissão de conhecimento que pude experienciar nesta casa.

O meu agradecimento em especial à minha orientadora, professora Doutora Lídia Pinheiro, e coorientadora, professora Doutora Célia Faustino, pelo acompanhamento e dedicação durante a realização desta monografia.

Não poderia deixar de agradecer às amigadas que fiz durante o curso, que foram a minha motivação para a escrita desta monografia.

Agradeço aos meus pais e à minha irmã, por todo o apoio, paciência e confiança que depositaram em mim, por todo o carinho nos momentos mais difíceis, espero ter-vos deixado orgulhosos.

Índice

<i>Resumo</i>	<i>i</i>
<i>Abstract</i>	<i>ii</i>
<i>Agradecimentos</i>	<i>iii</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>vii</i>
<i>Índice de tabelas</i>	<i>ix</i>
<i>Símbolos, siglas, acrónimos e abreviaturas</i>	<i>xi</i>
<i>Introdução</i>	<i>1</i>
<i>Capítulo I. Metodologia</i>	<i>3</i>
<i>Capítulo II. Doença causada pelo novo coronavírus (COVID-19)</i>	<i>5</i>
1. Caracterização do vírus	<i>5</i>
2. Fisiopatologia da doença.....	<i>7</i>
3. Epidemiologia da doença	<i>11</i>
4. Inativação do SARS-CoV-2	<i>13</i>
5. Terapêutica	<i>14</i>
<i>Capítulo III. Surfactantes</i>	<i>17</i>
1. Classificação e utilização de surfactantes.....	<i>17</i>
2. Surfactantes pulmonares	<i>18</i>
2.1 Características.....	<i>18</i>
2.2 Tipos de proteínas dos surfactantes pulmonares	<i>19</i>
2.3 Aplicações terapêuticas.....	<i>20</i>
<i>Capítulo IV. COVID-19 versus surfactantes pulmonares</i>	<i>21</i>
1. Abordagens terapêuticas	<i>21</i>
2. Relação benefício-risco da terapêutica	<i>25</i>
<i>Capítulo V. Conclusões e perspectivas futuras</i>	<i>27</i>
<i>Capítulo VI. Bibliografia e referências bibliográficas</i>	<i>29</i>

Índice de figuras

Figura 1 - Estrutura do genoma do SARS-CoV-2.....	7
Figura 2 - Estrutura da glicoproteína S	7
Figura 3 - Representação esquemática do ciclo de vida do SARS-CoV-2	8
Figura 4 - Comparação entre a prevalência de casos de COVID-19 em cada continente e o seu respectivo tamanho populacional.....	11
Figura 5 - Possíveis vias de transmissão do SARS-CoV-2	12
Figura 6 - Recomendações terapêuticas no tratamento da COVID-19	15
Figura 7 - SARS-CoV-2 sem tratamento (A) vs com surfactante exógeno (B).....	22

Índice de tabelas

Tabela 1 - Fatores de risco para SDRA	9
Tabela 2 - Características principais das proteínas dos surfactantes pulmonares.....	20
Tabela 3 - Ensaios clínicos em curso da terapêutica de substituição de surfactantes	24

Símbolos, siglas, acrónimos e abreviaturas

3CLpro	Protease do tipo 3C
ACE2	Enzima conversora da angiotensina 2
ATII	Células epiteliais alveolares tipo II
CMC	Concentração micelar crítica
CoV	Coronavírus
COVID-19	Doença por Coronavírus 2019
DPPC	<i>Dipalmitoylphosphatidylcholine</i> , dipalmitoilfosfatidilcolina
ERGIC	Compartimento Intermediário do Retículo Endoplasmático-Golgi
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> , vírus da imunodeficiência humana
IL-6	Interleucina 6
JAK	<i>Janus Associated Kinases</i>
MERS-CoV	<i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i> , Síndrome Respiratória do Médio Oriente associada ao Coronavírus
N/A	Não aplicável
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	<i>Open Reading Frames</i> , quadros de leitura aberta
PC	<i>Phosphatidylcholine</i> , fosfatidilcolina
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> , reação em cadeia da polimerase
PE	<i>Phosphatidylethanolamine</i> , fosfatidiletanolamina
PI	<i>Phosphatidylinositol</i> , fosfatidilinositol
PLA2	<i>Phospholipase A2</i> , fosfolipase A2
PLpro	Protease do tipo papaína
POPG	1-palmitoil-2-oleoil-fostatilglicerol
pp1	Poliproteína 1
PS	<i>Phosphatidylserine</i> , fosfatidilserina
RBD	<i>Receptor-binding Domain</i> , domínio de ligação ao recetor
RdRp	RNA polimerase dependente de RNA
RER	Retículo Endoplasmático Rugoso
RNA	Ribonucleic Acid, ácido ribonucleico
RTC	<i>Replication/Transcription Complex</i> , complexo de transcrição-replicação

RT-PCR	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
SARS-CoV-1	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 1</i> , Coronavírus 1 responsável pela síndrome respiratória aguda grave
SARS-CoV-2	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i> , Coronavírus 2 responsável pela síndrome respiratória aguda grave
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SDRN	Síndrome do desconforto respiratório neonatal
SM	<i>Sphingomyelin</i> , esfingomielina
SP	Surfactante pulmonar
SP-A	<i>Surfactant protein A</i> , proteína surfactante A
SP-B	<i>Surfactant protein B</i> , proteína surfactante B
SP-C	<i>Surfactant protein C</i> , proteína surfactante C
SP-D	<i>Surfactant protein D</i> , proteína surfactante D
Sub-gRNA	RNA subgenómico
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i> , fatores de necrose tumoral alfa
UV	Ultravioleta

Introdução

A atual pandemia global de COVID-19, causada pelo coronavírus 2 responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2) representa uma crise sem precedentes nos cuidados de saúde e no desenvolvimento social e económico. Isso reforça que os coronavírus (CoVs) estão em constante evolução, possuindo a maleabilidade genética para se tornarem altamente patogénicos em humanos (1).

A COVID-19 é responsável por aproximadamente 520 milhões de casos identificados com cerca de 6 milhões de mortes em todo o mundo. Variantes genéticas do SARS-CoV-2 continuam a surgir e expandir desde o final de 2020 (2).

Apesar da elevada eficácia das vacinas para o SARS-CoV-2, e devido ao surgimento contínuo das novas variantes, torna-se emergente o avanço na investigação de novas vacinas. Consequentemente será sempre necessário complementar estas medidas profiláticas com medidas terapêuticas. Neste contexto os surfactantes pulmonares (SP) ganharam relevância, uma vez que embora não eliminem a doença minimizam os efeitos indesejáveis da mesma.

A interação de surfactantes com vírus tem sido tema de investigação há muitos anos, principalmente pelo interesse de inativar vírus. Com a pandemia de COVID-19, esse tópico recuperou o interesse, pois realçou que a desativação da atividade do vírus pode ser essencial para a sobrevivência humana (3).

Dentro das mais variadas abordagens terapêuticas para esta doença, é de realçar os surfactantes pulmonares. O surfactante pulmonar é um complexo de lípidos e proteínas que aumenta a eliminação de agente patogénico e regula as funções das células imunes adaptativas e inatas (4).

A terapia com SP sintético ou derivado de animais exógenos já mostrou imenso sucesso no tratamento da síndrome do desconforto respiratório neonatal (SDRN) e tem o potencial de contribuir eficientemente para a regeneração de alvéolos danificados e prevenir a insuficiência respiratória associada ao coronavírus 2 responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2) (5).

O objetivo principal deste trabalho consiste no estudo dos surfactantes pulmonares e das suas potencialidades no tratamento da COVID-19.

No contexto da pandemia por COVID-19, e de forma complementar ao desenvolvimento de vacinas, têm vindo a ser desenvolvidos novos fármacos para o tratamento desta infeção e também têm sido discutidas as potencialidades de alguns fármacos ou grupos de fármacos já conhecidos. Neste último grupo, incluem-se alguns antibióticos e os surfactantes pulmonares.

Para permitir uma fácil compreensão e contextualização do tema, o presente documento foi estruturado em quatro capítulos. O primeiro capítulo é introdutório, seguido de dois capítulos de carácter teórico e o último capítulo faz uma breve conclusão apresentando algumas hipóteses de trabalhos futuros nesta área.

O capítulo II contempla informação considerada relevante acerca da Doença COVID-19. São enfatizadas as características do vírus que provoca a doença, as suas variantes, assim como as principais terapêuticas.

O capítulo III é dedicado aos surfactantes, mais pormenorizadamente aos surfactantes pulmonares, detalhando as suas características e aplicações terapêuticas.

A relação dos surfactantes pulmonares com a COVID-19 é abordada no capítulo IV, com enfoque nas abordagens terapêuticas e na relação benefício-risco.

O capítulo V sintetiza as principais conclusões e as perspetivas para o futuro inerentes à utilização dos surfactantes pulmonares no tratamento ou profilaxia da COVID-19.

Capítulo I. Metodologia

A monografia “A estratégia dos surfactantes pulmonares no SARS-CoV-2” pretende dar resposta aos seguintes itens:

- i. Qual o papel dos surfactantes pulmonares na área da saúde?
- ii. Qual a relação entre os surfactantes pulmonares e o COVID-19?
- iii. Quais as principais vantagens dos surfactantes pulmonares na terapêutica do SARS-CoV-2?

De forma a responder a estes itens, esta monografia alicerçou-se na revisão bibliográfica e na sistematização da informação, com recurso a suportes informáticos, nomeadamente, plataformas digitais de divulgação científica, como a *Web of Science*, *b-on* e *a Pubmed*. Para além das plataformas digitais, também se recorreu, a outras fontes bibliográficas, nomeadamente, publicações de entidades idóneas, trabalhos académicos, livros e *sites* de divulgação de informação que se consideraram pertinentes. Os sites pertencem a entidades ligadas a instituições/associações de informação na área de saúde, nomeadamente *AeFA (Asociación Española del Laboratorio Clínico)*, *CDC (Centers for Disease Control and Prevention)*, *OMS (Organização Mundial de Saúde)*, *EMA (European Medicine Agency)*, *Clinical Trials* e *Ordem dos Farmacêuticos (Boletim do Centro de Informação do Medicamento)*.

