### THIAGO DE ALMEIDA BEZERRA

# Avaliação da imunidade antiviral no lavado nasal de pacientes com imunodeficiência comum variável em vigência de rinossinusites virais

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos

São Paulo

2016

### THIAGO DE ALMEIDA BEZERRA

# Avaliação da imunidade antiviral no lavado nasal de pacientes com imunodeficiência comum variável em vigência de rinossinusites virais

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos

São Paulo

2016

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Bezerra, Thiago de Almeida

Avaliação da imunidade antiviral no lavado nasal de pacientes com imunodeficiência comum variável em vigência de rinossinusites virais / Thiago de Almeida Bezerra. -- São Paulo, 2016. Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Dermatologia.

Orientador: Dewton de Moraes Vasconcelos.

Descritores: 1.Sinusite 2.Vírus 3.Imunodeficiência de variável comum 4.Citocinas 5.Quimiocinas 6.Reação em cadeia da polimerase em tempo real 7.Imunidade inata 8.Imunidade adaptativa

USP/FM/DBD-398/16

### Agradecimentos

Gostaria de agradecer a Deus, em primeiro lugar, pois sem Ele nada seria possível. Ele me trouxe luz e calma quando pedi, e me guiou sempre que precisei.

Também sou extremamente grato a minha tão amada família. Meu pai, meu grande inspirador; não seria médico se não fosse por ele. Minha mãe me ensinou o que é o amor, esse que foi o grande e maior ensinamento de Jesus. Meu irmão, meu melhor amigo e uma grande inspiração pelo seu amor à profissão que exerce me fazem querer ser melhor a cada dia.

Ao meu professor e amigo Dr Pérsio Roxo Júnior, que durante a residência médica, me apresentou o mundo das imunodeficiências primárias. Um mundo que se amplia a cada ano e que no ano de 2007, início da minha residência médica em Ribeirão Preto, eu mal sabia que essas doenças existiam.

Ao querido Professor Alberto Duarte que eu conheci durante um congresso de imunodeficiências realizado em São Paulo no ano de 2009 (SIDEP) e durante uma longa conversa, me convenceu a vir para São Paulo fazer doutorado assim que eu concluísse minha residência médica em Ribeirão Preto na área de Alergia e Imunologia Pediátrica. Professor Alberto me apresentou ao Dr Dewton de Moraes Vasconcelos, que se tornou meu orientador, mas, além disso, foi também um grande amigo, quase um pai. Doutor Dewton me acolheu, me orientou e me trouxe um conhecimento ao qual nunca imaginei ter um dia.

Gostaria de agradecer também a minha amada namorada, Gabriela Oliver Rossi, a qual soube suportar meus momentos de estresse e, com extrema maestria, os convertia em momentos de paz e alegria.

Um especial agradecimento a alguns amigos que me ajudaram direta ou indiretamente, antes e durante todo o doutorado: Almeidinhas, Uran e família, André Hoida e equipe de pediatria do H9J, em especial Giuliana Durigon.

Não poderia deixar de agradecer ao Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo por realizar os exames de identificação viral desse projeto e receber as coletas de material muitas vezes em horários não padronizados pelo serviço.

E como ficariam esses agradecimentos se eu não falasse do meu estimado Laboratório de Investigação Médica – Unidade 56 – e todo o pessoal que trabalha lá e que de alguma maneira me ajudou em algum ou em muitos momentos. São muitos os nomes aos quais devo agradecimentos: Alana, Grazielle, Noemia, Rosângela, Luanda, Luana, Cleiton, Paula Rigato, Paula Pinichi, Bosco, Nátalli, Anna Cláudia, Dra Maria, Dr Gil, Eduardo, Edna, Evelyn, Celeste, Lúcio, Cristina, Luis, Liã, Ciro, Dra Alessamdra Pontillo, Dra Telma, Alexandre Almeida, Daniel e tantos outros.

Agradeço também aos meus amigos e companheiros de ambulatório: Maurício, Noac, Dalton, Roberto e Laís por todo o apoio intelectual e fraternal. Do ambulatório, saíram também as pessas fundamentais para esse estudo: os pacientes. Nada existiria se eles não tivessem colaborado, se eles não tivessem me ligado quando estivessem com sintomas, se eles não tivessem vindo ao HC para coleta de material quando assim eu solicitei. Os pacientes são o motivo pelo qual eu e muitos outros médicos e profissionais de saúde existimos e batalhamos. Estudamos, lutamos e sofremos para vê-los sorrir. E quando eles sorriem, nós sorrimos também.

Obrigado!

Obrigado!

Obrigado!

## NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª Ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação: 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## **SUMÁRIO**

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos
Lista de Figuras
Lista de Quadros
Lista de Tabelas
Resumo
Abstract
1. Introdução
1.1 Vírus respiratórios {
1.1.1 Vírus Sincicial Respiratório
1.1.2 Metapneumovírus
1.1.3 Vírus Parainfluenza
1.1.4 Vírus Influenza
1.1.5 Adenovírus
1.1.6 Rinovírus
1.1.7 Coronavírus
1.1.8 Bocavírus
2. Objetivos
3. Métodos
3.1 Casuística 19
3.1.1 Pacientes
3.1.2 Indivíduos-controle
3.2 Coleta das amostras
3.3 Técnicas para diagnóstico dos vírus respiratórios
3.3.1 Detecção direta com anticorpos monoclonais
3.3.2 Extração de RNA viral
3.3.3 PCR (Polimerase Chain Reaction) na análise de diferentes vírus
3.4 Preparo das amostras e separação de células no LIM-56
3.5 Avaliação da síntese de citocinas e quimiocinas
3.6 Estudo da expressão gênica relacionada à imunidade inata e adaptativa antiviral (Quantificação por PCR em tempo real)
3.6.1 Constituição do "PCR Array" e vantagens da sua utilização
3.6.2 Estudo dos genes relacionados à imunidade inata e adaptativa ativados na infecções virais por "PCR Array"

Sinali	zação por receptores semelhantes a Toll:	25
Sinali	zação por receptores semelhantes a NOD:	25
Sinali	zação por receptores semelhantes a RIG-1:	25
Sinali	zação e Resposta do Interferon Tipo I	26
3.6.3	Padronização da técnica de extração de RNA de células do lavado na	ısal26
3.6.4	Síntese de cDNA	27
3.6.5	Pré-amplificação do cDNA	27
3.6.6	PCR Real Time usando RT <sup>2</sup> Profiler PCR Arrays	28
4. Resulta	dos	30
4.1 Ide	entificação dos vírus respiratórios	31
4.2 Av	valiação da produção de citocinas e quimiocinas	40
	tudo da expressão de genes relacionados à imunidade inata e a	-
4.3.1 sem Rir	Indivíduo Controle com Rinossinusite Viral versus Indivíduo nossinusite Viral	
4.3.2 Rinossi	Paciente ICV com Rinossinusite Viral versus Paciente Ionusite Viral	
4.3.3 Rinossii	Paciente ICV sem Rinossinusite Viral versus Indivíduo Cont nusite Viral	
3	Comparação entre os valores de FC encontrados nas avaliações lo versus ICV sem infecção, Controle com infecção versus Controle sem infecção versus Controle sem infecção	role sem
Sinali	zação por receptores semelhantes a TOLL:	53
Sinali	zação por receptores semelhantes a NOD:	55
Sinali	zação por receptores semelhantes a RIG-1:	56
Sinali	zação da resposta do interferon tipo I:	58
5. Discuss	ão	59
5.1 Ide	entificação dos vírus respiratórios	60
5.2 Im	unidade inata e adaptativa antiviral no lavado nasal	61
6. Conclus	sões	73
7. Anexos		75
8. Referên	cias	105
Glossário G	ênico	

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

β2Μ	. Beta 2 microglobulina.
μL	. Microlitro.
A(H1N1) pdm09	. Influenza pandêmico.
ΑСΤβ	Beta-actina.
ADEE 3003	. Ambulatório de Manifestações Dermatológicas das
	Imunodeficiências Primárias do Hospital das Clínicas da
	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
ADV	. Adenovírus.
AIM2	.Absent in melanoma 2 (Ausente em melanoma 2).
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
AP-1	. Activator protein 1 (Proteína ativadora 1)
APOBEC3G	.Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic
	polipeptide-like $3G$ (RNAm da enzima que edita a
	apolipoproteína B, complexo catalítico semelhante ao
	polipeptídeo tipo 3).
ATB(s)	. Antibiótico(s).
ATG5	. Autophagy protein 5 (Proteína autofágica 5).
AZI2	.5-Azacytidine induced 2 (Proteína 2 induzida pela 5-
	azacitidina).
BAFFR (TNFRSF13C)	.B cell Activating Factor Receptor (Receptor do fator de
	ativação de linfócitos B).
CARD9	Caspase recruitment domain Family, member 9 (Membro
	9 da família do domínio recrutador de caspase).
CASP1	Caspase 1.
CASP10	Caspase 10.
CASP8	Caspase 8.
CBA	. Cytometric Bead Array (Conjunto de microesferas
	citométricas).
CCL2 (MCP-1)	. Chemokine (C-C motif) ligand 2 (Ligante de quimiocina 2
	de motivo C-C; também chamada de MCP-1 - Monocyte
	Chemoattractant Protein 1).