No trabalho utilizaram-se várias palavras-chave, umas de carácter geral e outras mais específicas de cada uma das áreas de estudo, de modo a cobrir todas as vertentes associadas ao tema: *surfactant*, *pulmonary surfactant*, *SARS-CoV-2*, *COVID-19*, *variants*, *lungs*, *alveolar type II cell*, *diagnostic*, *therapeutic*, *side effects*.

Também se utilizaram as mesmas palavras-chave em português para a aquisição dos estudos escritos em português.

A sistematização das referências bibliográficas foi realizada com o auxílio do gestor de referências bibliográficas, “Mendeley”.

O trabalho foi dividido em várias áreas temáticas, as quais foram sendo subdivididas em função da revisão bibliográfica:

- i. Estrutura do vírus SARS-CoV-2 e respetivas variantes;
- ii. Fisiopatologia do vírus;
- iii. Epidemiologia da doença causada pelo novo coronavírus;
- iv. Surfactantes na saúde, com foco no papel dos surfactantes pulmonares no COVID-19;

A seleção da literatura (artigos, livros, sites) foi feita através da leitura dos títulos e resumos (no caso dos artigos) onde se adotaram os seguintes critérios de inclusão e de exclusão, com base nos objetivos do trabalho:

- i. Critérios de inclusão
 - a. Surfactantes pulmonares
 - b. COVID-19
 - c. SARS-CoV-2
- ii. Critérios de exclusão
 - a. Isolamento profilático
 - b. Impacto psicossocial
 - c. Resposta imunitária
 - d. Testes de antigénio
 - e. Técnicas serológicas
 - f. Culturas celulares
 - g. Neonatologia (Síndrome do desconforto respiratório neonatal)
 - h. Gravidez

Com base nestes critérios foram eliminadas as fontes bibliográficas que não se referiam ao objeto de estudo e procedeu-se à leitura integral dos documentos selecionados e à sistematização da informação.

Capítulo II. Doença causada pelo novo coronavírus (COVID-19)

1. Caracterização do vírus

Nas últimas décadas, várias novas doenças têm vindo a surgir em diferentes áreas geográficas com diversos agentes patogénicos incluindo vírus Ebola, vírus Zika e coronavírus (CoVs). Recentemente, um novo tipo de infeção viral surgiu em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, China, e os dados iniciais de sequenciação genómica desse vírus não corresponderam aos CoVs sequenciados anteriormente, sugerindo uma nova estirpe de CoV (6).

A doença de coronavírus 2019 (COVID-19) é a segunda pandemia do século XXI, que afetou mais de 200 países. É causada por uma nova estirpe da família *Coronaviridae*, denominada Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo Grave Coronavirus-2 (SARS-CoV-2), sendo o sétimo membro conhecido da família *Coronaviridae* capaz de causar doenças em humanos, após a síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV) e a síndrome do desconforto respiratório agudo grave (SARS-CoV)(7).

Os coronavírus pertencem à ordem *Nidovirales*, e inserem-se na subfamília *Coronavirinae* da família *Coronaviridae*. Causam principalmente infeções do trato respiratório e gastrointestinal e a subfamília contém quatro géneros principais: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. Os Alfa e Beta-CoVs podem infetar humanos, enquanto os Gama-CoVs infetam predominantemente aves e os Delta-CoVs infetam tanto humanos como aves (8). A pandemia provocada por SARS-CoV-2 é o exemplo mais recente da capacidade inata dos vírus em passarem a “barreira de espécie” e de provocarem infeções virais emergentes. Desde o início da pandemia de SARS-CoV-2, surgiram várias variantes, como a Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gama (P.1), Delta (B.1.617.2) e Ómicron (B.1.1.529), sendo que a última está associada a uma maior transmissibilidade e maior virulência.

Com base nas suas características filogenéticas e estrutura genética o SARS-CoV-2 pertence ao género *Betacoronavirus* e subgénero *Sarbecovirus*. Os *Betacoronavirus* humanos (SARS-CoV-2, SARS-CoV e MERS-CoV) têm muitas semelhanças, mas também apresentam diferenças quanto à sua estrutura genómica e fenotípica que pode influenciar

a sua patogênese (9). O COVID-19, causado pelo SARS-CoV-2 é uma forma mais patogênica em comparação com o SARS-CoV (2002) e MERS-CoV (2013) (10).

Os coronavírus são vírus com invólucro, habitualmente esféricos ou elípticos, de 100-160 nm de diâmetro. O seu genoma é composto por RNA de cadeia simples e polaridade positiva (+ssRNA) com 26-32 kb de comprimento, que é maior do que qualquer outro vírus de RNA (10,11).

O genoma do vírus SARS-CoV-2 (Figura 1) tem como estrutura uma cauda 5'cap e 3'-poli-A. Inclui um número de ORFs, entre 6 a 11 quadros de leitura aberta (ORF), que varia entre os CoVs (12). O primeiro ORF (ORF1a e ORF1b) codifica as poliproteínas (pp1a e pp1ab, respetivamente). Essas poliproteínas são processadas por uma protease do tipo papaína (PLpro), e pela protease do tipo 3C (3CLpro), que vão clivar 16 proteínas não-estruturais (nsp1-16) (13). Enquanto os restantes ORFs codificam as quatro proteínas estruturais (*spike*, membrana, invólucro e nucleocápside) e as oito proteínas acessórias (3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8b, 9b e 14), expressas a partir de mRNAs de comprimento de genoma ou subgenómicos (sub-gRNA)(12,14).

No SARS-CoV-2, ORF1a (replicase) é o ORF mais longo e ocupa quase dois terços do genoma. Além disso, o ORF1b (protease) sobrepõe-se ao ORF1a, seguindo sub-gRNAs mais curtos que codificam quatro proteínas estruturais: a proteína *spike* (S), a proteína do invólucro (E), a proteína da membrana (M) e a proteína da nucleocápside (N), que são necessárias para manter o aglomerado e a capacidade infecciosa do vírus. A proteína N está no interior do vírus associada ao RNA viral, enquanto as outras três proteínas estão associadas ao invólucro viral (15). A proteína S é uma glicoproteína situada na superfície externa que facilita a entrada do vírus na célula eucariota (Figura 2). Os CoVs dependem das proteínas *spike* (S) para se ligarem ao recetor da superfície da célula hospedeira (ACE2), que determina o tropismo celular através do domínio de ligação ao recetor (RBD) na subunidade S1, durante a entrada na célula hospedeira, seguido pela fusão da subunidade S2 com a membrana celular (10,11). Para facilitar a ligação do virião ao recetor e a fusão com a membrana celular, a proteína *spike* precisa ser clivada por proteases celulares no sítio de clivagem S1/S2 (Fig. 2)(16).



Figura 1 - Estrutura do genoma do SARS-CoV-2 (adaptado de (10))

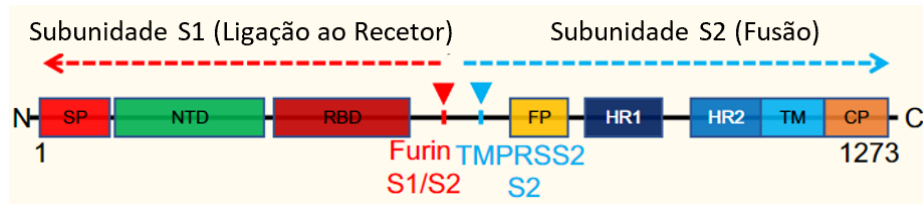


Figura 2 - Estrutura da glicoproteína S (adaptado de (16))

2. Fisiopatologia da doença

O ciclo de vida do SARS-CoV-2 (Figura 3) começa com a fusão da membrana que ocorre na membrana plasmática ou dentro de endossomas acidificados após a endocitose, que é mediada por alterações conformacionais na glicoproteína S desencadeadas pela ligação da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), que age como recetor. Estas alterações conformacionais são mediadas por proteases celulares (TMPRSS2, catepsina L e furina) que aumentam a eficácia do processo de entrada do vírus na célula. Após a entrada viral, o SARS-CoV-2 liberta o seu RNA genómico no citoplasma da célula hospedeira. O RNA do genoma é primeiro traduzido em poliproteínas de replicase viral (pp1a e pp1ab), que são posteriormente clivadas por proteases virais (3CLpro) num total de 16 proteínas não estruturais (nsp1-16). Um complexo de transcrição-replicação (RTC) é formado com base em muitas dessas proteínas não estruturais. No processo de replicação e transcrição do genoma mediado por RTC, o RNA genómico de sentido negativo (-sentido) é sintetizado e usado como molde para produzir RNA genómico de sentido positivo (+ sentido) e RNAs subgenómicos (sub-gRNA), esta transcrição é mediada pela RNA polimerase RNA-dependente (RpRd). A proteína estrutural da nucleocápside (N) e o RNA viral são replicados, transcritos e sintetizados no citoplasma, enquanto as outras proteínas

estruturais virais (S, M, E) são transcritas e então traduzidas no retículo endoplasmático rugoso (RER) e transportadas para o complexo de Golgi. No complexo RER e Golgi, a glicoproteína SARS-CoV-2 é submetida a processamento co-traducional e pós-traducional, incluindo remoção de peptídeo de sinal, trimerização, glicosilação extensiva e clivagem da proteína S em S1 e S2. A proteína N é subsequentemente associada ao RNA genômico de sentido positivo para se tornar um complexo nucleoproteico (nucleocápside), que em conjunto com as proteínas S, M e E, bem como outras proteínas virais, é posteriormente agregado e de seguida sofre maturação no compartimento intermediário do retículo endoplasmático-Golgi (ERGIC) para formar o virião (17). Finalmente, os viriões são libertados da célula hospedeira, onde se replicam e contribuem para uma infeção adicional nas células vizinhas e dissemina-se desde a cavidade nasal até à área alveolar do pulmão (18).