CCL3	Chemokine (C-C motif) ligand 3 (Ligante de quimiocina 3
	de motivo C-C).
CCL5 (RANTES)	Chemokine (C-C motif) ligand 5 (Ligante de quimiocina 5
	de motivo C-C; também conhecida como RANTES -
	Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and
	Secreted.
CD154 (CD40L)	. Molécula CD154, também chamada de ligante do CD40.
CD19	. Molécula CD19. Antígeno de linfócitos B.
CD21	. Molécula CD21. Também conhecido como Receptor de
	complemento tipo 2.
CD40 (TNFRSF5)	Molécula CD40, também conhecido como TNF receptor
	superfamily member 5 (Membro 5 da superfamília do
	receptor do TNF).
CD54 (ICAM-1)	Molécula CD54, também conhecida como Intercellular
	Adhesion Molecule 1 (Molécula 1 de adesão intracelular).
CD62-L	. Molécula de adesão celular, L-selectina.
CD70	. Molécula CD70.
CD80	. Molécula CD80.
CD81	. Molécula CD81.
CD86	. Molécula CD86.
CDC	. Centers for Disease Control and Prevention (Centro de
	Prevenção e Controle de Doenças).
cDNA	. DNA complementar.
CHUK	. Conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase (quinase
	ubíqua de motivos hélice-alça-hélice conservados).
CpG-DNA	5' - Cytosine - phosphate - Guanine - 3' DNA (DNA
	contendo 5'-citosina-fosfato-guanina não metilado).
Ct	Cycle threshold (Limiar de detecção do ciclo).
CTRL(s)	. Controle(s).
CTSB	Catepsina B.
CTSL	Catepsina L1.
CTSS	. Catepsina S.

CXCL10 (IP-10)	. Chemokine (C-X-C motif) ligand 10 (Ligante de
	quimiocina 10 de motivo C-X-C); também chamada de IP-
	10 - Interferon gamma-induced protein 10 (Proteína 10
	induzida por interferon gama).
CXCL11	Chemokine (C-X-C motif) ligand 11 (Ligante de
	quimiocina 11 de motivo C-X-C).
CXCL8 (IL-8)	Chemokine (C-X-C motif) ligand 8 (Ligante de quimiocina
	8 de motivo C-X-C; também conhecida como interleucina
	8).
CXCL9 (MIG)	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9 (Ligante de quimiocina
	9 de motivo C-X-C). Também conhecido como MIG -
	Monokine Induced by Gamma interferon.
CXCR3	Chemokine (C-X-C Motif) Receptor 3 (Receptor 3 de
	quimiocina de motivo C-X-C).
CYLD	Cylindromatosis, turban tumor syndrome (Cilindromatose,
	síndrome do tumor em turbante).
DDX3X	. DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3 (polipeptídeo
	3 para motivos DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp).
DDX58 (RIG-1)	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 58
	(polipeptídeo 58 para motivos DEAD, Asp-Glu-Ala-Asp;
	também chamado de RIG-1 - retinoic acid-inducible gene
	I (gene indutível pelo ácido retinóico-I).
DHX58	DEXH (Asp-Glu-X-His) box polypeptide 58 (polipeptídeo
	58 para motivos DEXH, Asp-Glu-X-His).
dl	Decilitro.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
DP	Desvio padrão.
DS	Duração dos sintomas.
dsRNA	RNA de fita dupla.
EIA	Ensaios imunoenzimáticos.
ESID	European Socienty for Immunodeficiencies (Sociedade
	Européia de Imunodeficiências).

FADD	. Fas-associated via death domain (Domínio de morte
	associado a Fas).
FC	Fold change (Mudança do número de vezes).
Flu A	. Vírus Influenza A.
Flu B	Vírus Influenza B.
FOS	.FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
	(Homólogo ao oncogene viral do osteossarcoma murino
	FBJ).
G	Gravidade.
GAPDH	Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase
	(Desidrogenase do gliceraldeído 3 fosfato).
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor (Fator
	estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos).
GT/Influenza/SVS/MS	. Grupo técnico de influenza da Secretaria de Vigilância em
	Saúde do Ministério da Saúde.
H1N1	. Subtipo do vírus influenza A.
H3N2	. Subtipo do vírus influenza A.
HBoV	. Bocavírus humano.
HBoV1, 2, 3 e 4	. Bocavírus humano 1, 2, 3 e 4.
HCFMUSP	. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
	Universidade de São Paulo.
HCoV	. Coronavírus humano.
HGDC	. Controle de contaminação de DNA genômico.
hMPV	. Metapneumovírus humano.
HNECs	. Células epiteliais nasais humanas.
HRV	. Rinovírus humano.
HSP90AA1	.Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A
	member 1 (Membro 1 da classe A de proteínas de choque
	térmico alfa de 90 kDa)
ICAM-1 (CD54)	Molécula 1 de adesão intracelular.
ICOS	Inducible Co-stimulator (Co-estimulador induzível).
ICV	. Imunodeficiência Comum Variável.
IDPs	Imunodeficiências Primárias.

IFA	. Imunofluorescência.
IFD	. Imunofluorescência Direta.
IFIH1 (MDA-5)	Interferon induced with helicase C domain 1, (Proteína
	com domínio 1 da helicase C induzida por interferon);
	também conhecido como Melanoma Differentiation-
	Associated protein 5 (Proteína 5 associada a diferenciação
	de melanoma).
IFNα	. Interferon alfa.
IFNα 1 e 2	. Interferon alfa 1 e 2.
IFNαR1	. Receptor 1 de Interferon (alfa e beta).
IFNβ	. Interferon beta.
IFNβ1	. Interferon beta 1.
IFNγ	. Interferon gama.
IgA	. Imunoglobulina A.
IgG	. Imunoglobulina G.
IgIV	. Imunoglobulina intravenosa.
IgM	. Imunoglobulina M.
IL-10	. Interleucina 10.
IL-12/IL-23p40	. Interleucina 12/Interleucina 23p40.
IL-12A e B	. Interleucina 12 A e Interleucina 12 B.
IL-15	Intereucina 15.
IL-17A	Interleucina 17 A.
IL-18	Interleucina 18.
IL-1β	Interleucina 1 beta.
IL-2	Interleucina 2.
IL-4	Interleucina 4.
IL-6	Interleucina 6.
IL-8 (CXCL8)	. Interleucina 8.
IMTSP	Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.
INMETRO	. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia.
IP-10 (CXCL10)	. Interferon gamma-induced protein 10 (Proteína 10
	induzida por interferon gama); também chamada de

quimiocina 10 de motivo C-X-C).  IRAK1. Interleukin-1 receptor associated kinase 1 (Quinase 1 associada ao receptor de interleucina-1).  IRF3. Interferon regulatory factor 3 (Fator 3 regulador do interferon).  IRF5. Interferon regulatory factor 5 (Fator 5 regulador do interferon).  IRF7. Interferon regulatory factor 7 (Fator 7 regulador do interferon).  ISG15. ISG15 ubiquitin-like modifier (modificador similar à ubiquitina do gene 15 estimulado por interferon).  IUIS. International Union of Immunological Societies (União Internacional das Sociedades de Imunologia).  IKBKB. Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells, kinase beta (Quinase beta do gene potencializador do inibidor do polipeptídeo da cadeia leve kappa nas células B).  JUN. Jun proto-oncogene (Proto-oncogene Jun).  Kg. Quilograma.  LAIV. Vacina intranasal com vírus vivo atenuado contra vírus influenza A.  LDLR. Receptor de lipoproteína de baixa densidade.  LGP-2. Laboratory of genetics and physiology 2 (Laboratório 2 de genética e fisiologia).  LIM-52. Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina
associada ao receptor de interleucina-1).  IRF3
IRF3
interferon).  IRF5
IRF5
interferon).  IRF7
IRF7
interferon).  ISG15
ISG15
ubiquitina do gene 15 estimulado por interferon).  IUIS
IUIS
Internacional das Sociedades de Imunologia).  IkBKB. Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells, kinase beta (Quinase beta do gene potencializador do inibidor do polipeptídeo da cadeia leve kappa nas células B).  JUN. Jun proto-oncogene (Proto-oncogene Jun).  Kg. Quilograma.  LAIV. Vacina intranasal com vírus vivo atenuado contra vírus influenza A.  LDLR. Receptor de lipoproteína de baixa densidade.  LGP-2. Laboratory of genetics and physiology 2 (Laboratório 2 de genética e fisiologia).  LIM-52. Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina
IκBKB. Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells, kinase beta (Quinase beta do gene potencializador do inibidor do polipeptídeo da cadeia leve kappa nas células B).  JUN. Jun proto-oncogene (Proto-oncogene Jun).  Kg. Quilograma.  LAIV. Vacina intranasal com vírus vivo atenuado contra vírus influenza A.  LDLR. Receptor de lipoproteína de baixa densidade.  LGP-2. Laboratory of genetics and physiology 2 (Laboratório 2 de genética e fisiologia).  LIM-52. Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina
cells, kinase beta (Quinase beta do gene potencializador do inibidor do polipeptídeo da cadeia leve kappa nas células B).  JUN
do inibidor do polipeptídeo da cadeia leve kappa nas células B).  JUN
células B).  JUN
JUN
<ul> <li>Kg</li></ul>
LAIV
influenza A.  LDLR
LDLR
LGP-2
genética e fisiologia).  LIM-52Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina
LIM-52Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina
-
m 1 1 1 2 m 5 1
Tropical de São Paulo.
LIM-56Laboratório de Investigação Médica Unidade 56.
LNFLavado nasofaríngeo.
MAP2K1
proteína quinase ativada por mitógeno).
MAP2K3
proteína quinase ativada por mitógeno).