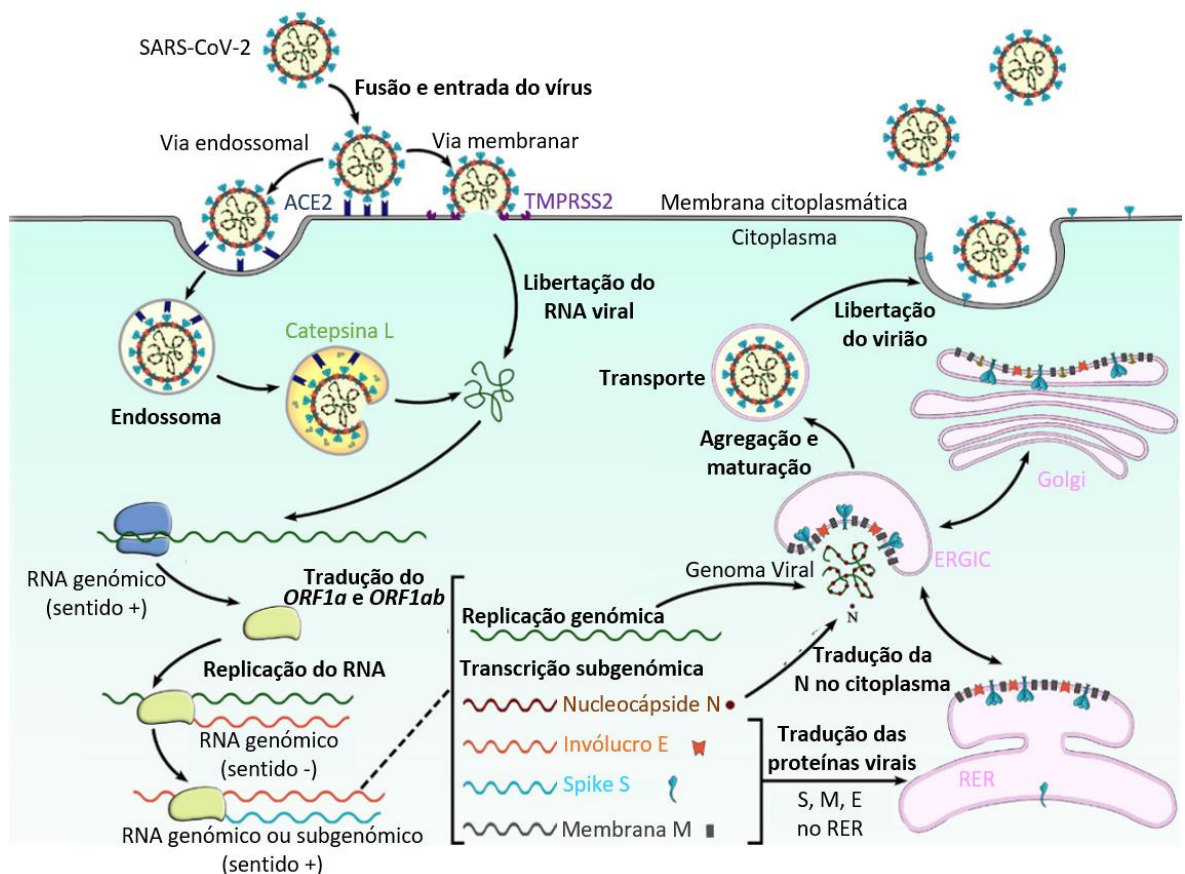


Figura 3 - Representação esquemática do ciclo de vida do SARS-CoV-2 (adaptado de(17))

A etiologia e patogénese da Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) não são determináveis. No entanto, infeções bacterianas graves, como pneumonia e sepsis, são

a causa mais comum de SDRA (19). Os sintomas do SARS-CoV-2 assemelham-se aos de uma constipação, incluindo febre, tosse e dispneia. No entanto, a infeção pode levar a pneumonia, falência múltipla de órgãos, síndrome respiratória aguda grave e em casos graves pode levar à morte (16,20). Fatores como idade, sexo, genética, fatores externos (e.g. tabaco, álcool), doenças pulmonares crónicas e doenças concomitantes (e.g. diabetes) aumentam risco de SDRA (21,22). Indivíduos idosos (> 60 anos) e pessoas com comorbilidades crónicas subjacentes são mais suscetíveis a doenças graves (18,5%) em comparação com crianças e adultos jovens saudáveis (6%)(16).

O modo de lesão pode ser direto ou indireto e os fatores de risco estão descritos na Tabela 1. Na lesão pulmonar direta, o estímulo atinge diretamente as estruturas dos pulmões e é caracterizado por uma grave destruição do epitélio, infiltração de neutrófilos, formação de membrana hialina, deposição de fibrina e edema. Na lesão pulmonar indireta, a lesão endotelial ou vascular mais grave ocorre com menor recrutamento de neutrófilos (23).

Tabela 1 - Fatores de risco para SDRA (adaptado de (23))

Lesão pulmonar direta	Lesão pulmonar indireta
Hemorragia alveolar	Queimaduras
Aspiração de conteúdos gástricos	<i>Bypass</i> cardiopulmonar
Trauma torácico	Hipovolémia
Afogamento	Trauma não torácico
Pneumonia	Pancreatite
Inalação de tabaco ou gás tóxico	Sepsis (extrapulmonar)
Transplante pulmonar unilateral	Transfusão sanguínea e de componentes sanguíneos

O tropismo do SARS-CoV-2 é máximo para as células epiteliais da orofaringe, diminuindo gradualmente ao longo das vias respiratórias. Assim a nível nasal e da orofaringe a replicação é mais abundante do que a que se observa nos brônquios e nos bronquíolos. Tal facto contrasta com o verificado em relação ao SARS-CoV-1, no qual a concentração de partículas virais nas vias respiratórias superiores era mais baixa(24).

Obviamente que esta característica contribui para a maior facilidade de transmissão de SARS-CoV-2 relativamente a SARS-CoV-1. Ao nível do pulmão o seu tropismo é máximo para os pneumócitos do tipo II sendo estas as principais células infetadas ao nível dos alvéolos pulmonares. A infeção destes pneumócitos resulta na sua destruição e na diminuição da capacidade de efetuar as trocas gasosas de uma forma eficaz. Um dos efeitos diretos da sua infeção é o comprometimento da produção de surfactante que permite manter a elasticidade dos alvéolos impedindo o seu colapso na expiração e facilitando a sua expansão na inspiração (14,17).

A patogénese da infeção por SARS-CoV-2 envolve três etapas de gravidade crescente. A primeira fase, fase exsudativa, resulta da infeção das células epiteliais do trato respiratório superior, a segunda, fase proliferativa, é consequência da colonização de células pulmonares, em particular os pneumócitos do tipo II, e por fim a terceira fase, fase fibrótica, mais grave, que surge devido à resposta inflamatória descompensada em consequência da infeção (25).

A resposta inicial do pulmão à lesão, referida como fase exsudativa da SDRA, decorre dentro de 72 horas (0-7dias) e é caracterizada por um aumento da permeabilidade das membranas, dano das barreiras endoteliais e epiteliais alveolares mediado por células imunes inatas, e acumulação de fluido de edema rico em proteínas dentro do interstício alveolar (26). Em resposta ao dano alveolar, os macrófagos alveolares secretam citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e IL-6, levando ao recrutamento de neutrófilos, bem como a ativação de células epiteliais alveolares e células T efetoras, para promover e sustentar a inflamação e a lesão tecidual (25). Acredita-se que o início da SDRA em indivíduos com COVID-19 seja exacerbado pela tempestade de citocinas. Os processos de reparação da barreira iniciados durante a segunda fase, ou proliferativa da SDRA são essenciais para a sobrevivência do hospedeiro. A fase fibroproliferativa/proliferativa (7-21 dias) é caracterizada por proliferação e alterações arquitetónicas. A produção de surfactante é restaurada devido à proliferação das células alveolares do tipo II. Além disso, o epitélio rejuvenesce como consequência da proliferação de pneumócitos tipo I, culminando na reabsorção do edema alveolar. A fase proliferativa pode progredir para o estágio fibrótico, marcado por uma extensa fibrose difusa, desaparecimento da arquitetura pulmonar típica e alterações enfisematosas irregulares(25). Esta fase final da SDRA não ocorre em todos os

doentes, mas tem sido associada a ventilação mecânica prolongada e aumento da mortalidade (27).

3. Epidemiologia da doença

Desde a primeira descrição da doença COVID-19, em dezembro de 2019, em Wuhan (China), a infecção disseminou-se mundialmente, sendo documentadas mais de 540 milhões de infecções, com cerca de 6 milhões de mortes em todo o mundo(28). Foi declarada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional a 30 de janeiro de 2020 e em 11 de março de 2020 como Pandemia (29).