MAP3K1	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1 (Quinase
	1 da quinase da proteína quinase ativada por mitógeno).
MAP3K7	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 (Quinase
	7 da quinase da proteína quinase ativada por mitógeno).
MAPK1 (ERK)	Mitogen-activated protein kinase 1 (Proteína quinase 1
	ativada por mitógeno).
MAPK14 (p38)	Mitogen-activated protein kinase 14 (Proteína quinase 14
	ativada por mitógeno).
MAPK3	Mitogen-activated protein kinase 3 (Proteína quinase 3
	ativada por mitógeno).
MAPK8	Mitogen-activated protein kinase 8 (Proteína quinase 8
	ativada por mitógeno).
MAVS (IPS-1)	Mitochondrial antiviral signaling protein (Proteína de
	sinalização antiviral mitocondrial).
MCP-1 (CCL2)	Monocyte Chemoattractant Protein 1 (proteína 1
	quimiotáxica de monócitos); também chamada de ligante
	de quimiocina 2 de motivo C-C.
MDA-5 (IFIH1)	Melanoma Differentiation-Associated protein 5 (Proteína
	5 associada a diferenciação de melanoma). Também
	chamada de Interferon induced with helicase C domain 1,
	(Proteína com domínio 1 da helicase C induzida por
	interferon).
MEFV	Mediterranean fever (Febre do Mediterrâneo).
Mg	Miligrama.
MIG (CXCL9)	Monokine Induced by Gamma interferon (Monocina
	induzida por interferon gama). Também chamasa de
	ligante de quimiocina 9 de motivo C-X-C
mL	Mililitros.
MSH5	MutS protein homolog 5 (Homólogo 5 da proteína Mut S).
MX1 (MxA)	Myxovirus (influenza vírus) resistance 1 (Proteína 1 de
	resistência aos mixovírus).
MYD88	Myeloid differentiation primary response gene (88) (Gene
	de resposta primária de diferenciação mielóide 88)

NFκB1	NaCl 0,9% (SF 0,9%)	Cloreto de sódio a 0,9% ou Soro fisiológico 0,9%.
polipeptídeo de cadeia leve kappa nas células B).  NFkBIA. **Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (Cadeia alfa do inibidor do gene potencializador do fator nuclear de polipeptídeo de cadeia leve kappa nas células B).  ng. **Nanograma**  NK. **Células Natural killers.**  NLRP3. **NLR Family, pyrin domain containing 3 (Proteína 3 contendo domínio de pirina da família NLR).  NLRS. **Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (Receptores similares aos domínios de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  nm. **Nanômetro**  NOD. **Nucleotide-binding oligomerization domain (Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  NOD2. **Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (Proteína 2 contendo Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  OAS2. **2 * 5' * - oligoadenylate synthetase 2 (Sintetase 2 do 2 * 5' - oligoadenilato).**  °C. **Graus Celsius.**  Opn. **Osteopontina.**  PAGID. **Pan-american Group for Immunodeficiency (Grupo Panamericano de Imunodeficiências).  PAHS-122. **Plataforma de imunidade antiviral humana.  PAMPs. **Padrões moleculares associados a patógenos.**  PBS. **Phosphate buffered saline (Tampão fosfato-salino).**  PCR. **Polimerase Chain Reaction (Reação em cadeia de polimerase).**	NFκB1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer
NFkBIA.  Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (Cadeia alfa do inibidor do gene potencializador do fator nuclear de polipeptídeo de cadeia leve kappa nas células B).  ng.  Nanograma.  NK.  Células Natural killers.  NLRP3.  NLR Family, pyrin domain containing 3 (Proteína 3 contendo domínio de pirina da família NLR).  NLRS.  Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (Receptores similares aos domínios de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  nm.  Nanômetro.  NOD.  Nucleotide-binding oligomerization domain (Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  NOD2.  Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (Proteína 2 contendo Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  OAS2.  2'-5'-oligoadenylate synthetase 2 (Sintetase 2 do 2'5'-oligoadenilato).  °C.  Graus Celsius.  Opn.  Osteopontina.  PAGID.  Pan-american Group for Immunodeficiency (Grupo Panamericano de Imunodeficiências).  PAHS-122.  Plataforma de imunidade antiviral humana.  PAMPs.  Padrões moleculares associados a patógenos.  PBS.  Phosphate buffered saline (Tampão fosfato-salino).  PCR.  Polimerase Chain Reaction (Reação em cadeia de polimerase).		in B-cells 1 (Gene potencializador 1 do fator nuclear de
in B-cells inhibitor, alpha (Cadeia alfa do inibidor do gene potencializador do fator nuclear de polipeptídeo de cadeia leve kappa nas células B).  ng		polipeptídeo de cadeia leve kappa nas células B).
potencializador do fator nuclear de polipeptídeo de cadeia leve kappa nas células B).  ng	NFκBIA	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer
leve kappa nas células B).  ng		in B-cells inhibitor, alpha (Cadeia alfa do inibidor do gene
ng		potencializador do fator nuclear de polipeptídeo de cadeia
NK		leve kappa nas células B).
NLRP3	ng	Nanograma.
contendo domínio de pirina da família NLR).  Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (Receptores similares aos domínios de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  nm	NK	Células Natural killers.
NLRs	NLRP3	NLR Family, pyrin domain containing 3 (Proteína 3
(Receptores similares aos domínios de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  nm		contendo domínio de pirina da família NLR).
ligação de nucleotídeos).  nm	NLRs	Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors
nm		(Receptores similares aos domínios de oligomerização de
NOD		ligação de nucleotídeos).
oligomerização de ligação de nucleotídeos).  NOD2	nm	Nanômetro.
NOD2. Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (Proteína 2 contendo Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  OAS2. 2'-5'-oligoadenylate synthetase 2 (Sintetase 2 do 2'5'-oligoadenilato).  C. Graus Celsius. Opn. Osteopontina.  PAGID. Pan-american Group for Immunodeficiency (Grupo Panamericano de Imunodeficiências).  PAHS-122. Plataforma de imunidade antiviral humana.  PAMPS. Padrões moleculares associados a patógenos.  PBS. Phosphate buffered saline (Tampão fosfato-salino).  PCR. Polimerase Chain Reaction (Reação em cadeia de polimerase).	NOD	Nucleotide-binding oligomerization domain (Domínio de
(Proteína 2 contendo Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos).  OAS2		oligomerização de ligação de nucleotídeos).
ligação de nucleotídeos).  OAS2	NOD2	Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2
OAS2		(Proteína 2 contendo Domínio de oligomerização de
oligoadenilato).  C		ligação de nucleotídeos).
°C	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2 (Sintetase 2 do 2'5'-
Opn		oligoadenilato).
PAGID	°C	Graus Celsius.
Panamericano de Imunodeficiências).  PAHS-122	Opn	Osteopontina.
PAHS-122	PAGID	Pan-american Group for Immunodeficiency (Grupo
PAMPs		Panamericano de Imunodeficiências).
PBS	PAHS-122	Plataforma de imunidade antiviral humana.
PCR	PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos.
polimerase).	PBS	Phosphate buffered saline (Tampão fosfato-salino).
•	PCR	Polimerase Chain Reaction (Reação em cadeia de
		polimerase).
pgPicograma.	pg	Picograma.

PIN1	. Peptidylpropyl cis/trans isomerase, NIMA-interacting 1
	(Isomerase 1 cis/trans de peptidilpropil interagindo com
	NIMA).
PIV1, 2, 3 e 4	Parainfluenza 1, 2, 3 e 4.
PPC	.Controles positivos de amplificação PCR.
Proteína F	. Glicoproteína relacionada a fusão viral.
Proteína G	Glicoproteína relacionada a adesão viral.
Proteína HA	.Proteína de superfície do vírus influenza A -
	hemaglutinina.
Proteína HN	.Proteína viral relacionada a atividade de hemaglutinação e
	neuraminidase.
Proteína L	.Nucleoproteína viral.
Proteína M	.Proteína relacionada a matriz viral.
Proteínas M2-1 e M2-2	. Fatores de transcrição e regulação viral.
Proteína N	Nucleocapsídeo viral.
Proteína NA	.Neuraminidase de superfície do vírus influenza A
Proteína NP1	Fosfoproteína nuclear viral.
Proteína NS1 e NS2	. Proteína viral não estrutural 1 e 2.
Proteína P	. Fosfoproteína viral.
Proteína SH	. Glicoproteína hidrofóbica de superfície viral.
PRRs	.Receptores de reconhecimento de padrões.
PSTPIP1	Proline-serine-threonine phosphatase interacting protein
	$\it I$ (Proteína 1 que interage com a fosfatase de prolina-
	serina-treonina).
PYCARD	PYD and CARD domain containing (Proteína contendo
	domínios de PYD e CARD).
PYDC1	.PYD (pyrin domain) containing 1 (Proteína 1 contendo
	domínio de pirina).
RA	. Rinite alérgica.
RANTES (CCL5)	Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and
	Secreted (reguladas pela ativação, expressas e secretadas
	pelas células T normais). Também chamado de ligante de
	quimiocina 5 de motivo C-C.