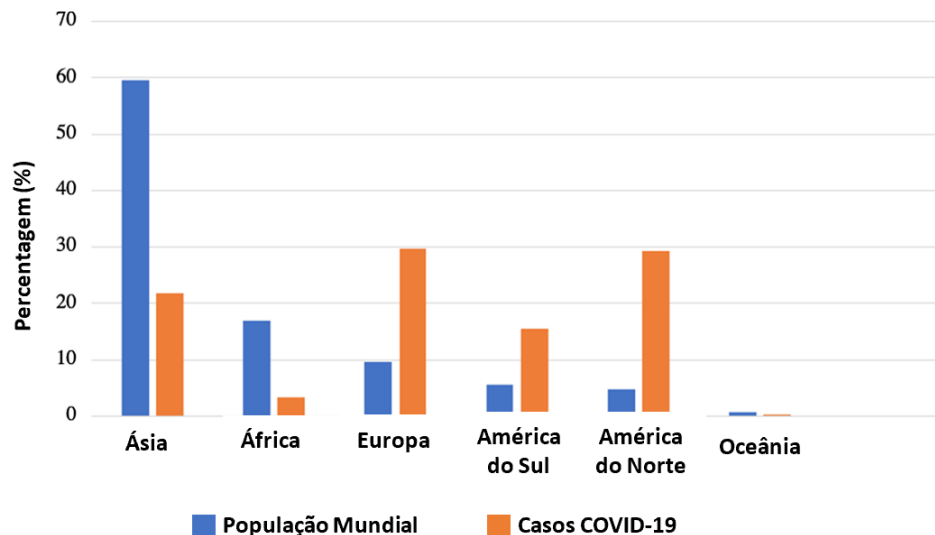


Figura 4 - Comparação entre a prevalência de casos de COVID-19 em cada continente e o seu respectivo tamanho populacional (adaptado de (7))

A disseminação do COVID-19 não foi proporcional ao tamanho das populações de cada país, o que pode indicar uma série de fatores condicionantes, desde medidas de contenção e triagem até dados demográficos da população (Figura 4) (7).

Em termos de epidemiologia da infecção, é importante referir que são detetados vírus infecciosos nas secreções respiratórias antes do aparecimento de sinais clínicos. Esta é uma clara diferença em relação ao que se observou aquando da pandemia por SARS-CoV-1 em 2003, uma vez que nesse caso a transmissão acontecia com o aparecimento dos sinais

clínicos e não antes. Além disso, e contribuindo também para a dinâmica da pandemia, a transmissão de SARS-CoV-2 ocorre mesmo no caso de indivíduos assintomáticos ou com apresentações subclínicas(30).

Acredita-se que a fonte de infecção tenha ocorrido no mercado de frutos do mar de Huanan, em Wuhan, por meio de um ou vários eventos de transmissão de animal para humano, possivelmente de morcegos e pangolins capturados e vendidos no mercado (7).

A transmissão respiratória de pessoa para pessoa é a principal forma de transmissão da doença COVID-19 causada pelo SARS-CoV-2 (Figura 5) (20).

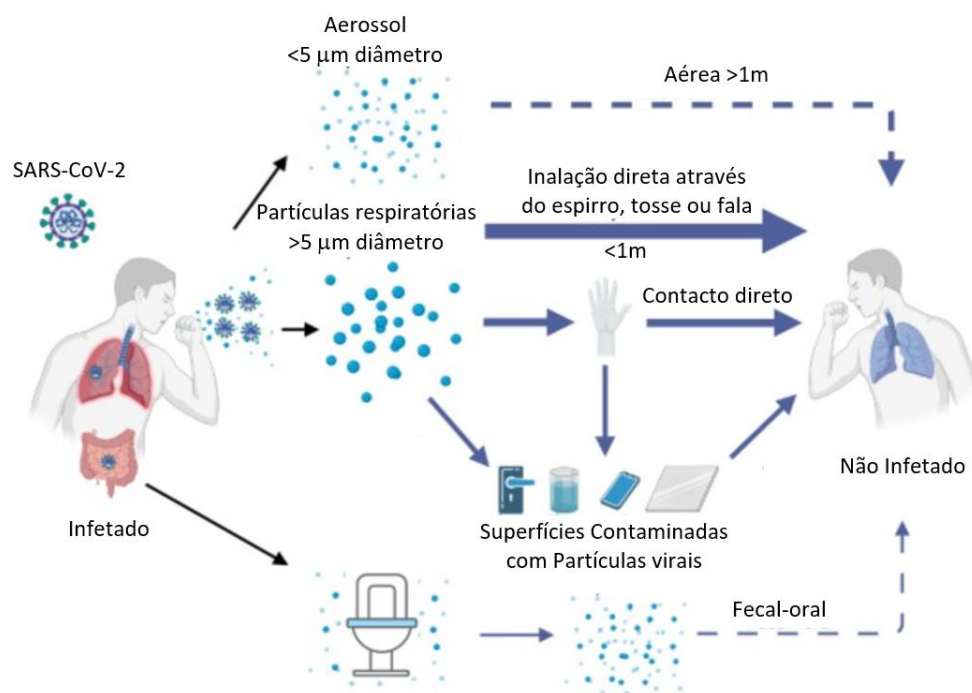


Figura 5 - Possíveis vias de transmissão do SARS-CoV-2 (adaptado de (20))

Este vírus é veiculado por secreções respiratórias contendo partículas virais. Assim, a transmissão pode ocorrer por inalação direta dessas secreções, emitidas através da tosse, espirros, ou simplesmente através da fala ou por inoculação nas células da cavidade oral ou nasal a partir de mãos ou objetos contaminados com essas secreções, podendo levar até a uma transmissão fecal-oral. Pode ocorrer transmissão nosocomial quando não são cumpridas estritamente as medidas de controle e prevenção da infecção, incluindo o uso de equipamento de proteção individual no contacto próximo com indivíduos infectados. O

SARS-CoV-2 pode ser transmitido a distâncias maiores pelo ar (vias aéreas) pela inalação de partículas (conhecidas como “aerossóis”) que permanecem suspensas por muito tempo e a distâncias maiores da fonte de infecção e ficam sujeitas às correntes de ar. Em qualquer dos casos a eficácia da transmissão está diretamente relacionada com a concentração de vírus no inóculo (carga viral), sendo tanto maior quanto mais elevada for a carga viral (20).

4. Inativação do SARS-CoV-2

O período exato em que uma pessoa infetada com SARS-CoV-2 pode transmitir a infecção ainda não está claro. As pessoas infetadas são mais contagiosas no início da doença, onde os níveis de RNA viral no trato respiratório superior atingem o pico. Um estudo realizado na China estimou que o período de infecciosidade máxima é atingido entre dois dias antes e um dia após o início dos sintomas, diminuindo até ao sétimo dia. A transmissão após 7-10 dias após o início da doença sintomática é improvável, especialmente em pessoas imunocompetentes com infecção leve (31).

O risco de reinfeção com SARS-CoV-2 a curto prazo é baixo, pelo menos durante os seis meses após a primeira infecção. Estima-se que a infecção por SARS-CoV-2 reduza o risco de reinfeção em 80-85%, de acordo com um estudo observacional da Dinamarca que avaliou o risco de reinfeção analisando o risco de ter um novo PCR positivo durante a segunda onda de COVID-19 (setembro a dezembro de 2020) naqueles indivíduos que tiveram PCR positivo anterior na primeira onda (fevereiro a junho de 2020). Dos 11.068 indivíduos com PCR positiva na primeira onda, apenas 72 (0,65%) tiveram PCR positivo novamente na segunda onda, comparados a 16.819 indivíduos que tiveram PCR positivo na segunda onda dos 514.271 que foram negativos na primeira (3,27%). O efeito protetor estimado de uma infecção anterior foi de aproximadamente 80% (32).

O SARS-CoV-2 é um vírus com invólucro o que faz com que seja frágil e suscetível a inativação por vários agentes físicos (temperatura, radiações) e químicos (pH, solventes, detergentes).

Num estudo realizado nos EUA em 2020, comprovou-se que pelo menos 90% dos vírus SARS-CoV-2 serão inativados após serem expostos por 11 a 34 minutos à luz solar do meio-dia na maioria das cidades dos EUA e do mundo durante o verão. Em contraste, o

vírus persistirá infeccioso por um dia ou mais no inverno (dezembro a março), com risco de re-aerossolização e transmissão na maioria dessas cidades (33).

O SARS-CoV-2 mostrou alta suscetibilidade à radiação ultravioleta (UV) num estudo realizado na Alemanha. A inativação total do SARS-CoV-2 foi alcançada após 9 minutos de exposição combinada de UVA e UVC. Um percentagem de 50% do vírus pode ser inativado após 1,4 minutos de tratamento com UV. Estes dados destacam a irradiação UVC como um método eficaz para a inativação do SARS-CoV-2 (34).

De acordo com uma revisão sistemática, vários desinfetantes inativam outros coronavírus semelhantes ao SARS-CoV-2 em menos de um minuto. Segundo esta revisão, os coronavírus humanos (não SARS-CoV-2) são eficientemente inativados na presença de 62-71% de etanol, 0,1-0,5% de hipoclorito de sódio e 2% de glutaraldeído, após 1 minuto de exposição, enquanto o cloreto de benzalcônio, o hipoclorito de sódio 0,06% e o ortoftalaldeído 0,05% seriam menos eficazes (35).

5. Terapêutica

Desde a declaração pela OMS do estado de pandemia pelo vírus SARS-CoV-2, responsável pela doença COVID-19 temos assistido a um esforço sem precedentes para o desenvolvimento de vacinas e novos medicamentos que permitam controlar este flagelo sanitário, social e económico.

A análise da sequência do genoma do SARS-CoV-2 revelou uma grande semelhança com o SARS-CoV relatado anteriormente e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV). No entanto, os testes iniciais aos medicamentos usados contra SARS-CoV e MERS-CoV foram ineficazes no controle de SARS-CoV-2 (10).

Fármacos usados anteriormente para tratar SARS-CoV e MERS-CoV são potenciais candidatos no tratamento da COVID-19, em complementação com a vacinação. Neste âmbito, têm sido desenvolvidas várias terapêuticas com anticorpos monoclonais neutralizantes e fármacos antivirais (Figura 6)(36).

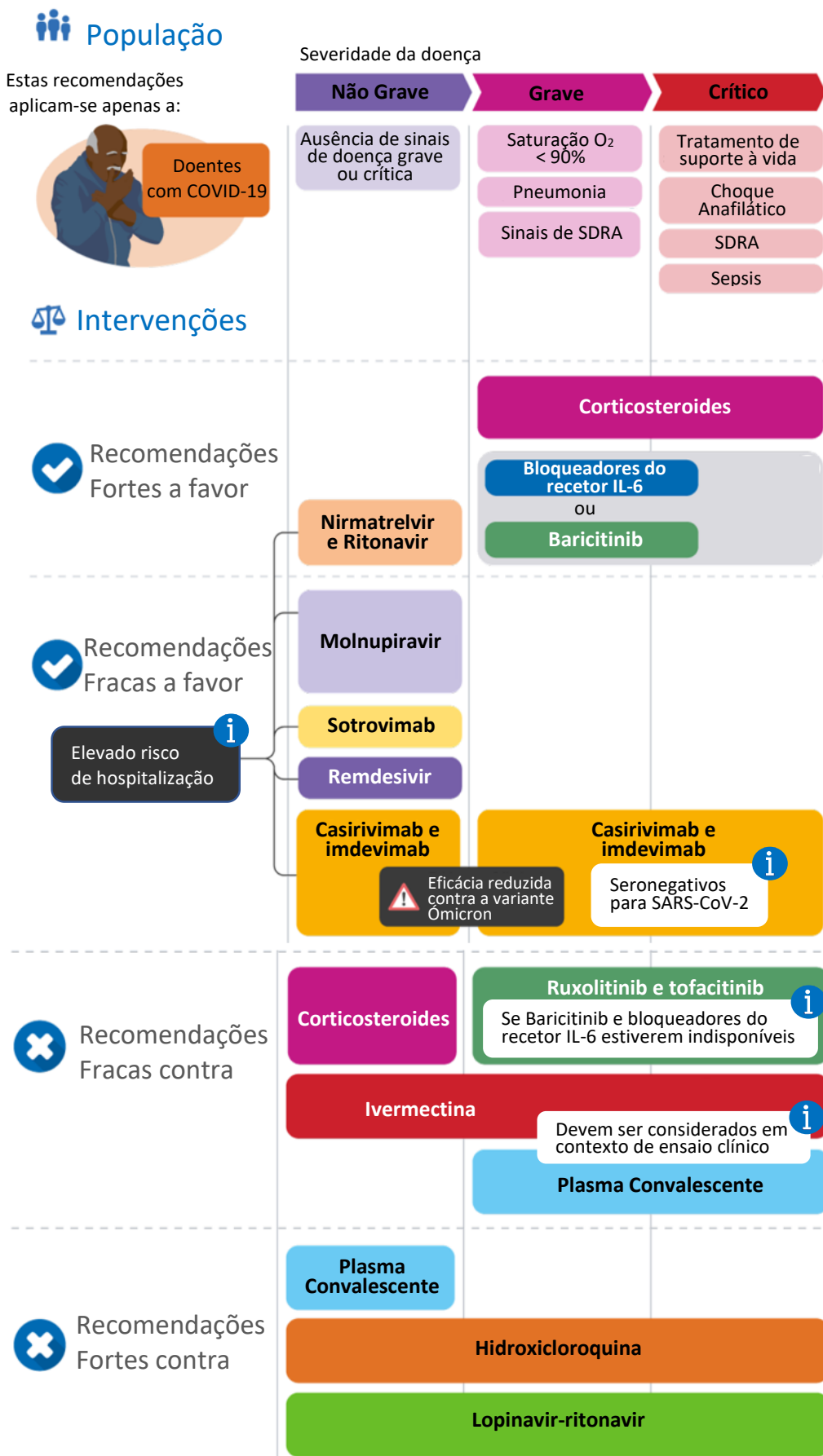


Figura 6 - Recomendações terapêuticas no tratamento da COVID-19 (Adaptado de (36)).

Existe uma forte recomendação para o uso de nirmatrelvir-ritonavir e de remdesivir em pacientes com doença não grave com maior risco de hospitalização. Para doentes com COVID-19 grave ou crítico, recomenda-se o uso de baricitinib como alternativa aos bloqueadores dos recetores da interleucina-6 (IL-6) (tocilizumab ou sarilumab), em combinação com corticosteroides (36).

O nirmatrelvir inibe a protease SARS-CoV-2 (3CLpro), impedindo assim a clivagem da poliproteína viral necessária para que as proteínas virais se tornem funcionais (37). A inibição da protease torna o vírus incapaz de se replicar. O nirmatrelvir é coadministrado com ritonavir, um inibidor da protease do HIV, usado neste contexto para aumentar a farmacocinética do nirmatrelvir, mas sem exercer qualquer atividade antiviral direta sobre si (38). O remdesivir é um medicamento nucleosídeo, inibidor da RdRp, ou seja, inibe a replicação do genoma viral (39).

A infeção por SARS-CoV induz uma produção dependente de IL-6, uma citocina pró-inflamatória, a partir de células epiteliais brônquicas. Esta citocina ativa e regula a reposta imunitária às infeções. Portanto ao administrar bloqueadores dos recetores da interleucina-6 (IL-6) (tocilizumab ou sarilumab) vai haver uma modulação dos níveis de IL-6 ou diminuição dos efeitos da IL-6, que conseqüentemente podem diminuir a duração e/ou gravidade da COVID -19 (40).

Os inibidores de JAK, nomeadamente o baricitinib, inibem a sinalização intracelular através de efeitos na sinalização de citocinas. Como consequência, interferem em muitas respostas celulares, incluindo respostas antivirais, expressão da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), função e diferenciação de células T e ativação de macrófagos (41).

Os corticosteroides, nomeadamente a dexametasona, tem a capacidade de reduzir a resposta inflamatória e ao seu efeito imunossupressor, podendo reduzir a mortalidade e necessidade de ventilação mecânica em doentes com COVID-19 grave ou crítico (42).

O tratamento específico para a COVID-19 representou um marco no combate à pandemia. Desta forma é importante aprofundar o conhecimento acerca do hospedeiro e dos seus fatores de riscos, bem como da fase fisiopatológica em que se encontra.

Capítulo III. Surfactantes

1. Classificação e utilização de surfactantes

O termo "surfactante" é um acrónimo da expressão em inglês "*surface active agent*", sendo igualmente usado o termo "tensoativo" como seu sinónimo mais correto na língua portuguesa. Os surfactantes são agentes tensoativos que reduzem a tensão superficial e exibem uma tendência para formar agregados, denominados micelas, uma vez atingida uma concentração crítica em solução, designada concentração micelar crítica (CMC). As moléculas surfactantes concentram-se nas interfaces óleo-água, e podem atuar como agentes emulsificantes ou espumantes. Este modo de ação está diretamente relacionado com a sua estrutura química. Os surfactantes caracterizam-se por possuir duas regiões de polaridades opostas, sendo moléculas anfipáticas com uma região hidrofóbica e outra hidrofílica. A parte hidrofóbica geralmente consiste numa cadeia alquílica linear ou ramificada, que se liga a um grupo hidrofílico. O grupo hidrofílico é rodeado por moléculas de água o que resulta numa boa solubilidade em meio aquoso ou outros meios polares. Por outro lado, as regiões hidrofóbicas repelem as moléculas de água através de fortes interações entre as moléculas de água (forças coesivas). De acordo com a carga de sua região hidrofílica, os surfactantes podem ser classificados em quatro categorias: aniónicos, não iónicos, catiónicos e anfotéricos (43).

Os tensoativos aniónicos são conhecidos por possuírem um ou mais grupos funcionais que ionizam na água a fim de produzir iões orgânicos tensoativos carregados negativamente. Os tensoativos não iónicos não produzem iões em solução aquosa. A solubilidade dos tensoativos não iónicos em água deve-se à presença de grupos funcionais nas moléculas que possuem forte afinidade pela água (ex.: hidroxilo). Os tensoativos catiónicos possuem um ou mais grupos funcionais na sua molécula, que ionizam em solução aquosa para produzir iões orgânicos carregados positivamente. Os tensoativos catiónicos mais representativos são os derivados de amónio quaternário nos quais o átomo de nitrogénio se encontra ligado a quatro grupos alquilo (43).

2. Surfactantes pulmonares

2.1 Características

O sistema respiratório constitui uma grande interface entre o corpo e o ambiente externo, permanentemente exposto a toxinas e agentes patogênicos e, portanto, requer uma defesa local eficaz.

O surfactante pulmonar, sintetizado e secretado no pulmão pelas células epiteliais alveolares tipo II (pneumócitos tipo II), é um complexo de lipoproteínas único que reveste a superfície interna dos alvéolos e pequenas vias aéreas, armazenado em organelos intracelulares denominados corpos lamelares (44,45).

O surfactante pulmonar contém várias classes de lípidos (80-90%), incluindo fosfolípidos, triglicéridos, colesterol (6-8%), proteínas (10%) e ácidos gordos (2%)(46,47). A fosfatidilcolina (PC) é o principal fosfolípido compreendendo 85% dos lípidos surfactantes. Aproximadamente 60% do surfactante PC está presente na forma insaturada, como dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), representando o principal componente ativo da superfície (46). A restante composição de fosfolípidos compreende fosfolípidos menores, que consistem em cerca de 5% de fosfatidiletanolamina (PE), menos de 5% de esfingomielina (SM) e 5% de fosfatidilinositol (PI) mais fosfatidilserina (PS) (44,47). O surfactante contém as principais proteínas surfactantes A, B, C e D (SP-A, SP-B, SP-C e SP-D) que interagem extensivamente com os fosfolípidos (46).