RELA (NFκB3)	V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A
	(Homólogo A do oncogene viral da reticuloendoteliose V-
	rel).
RIG-1 (DDX58)	Retinoic acid-inducible gene 1 (gene indutível pelo ácido
	retinóico-1).
RIPK1	Receptor (TNFRSF)-interacting serine-threonine kinase 1
	(Quinase 1 do receptor da super família do TNF que
	interage com serina-treonina).
RLRs	RIG-1 like receptors (receptores semelhantes a RIG-1).
RNA	Ácido ribonucleico.
RSA	Rinossinusite aguda.
RSC	Rinossinusite crônica.
RSCA	Rinossinusite crônica com períodos de agudização.
RSR	Rinossinusite recorrente.
RSs	Rinossinusites.
RSSA	Rinossinusite subaguda.
RTC	Controle de atividade da transcrição reversa.
	g
	Reação em cadeia de polimerase precedida por
	·
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição Reversa.
rt-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em
rt-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real).
RT-PCRrt-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios X.
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância Epidemiológica.
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda grave.
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1  SRAG  ssRNA	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda grave.
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1  SRAG  ssRNA  -ssRNA	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda graveRNA de fita simples.
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1  SRAG  ssRNA  -ssRNA	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda graveRNA de fita simplesRNA de fita simples com polaridade negativa.
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1  SRAG  ssRNA  -ssRNA  STAT1	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda graveRNA de fita simplesRNA de fita simples com polaridade negativaSignal transducer and activator of transcription 1
RT-PCR  rt-PCR  RX  SIVEP  SPP1  SRAG  ssRNA  -ssRNA  STAT1	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda graveRNA de fita simplesRNA de fita simples com polaridade negativaSignal transducer and activator of transcription 1 (transdutor de sinal e ativador de transcrição 1).
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição ReversaReal time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real)Raios XSistema de Informação de Vigilância EpidemiológicaSecreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1)Síndrome respiratória aguda graveRNA de fita simplesRNA de fita simples com polaridade negativaSignal transducer and activator of transcription 1 (transdutor de sinal e ativador de transcrição 1)Suppressor of G2 allele of SKP1 (Supressor do alelo G2
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase precedida por Transcrição Reversa. Real time PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real). Raios X. Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica. Secreted phosphoprotein 1 (Fosfoproteína secretada 1). Síndrome respiratória aguda grave. RNA de fita simples. RNA de fita simples com polaridade negativa. Signal transducer and activator of transcription 1 (transdutor de sinal e ativador de transcrição 1). Suppressor of G2 allele of SKP1 (Supressor do alelo G2 de SKP1).

TBK1	TANK-binding kinase 1 (Quinase 1 de ligação a TANK).
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido.
TCR	T cell receptor (Receptor de células T).
Th1	. T helper tipo 1 (Linfócito T auxiliador do tipo 1).
Th17	T helper tipo 17 (Linfócito T auxiliador do tipo 17).
Th2	. T helper tipo 2 (Linfócito T auxiliador do tipo 2).
TICAM1 (TRIF)	Toll like receptor adaptor molecule I (Molécula
	adaptadora 1 do receptor semelhante a Toll).
TIV	Vacina trivalente inativada contra vírus influenza A.
TKFC (DAK)	Dihydroxyacetone kinase 2 homolog (Homólogo 2 da
	quinase de dihidroxiacetona).
TLR	Toll like receptor (Receptor semelhante a Toll).
TLR3	Toll like receptor 3 (Receptor semelhante a Toll 3).
TLR7	Toll like receptor 7 (Receptor semelhante a Toll 7).
TLR8	Toll like receptor 8 (Receptor semelhante a Toll 8).
TLR9	Toll like receptor 9 (Receptor semelhante a Toll 9).
TNF	Fator de necrose tumoral.
TRADD	TNFRSF1A-associated via death domain (Domínio de
	morte associado ao receptor 1A da super família do
	receptor do TNF).
TRAF3	TNF receptor-associated factor 3 (Fator 3 associado ao
	receptor de TNF).
TRAF6	TNF receptor-associated factor 6 (Fator 6 associado ao
	receptor de TNF).
TRIM25	Tripartite motif containing 25 (Proteína 25 contendo um
	motivo tripartite).
USA	United States of America (Estados Unidos da América).
USP	Universidade de São Paulo.
UV	Ultravioleta.
VP1, 2, 3 e 4	Proteínas que formam o capsídeo viral e que envolvem o
	genoma de RNA.
VSR	Vírus Sincicial Respiratório