Durante o período de gestação, os alvéolos começam a produzir surfactante pulmonar (SP) na 24ª semana e atingem o pico de produção na 34ª semana. O cortisol endógeno estimula a produção de SP durante a gestação. Os bebês prematuros, especialmente os nascidos antes da 34ª semana, têm pulmões imaturos e deficiências de SP. Esses bebês têm dificuldade em respirar e desenvolvem uma condição chamada Síndrome do desconforto respiratório neonatal (SDRN) (48). Desde a primeira respiração do recém-nascido, o surfactante desempenha um papel fundamental na fisiologia do sistema respiratório, pois juntamente com as células epiteliais e endoteliais, faz parte da barreira alvéolo capilar. Essa barreira é suscetível a infecções bacterianas e virais que iniciam uma série de eventos patológicos e, finalmente, levam à destruição da barreira (44). A sua disfunção é seguida por um influxo de neutrófilos, liberação de proteínas para o espaço

alveolar, edema, apoptose celular e necrose, e a inibição do surfactante pulmonar, que são todos sinais típicos de lesão pulmonar aguda (44).

As células epiteliais alveolares tipo II (ATII) ao estabilizarem a barreira alvéolo-capilar, estão envolvidas na homeostase do fluido pulmonar e na manutenção de alvéolos livres de fluido, participando no transporte de sódio através dos canais de sódio. Na lesão pulmonar aguda, as células inflamatórias infiltram-se nos alvéolos e produzem fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α) em excesso, podendo afetar os canais de sódio epiteliais e causar edema pulmonar. Para além das ações referidas anteriormente, os surfactantes pulmonares previnem o edema pulmonar, relaxam o músculo liso das vias aéreas (permitindo trocas gasosas e oxigenação), e possuem múltiplas funções imunológicas (44).

2.2 Tipos de proteínas dos surfactantes pulmonares

O surfactante contém as principais proteínas surfactantes A, B, C e D (SP-A, SP-B, SP-C e SP-D) que interagem extensivamente com os fosfolípidos. Das quatro proteínas tensoativas, as SP-B e SP-C são hidrofóbicas e as SP-A e SP-D são hidrofílicas dissociando-se facilmente nos lípidos (46,49). As SP-B (8 kDa) e SP-C (4 kDa) são proteínas pequenas, importantes na dinâmica do surfactante nos espaços aéreos terminais e na redução da tensão superficial, e ainda na regulação da formação e estabilidade do filme surfactante. Por outro lado, as proteínas SP-A e SP-D estão criticamente envolvidas na imunidade inata e na resposta inflamatória, impedindo a infeção de células epiteliais através da neutralização viral, aglutinação e fagocitose (44,46,49). A proteína SP-D também pode estar envolvida na manutenção do metabolismo do surfactante e na homeostase pulmonar (46). A tabela 2 apresenta resumidamente as principais características destas proteínas.

Como um todo, as proteínas constituintes dos surfactantes pulmonares estão intimamente associadas a fosfolípidos do surfactante, a fim de modular a atividade de superfície, mas igualmente para desempenhar papéis relevantes na regulação da inflamação, defesa imune inata e patogénese microbiana (46).

Tabela 2 - Características principais das proteínas dos surfactantes pulmonares

Proteína	Características/Funções
SP-A	<ul style="list-style-type: none"> • Proteína mais abundante do surfactante pulmonar. • Sintetizada pelas células respiratórias do pulmão fetal em desenvolvimento. • Proteína de defesa imune inata. • Participa na conversão de corpo lamelar em mielina tubular na presença de cálcio proporcionando uma rápida formação do filme superficial; • Responsável pela reciclagem de componentes do surfactante secretados através de um recetor de alta afinidade na membrana celular tipo II; • Ativa macrófagos alveolares <i>in vitro</i> e aumenta a opsonização de agentes patogénicos bacterianos, fúngicos e virais. • Inibe a atividade da Fosfolipase A2 (PLA2) secretada, mantendo a integridade do surfactante durante a lesão pulmonar, inibindo a secreção de fosfolípidos de surfactante.
SP-B	<ul style="list-style-type: none"> • Interage com as cabeças polares dos fosfolípidos, resiste à tensão superficial, provocando a sua diminuição, facilitando a rápida inserção de lípidos na monocamada ar-líquido, e conseqüentemente aumenta a estabilidade lateral da monocamada de fosfolípidos. • Participa na secreção de surfactante e na formação de mielina tubular na presença de SP-A, fosfolípidos e cálcio. • Importante para a formação do corpo lamelar. • Em baixas concentrações, compromete o funcionamento normal da SP-C.
SP-C	<ul style="list-style-type: none"> • Secretada com fosfolípidos surfactantes no espaço alveolar. • Criticamente envolvida na formação e manutenção do filme surfactante.
SP-D	<ul style="list-style-type: none"> • Produzida em células alveolares do tipo II. • Desempenha um papel importante no sistema imunológico inato, ligando-se a estruturas específicas de lípidos na superfície de bactérias, partículas virais, fungos e protozoários através de uma interação cálcio-dependente. • Promove a captação de bactérias patogénicas por células epiteliais, estimula a fagocitose, quimiotaxia, regula a produção de citocinas e radicais livres por múltiplas células imunes, ou seja, regula o metabolismo do surfactante em células do tipo II.

2.3 Aplicações terapêuticas

O surfactante como agente tensioativo, ou seja, um “sabão”, pode penetrar no revestimento do vírus, dividi-lo e permitir que o conteúdo seja libertado no meio ambiente. O vírus em questão pode suprimir a produção de surfactante nas células ATII para sobreviver usando o recetor ACE2 no tecido pulmonar infetado. Como consequência dessa hipótese, o surfactante pulmonar pode ser eficaz no tratamento e profilaxia do COVID-19. Outros estudos também chamam a atenção para a regulação do padrão lipídico no sistema respiratório como possível alvo tanto do tratamento quanto da profilaxia contra a COVID-19 e outras pneumonias por vírus com invólucro (44).

Capítulo IV. COVID-19 versus surfactantes pulmonares

1. Abordagens terapêuticas

O tratamento da insuficiência respiratória na síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) baseia-se na compreensão atual do papel central que as células epiteliais alveolares tipo II (ATII) e o surfactante desempenham na infecção por coronavírus 2 responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS-COV-2) e é inspirado no sucesso do uso da terapia de reposição de surfactante em Síndrome de Desconforto Respiratório Neonatal (SDRN) (44).

O alto nível de expressão do recetor ACE2 na superfície celular dos pneumócitos tipo II torna-os mais vulneráveis à infecção por SARS-CoV-2. Como resultado, esta infecção leva a níveis reduzidos de SP endógeno, bem como alteração da composição e mutações de SP (45).

A infecção com SARS-CoV-2 (Figura 7A) vai desencadear uma resposta inflamatória, nomeadamente o recrutamento de macrófagos alveolares, que produzem altos níveis de citocinas, também conhecido como tempestade de citocinas (1). O subsequente recrutamento e desgranulação de neutrófilos (2) leva à destruição dos pneumócitos tipo II e células endoteliais, resultando daí a redução da produção e secreção de surfactante, o extravasamento de soro para os espaços alveolares, quebra da barreira endotelial e inativação de surfactante. Esta inativação ocorre através da adsorção de citocinas tensoativas e proteínas séricas na interface ar-líquido, excluindo os componentes endógenos (3), resultando numa troca ineficaz e insuficiência respiratória (45,50). O tratamento com surfactante pode ajudar a combater a progressão da lesão pulmonar grave em doentes com COVID-19 sendo então proposto como um tratamento potencial para COVID-19. Um estudo de Gerosa et al. (51) mostrou que a infecção por SARS-CoV-2 resulta na supra expressão de SP-A no interior dos espaços alveolares, o que comprova a inativação ou desregulação do surfactante. Outro estudo de Islam et al. (52) demonstrou que em conjunto com as elevadas quantidades de SP-A, há uma desregulação de uma variedade de genes envolvidos na produção e ativação do surfactante pulmonar, bem como no seu *turnover* e metabolismo. No estudo de Kerget et al. (53) foi relatado um aumento significativo dos níveis de SP-D em amostras de sangue de indivíduos infetados *versus* não

infetados, nomeadamente aqueles que desenvolveram síndrome da insuficiência respiratória aguda associada à COVID-19 e que não sobreviveram à infecção por SARS-CoV-2. Esses resultados destacam a importância do SP-D sérico como biomarcador para a progressão da doença, bem como ressaltam o potencial da terapêutica de substituição de surfactante em doentes com COVID-19 grave devido à libertação de SP-D dos espaços alveolares para a circulação sistémica, induzida por uma integridade alveolar afetada (53).

A administração de surfactante exógeno (Figura 7B) pode complementar o *pool* de SP endógeno afetado (1), bem como atenuar a resposta inflamatória por meio de interações com células imunes, citocinas e SARS-CoV-2 (2). As proteínas SP-A e SP-D exógenas podem prevenir a infecção viral através da ligação e neutralização da proteína *spike*, impedindo assim a sua interação com o recetor ACE2 em pneumócitos tipo II (3). As proteínas SP-A e SP-D exógenas conferem mais resistência à inativação do surfactante (4). A recuperação da camada de surfactante, bem como a redução da inflamação, leva a menos danos celulares, redução da libertação de soro nos espaços alveolares, melhora as trocas gasosas e, portanto, previne a insuficiência respiratória (45).

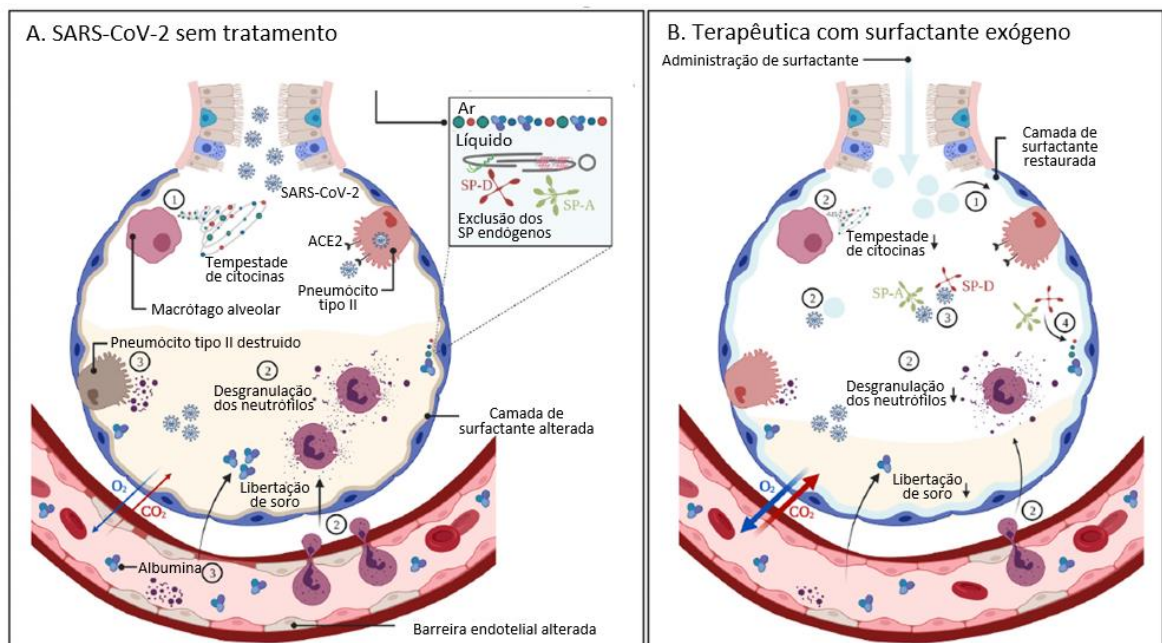


Figura 7 - SARS-CoV-2 sem tratamento (A) vs com terapêutica com surfactante exógeno (B) (Adaptado de (45)).

A propriedade necessária de qualquer preparação de surfactante exógeno é ser capaz de formar um filme superficial contendo DPPC com potencial para reduzir a tensão superficial durante a compressão lateral (ou seja, durante a expiração)(54).

Existem dois tipos de surfactantes pulmonares terapêuticos: naturais e sintéticos. SP naturais são derivados de animais enquanto SP sintéticos contêm péptidos que mimetizam as funções das SP-B e SP-C. Os SP terapêuticos naturais são isolados de fluido amniótico bovino, suíno e humano. A vantagem dos surfactantes naturais é que contêm proteínas associadas ao surfactante e, assim, resultam numa melhor dispersão e propriedades de defesa pulmonar (55). No entanto, o uso de surfactantes naturais é acompanhado de riscos inerentes, como transmissão de agentes infecciosos, imunogenicidade e impurezas. A remoção de proteínas altamente imunogénicas como SP-A e SP-D, esterilização e triagem de fontes animais têm sido utilizadas para minimizar os riscos potenciais (56).

Reconhecendo as limitações dos surfactantes naturais, foram feitas tentativas a fim de produzir surfactantes sintéticos para terapia de substituição. Embora possuam um maior grau de pureza química, existe uma série de barreiras envolvidas no desenvolvimento destes surfactantes sintéticos contendo proteínas (56). As SP-B e SP-C são difíceis de sintetizar e as preparações de tensioativos sintéticos sem esses componentes apresentam uma funcionalidade limitada (54).

Finalmente, deve-se notar que, até ao momento, todos os surfactantes exógenos são desprovidos das proteínas hidrofílicas SP-A e SP-D, apesar dessas proteínas exibirem potenciais efeitos benéficos no cenário de lesão pulmonar (54).

Na Tabela 3, descrevem-se alguns dos ensaios clínicos em curso sobre a terapêutica de substituição de surfactantes

Tabela 3 - Ensaio clínico em curso da terapêutica de substituição de surfactantes (57)

NCT	Formulação	Composição do surfactante		Patologia	Objetivo terapêutico	Eficácia clínica
		Conteúdo proteico	Conteúdo lipídico			
NCT04384731	CUROSURF® (Poractant alfa)	1 mg/mL proteína (0,45 mg/mL SP-B e 0,59 mg/mL SP-C)	76 mg/mL fosfolípidos (55 mg/mL fosfatidilcolina, dos quais, 30 mg/mL são DPPC)	COVID-19, SDRA	Criar um novo protocolo de administração para a terapia de substituição de surfactantes para adultos com SARS-CoV-2.	720 mg em 150 mL de solução salina foram eficazes
NCT04375735	Surfactante de extrato lipídico bovino (BLES)	N/A	3% colesterol e diacilglicerol, 79% fosfatidilcolina e 11% fosfatidilglicerol	COVID-19, SDRA	Diminuir a taxa de mortalidade em doentes com COVID-19 sob ventilação mecânica. O primeiro objetivo é determinar a viabilidade e segurança.	Número reduzido de doentes com efeitos benéficos.
NCT04389671	Surfactante Lucinactant Sinaputide (KL4)	N/A	Mistura de POPG:DPPC (1:3)	COVID-19, LPA, SDRA	Avaliar se o Lucinactant consegue melhorar a LPA e a SDRA associada aos doentes com COVID-19.	Redução da inflamação com melhora da função pulmonar.
NCT02452476	Surfactante exógeno	0,2% SP-B e 1,5% SP-C	Mistura de POPG:DPPC (1:1)	COVID-19, SDRA	Comparar a eficácia e segurança deste surfactante com o Proctant alfa	Melhoria da oxigenação e redução da necessidade de ventilação mecânica.

2. Relação benefício-risco da terapêutica

A infecção por SARS-CoV-2 pode induzir alterações no surfactante pulmonar, como mencionado anteriormente. No entanto, devido à complexidade da mistura, a extensão das alterações em cada componente do surfactante pulmonar causada pela infecção por SARS-CoV-2 permanece desconhecida (55). Acredita-se que o surfactante pulmonar em doentes com COVID-19 é disfuncional e não deficiente, por isso pode não ser a melhor opção terapêutica. Os níveis de surfactante pulmonar, assim como os níveis de proteínas do surfactante pulmonar não demonstram uma tendência de diminuição durante a infecção respiratória viral. Por exemplo, um estudo publicado na literatura (51) relatou que a expressão de SP-A foi significativamente elevada, enquanto a expressão de SP-B permaneceu inalterada nos pulmões de doentes com COVID-19 em comparação com os de doentes controlo. Os autores deste estudo sugeriram que o aumento da expressão de SP-A, poderia invalidar a eficácia terapêutica do tratamento com surfactante exógeno (51).

O uso de surfactante pulmonar pode colocar os doentes com COVID-19 em risco, uma vez que os pulmões estão consideravelmente danificados e altamente suscetíveis a novas lesões, podendo perturbar ainda mais o microambiente pulmonar e agravar a tensão pulmonar (58). Por exemplo, devido ao surfactante pulmonar estar associado à formação de expetoração, a administração de surfactante pulmonar exógeno pode levar ao aparecimento de sangue na expetoração (59).

É necessário esclarecer as alterações nos componentes do surfactante pulmonar durante a infecção por SARS-CoV-2 antes de realizar ensaios nesta área. Alguns investigadores sugeriram que o surfactante pulmonar em doentes deve ser avaliado antes de iniciar o tratamento (60). A medição rigorosa e a compreensão das tendências do surfactante no COVID-19 podem ajudar a determinar a aplicação terapêutica dos surfactantes pulmonares (55). A utilização do surfactante exógeno é um tratamento bastante eficaz e que reduz a mortalidade em doentes no caso de doentes com SDRN, mas em adultos com SDRA, esse tratamento nem sempre é adequado e satisfatório. A administração de surfactante pode ajudar a melhorar o curso clínico em doentes com SDRA, mas não é suficiente para doentes afetados por SDRA COVID-19. Os estudos

evidenciam a melhoria de alguns sintomas associados ao COVID-19 (ex.: oxigenação, sepsis) mas não é suficiente para tratar a doença na maioria dos doentes (57).

Capítulo V. Conclusões e perspectivas futuras

Passados cerca de 3 anos, o SARS-CoV-2 já não é um vírus recente, mas causou uma disrupção massiva. Conseguiu encurtar a vida de muitos seres humanos, mudar as formas de nos relacionarmos uns com os outros, subverter economias e mudar as prioridades da indústria farmacêutica e dos órgãos reguladores.

A luta global contra o COVID-19 pode ser longa até que desenvolvamos tratamentos eficazes e clinicamente validados, para além das vacinas. As vacinas já foram um desenvolvimento particularmente rápido e estabeleceram um manual para a resposta a futuras pandemias. No entanto, muitos desafios permanecem e o nosso progresso para acabar com esta pandemia é ameaçado pela distribuição desigual de vacinas e pelo aumento de variantes menos suscetíveis à vacinação e imunidade mediada por infeção prévia. À medida que as infeções continuam a aumentar, permanece a necessidade de novas terapêuticas.

Os pulmões são o principal alvo da infeção por SARS-CoV-2 e, portanto, a inalação de fármacos direcionados à COVID-19 constitui uma via de administração com grande potencial terapêutico. No entanto, especialmente em doentes com COVID-19 gravemente doentes, é difícil atingir as vias aéreas mais distais após a inalação, uma vez que esses doentes apresentam regiões pulmonares hipóxicas e destruídas. Aqui, devido às suas excelentes propriedades de disseminação na superfície, o surfactante pulmonar pode servir como veículo ou transportador para medicamentos direcionados ao COVID-19. Esta abordagem pode ser considerada como uma terapia de combinação onde a administração de surfactante pode regenerar o *pool* de surfactante endógeno afetado, deficiente ou inativado, bem como melhorar a difusão e adsorção do fármaco ao longo da superfície respiratória e auxiliar o direcionamento do fármaco ativo para tipos celulares específicos.

No futuro a medição precisa e a compreensão das tendências do surfactante no COVID-19 podem ajudar a determinar a aplicação terapêutica dos surfactantes pulmonares.

Capítulo VI. Bibliografia e referências bibliográficas

1. Fung TS, Liu DiX. Similarities and Dissimilarities of COVID-19 and Other Coronavirus Diseases. *Annu Rev Microbiol.* 2021;75:19–47.
2. Centers for Disease Control and Prevention. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. 2022 [accessed 2022 Jun 4]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>
3. Simon M, Veit M, Osterrieder K, Gradzielski M. Surfactants - Compounds for inactivation of SARS-CoV-2 and other enveloped viruses. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2021;55:101479.
4. Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nature Reviews Immunology.* 2005; 5(1):58–68.
5. Ghati A, Dam P, Tasdemir D, Kati A, Sellami H, Sezgin GC, et al. Exogenous pulmonary surfactant: A review focused on adjunctive therapy for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 including SP-A and SP-D as added clinical marker. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2021;51.
6. Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019–COVID-19. *Clin Microbiol Rev.* 2020; 33(4):1–48.
7. Mallah SI, Ghorab OK, Al-Salmi S, Abdellatif OS, Tharmaratnam T, Iskandar MA, et al. COVID-19: breaking down a global health crisis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2021;20(1):35.
8. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020; 579(7798):265–9.
9. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect.* 2021;54(2):159–63.
10. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies:

Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020;1866(10).

11. Kadam SB, Sukhramani GS, Bishnoi P, Pable AA, Barvkar VT. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. *J Basic Microbiol.* 2021;61(3):180–202.
12. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe.* 2020;27(3):325–8.
13. Razali R, Asis H, Budiman C. Structure-Function Characteristics of SARS-CoV-2 Proteases and Their Potential Inhibitors from Microbial Sources. *Microorganisms* 2021;9(12):2481.
14. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon KH, et al. SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell.* 2020;182(2):429–446.e14.
15. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Coronaviruses: Methods and Protocols.* 2015;1282:1–23.
16. Kumar M, al Khodor S. Pathophysiology and treatment strategies for COVID-19. *J Transl Med.* 2020;18(1).
17. Duan L, Zheng Q, Zhang H, Niu Y, Lou Y, Wang H. The SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Biosynthesis, Structure, Function, and Antigenicity: Implications for the Design of Spike-Based Vaccine Immunogens. *Front Immunol.* 2020;11.
18. Mason RJ, Health J. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective. *Eur Respir J.* 2020; 55(4).
19. Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, Pedoto A, Vercesi P, Lissoni A. Acute Respiratory Distress Syndrome Caused by Pulmonary and Extrapulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;158(1):3–11.
20. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol.* 2020;41(12):1100–15.

21. Moss M, Guidot DM, Duhon GF, Wolken R, Parsons PE, Steinberg KP, et al. Diabetic patients have a decreased incidence of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2000;28(7):2187–92.
22. Moss M, Bucher B, Moore FA, Moore EE, Parsons PE. The Role of Chronic Alcohol Abuse in the Development of Acute Respiratory Distress Syndrome in Adults. *JAMA*. 1996;275(1):50–4.
23. Hussain M, Syed SK, Fatima M, Shaukat S, Saadullah M, Alqahtani AM, et al. Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: A Literature Review. *J Inflamm Res*. 2021;14:7225–42.
24. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon KH, et al. SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell*. 2020;182(2):429-446.e14.
25. Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute Respiratory Distress Syndrome. Drazen JM, editor. *N Engl J Med*. 2017;377(6):562–72.
26. Matthay MA, Zemans RL. The Acute Respiratory Distress Syndrome: Pathogenesis and Treatment. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:163.
27. Ware LB. Pathophysiology of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Semin Respir Crit Care Med*. 2006;27(4):337–49.
28. COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. [accessed 2022 Jun 30]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
29. World Health Organization. Timeline of WHO’s response to COVID-19. Timeline: WHO’s COVID-19 response. [accessed 2022 Jul 1]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/interactive-timeline#!>
30. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1177–9.
31. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(5):672–5.

32. Hansen CH, Michlmayr D, Gubbels SM, Mølbak K, Ethelberg S. Assessment of protection against reinfection with SARS-CoV-2 among 4 million PCR-tested individuals in Denmark in 2020: a population-level observational study. *Lancet*. 2021;397(10280):1204–12.
33. Sagripanti JL, Lytle CD. Estimated Inactivation of Coronaviruses by Solar Radiation With Special Reference to COVID-19. *Photochem Photobiol*. 2020;96(4):731–7.
34. Heilingloh CS, Aufderhorst UW, Schipper L, Dittmer U, Witzke O, Yang D, et al. Susceptibility of SARS-CoV-2 to UV irradiation. *Am J Infect Control*. 2020;48(10):1273–5.
35. Darnell MER, Subbarao K, Feinstone SM, Taylor DR. Inactivation of the coronavirus that induces severe acute respiratory syndrome, SARS-CoV. *J Virol Methods*. 2004;121(1):85–91.
36. World Health Organization. Therapeutics and COVID-19: living guideline. 2022 [accessed 2022 Jul 1]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.3>
37. Couzin-Frankel J. Antiviral pills could change pandemic's course. *Science*. 2021;374(6569):799–800.
38. Owen DR, Allerton CMN, Anderson AS, Aschenbrenner L, Avery M, Berritt S, et al. An oral SARS-CoV-2 M pro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science*. 2021;374():1586–93.
39. Gordon CJ, Tchesnokov EP, Woolner E, Perry JK, Feng JY, Porter DP, et al. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *J Biol Chem*. 2020;295(20):6785–97.
40. Abani O, Abbas A, Abbas F, Abbas M, Abbasi S, Abbass H, et al. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. 2021:1637–45.

41. Mayence A, Vanden Eynde JJ. Baricitinib: A 2018 Novel FDA-Approved Small Molecule Inhibiting Janus Kinases. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;12(1):37.
42. Johns M, George S, Taburyanskaya M, Poon YK. A Review of the Evidence for Corticosteroids in COVID-19. *J Pharm Pract*. 2021; 15:897190021998502.
43. Knepper TP, Berna JL. Chapter 1 Surfactants: Properties, production, and environmental Aspects. *Compr Anal Chem*. 2003;40:1–49.
44. Calkovska A, Kolomaznik M, Calkovsky V. Alveolar type II cells and pulmonary surfactant in COVID-19 era. *Physiol Res*. 2021;70(S2):S195–208.
45. Herman L, de Smedt SC, Raemdonck K. Pulmonary surfactant as a versatile biomaterial to fight COVID-19. *J Control Release*. 2022;342:170–88.
46. Agassandian M, Mallampalli RK. Surfactant phospholipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1831(3):625.
47. Johansson J, Curstedt T, Robertson B. The proteins of the surfactant system. *Eur Respir J*. 1994:372–91.
48. Wang S, Li Z, Wang X, Zhang S, Gao P, Shi Z. The Role of Pulmonary Surfactants in the Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome in COVID-19. *Front Pharmacol*. 2021;12:698905.
49. Frerking I, Günther A, Seeger W, Pison U. Pulmonary surfactant: functions, abnormalities and therapeutic options. *Intensive Care Med*. 2001;27(11):1699–717.
50. Mason RJ. Thoughts on the alveolar phase of covid-19. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2020 ;319(1):L115–20.
51. Gerosa C, Fanni D, Cau F, Ravarino A, Senes G, Demontis R, et al. Immunohistochemical findings in the lungs of COVID-19 subjects: Evidence of surfactant dysregulation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021;25(13):4639–43.
52. Islam ABMMK, Khan MAAK. Lung transcriptome of a COVID-19 patient and systems biology predictions suggest impaired surfactant production which may be druggable by surfactant therapy. *Sci Rep*. 2020;10(1).

53. Kerget B, Kerget F, Koçak AO, Kızıltunç A, Araz Ö, Uçar EY, et al. Are Serum Interleukin 6 and Surfactant Protein D Levels Associated with the Clinical Course of COVID-19? *Lung*. 2020;198(5):777–84.
54. Veldhuizen RAW, Zuo YY, Petersen NO, Lewis JF, Possmayer F. The COVID-19 pandemic: a target for surfactant therapy? *Expert Rev Respir Med*. 2021;15(5):597–608.
55. Li D, Wang X, Liao Y, Wang S, Shan J, Ji J. Insights Gained Into the Treatment of COVID19 by Pulmonary Surfactant and Its Components. *Front Immunol*. 2022;13:1-8.
56. Ma CCH, Ma S. The Role of Surfactant in Respiratory Distress Syndrome. *Open Respir Med J*. 2012;6(1):53.
57. Rahaman SM, Chowdhury B, Acharjee A, Singh B, Saha B. Surfactant-based therapy against COVID-19: A review. *Tenside, Surfactants, Deterg*. 2021;58(6):410–5.
58. Leist SR, Dinnon KH, Schäfer A, Tse L v., Okuda K, Hou YJ, et al. A Mouse-Adapted SARS-CoV-2 Induces Acute Lung Injury and Mortality in Standard Laboratory Mice. *Cell*. 2020;183(4):1070-1085.e12.
59. Mazur W, Toljamo T, Ohlmeier S, Vuopala K, Nieminen P, Kobayashi H, et al. Elevation of surfactant protein A in plasma and sputum in cigarette smokers. *Eur Respir J*. 2011; 538(2):277–84.
60. Schousboe P, Wiese L, Heiring C, Verder H, Pooririsak P, Verder P, et al. Assessment of pulmonary surfactant in COVID-19 patients. *Crit Care*. 2020;24(1).