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sazonalidade dos vírus respiratórios detectados
Fígura 2 – Quantificação das quimiocinas CXCL10, CCL2, CCL5 e CXCL8 no sobrenadante do lavado nasal
Fígura 3 – Quantificação das citocinas IFNγ, IL-6 e IL-2 no sobrenadante do lavado nasal
Figura 4 – Quantificação das citocinas IL-10, TNF e IL-1β no sobrenadante do lavado nasal
Figura 5 – Quantificação da citocina IFN $\alpha$ no sobrenadante do lavado nasal
Figura 6 - Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização por receptores semelhantes a Toll. 54
Figura 7 - Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização por receptores semelhantes a NOD
Figura 8 – Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização por receptores semelhantes a RIG-1.
Figura 9 - Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização da resposta do interferon (IFN) tipo I

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	- Dados virológicos	, clínicos e imuno	lógicos dos paci	entes ICV da	a casuística	37
Quadro 2	2 - Dados virológicos	, clínicos e imuno	lógicos dos cont	roles da casu	ıística	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados gerais da casuística
Tabela 2 – Taxas de detecção dos vírus respiratórios pelas técnicas de IFD e PCR nos indivíduos controles e nos pacientes com ICV
Tabela 3 – Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de controles e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral
Tabela 4 – Expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nos indivíduos controles com RNS viral aguda ou crônica agudizada em relação aos indivíduos controles livres de infecção e assintomáticos
Tabela 5 - Expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nos pacientes com ICV com RNS viral aguda ou crônica agudizada em relação aos pacientes ICV livres de infecção e assintomáticos
Tabela 6 - Expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nos pacientes com ICV em relação aos indivíduos controles, ambos livres de infecção e assintomáticos
Tabela 7 - Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de indivíduos controle e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral 79
Tabela 8 – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (CT's individuais de controles e pacientes com ICV)
Tabela 9 – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's individuais de controles e pacientes com ICV com os cálculos de média e desvio padrão dos Delta CT's)
Tabela 10 – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's normalizados de controles e pacientes com ICV) 91
Tabela 11 — Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos indivíduos controle e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste)
Tabela 12 — Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos pacientes com ICV e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste)
Tabela 13 — Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (FC's dos valores normalizados, média dos FC's e desvio padrão dos contoles e pacientes com ICV sem rinossinusite viral, e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste da comparação dos grupos)
Tabela 14 – Comparativo geral dos <i>Fold Changes</i> gênicos entre os grupos estudados, separados por via de sinalização



Bezerra, TA. Avaliação da imunidade antiviral no lavado nasal de pacientes com imunodeficiência comum variável em vigência de rinossinusites virais [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO: Imunodeficiências primárias são um grupo heterogêneo de distúrbios de origem genética que afetam a imunidade e se caracterizam por infecções de repetição. Aproximadamente metade dos casos estão ligados a deficiências humorais e dentre estas podemos destacar a Imunodeficiência Comum Variável (ICV). Uma vez que os pacientes com ICV possuem redução dos níveis de anticorpos, esses pacientes apresentam infecções recidivantes do trato respiratório e aproximadamente 90% tiveram no mínimo um episódio de rinossinusite (RNS). A RNS se instala devido ao desequilíbrio entre o meio ambiente e fatores do hospedeiro e a infecção viral é pelo menos 20 vezes mais frequente do que a infecção bacteriana em indivíduos normais. OBJETIVOS: (1) Identificar os agentes virais da RNS nos pacientes com ICV e em indivíduos controles em um contexto prospectivo; (2) Definir quais citocinas e quimiocinas estão presentes e avaliar a expressão de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral no lavado nasal de pacientes com ICV e nos indivíduos controles. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS: Pacientes com ICV e indivíduos controles foram avaliados quando apresentavam sinais e sintomas de uma RNS viral e foi realizado a coleta de lavado nasal para a identificação de vírus respiratórios, além da quantificação da secreção de citocinas e quimiocinas e da avaliação da expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral. A avaliação foi repetida quando todos os indivíduos previamente estudados se encontravam assintomáticos. RESULTADOS: De abril de 2012 a novembro de 2014, foram colhidas 65 amostras de lavado nasal, 43 amostras de 34 indivíduos controles e 22 amostras de 14 pacientes com ICV. Quatro amostras foram positivas para vírus pela técnica da imunofluorescência direta e dezoito amostras foram positivas pelo PCR. Pacientes com ICV tiveram mais infecções, duração maior dos sintomas e maior necessidade de uso de antibióticos que o grupo controle. A avaliação da produção de citocinas e quimiocinas no lavado nasal mostrou aumento da secreção de CXCL10, CCL2, CCL5, CXCL8 IL-6, IL-10, IL-1β e TNF em ambos os grupos quando esses apresentavam quadro agudo de RNS viral. Foi realizada a expressão de genes pela técnica do PCR Real Time. Os pacientes com ICV apresentaram um aumento de expressão de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa anitiviral substancialmente maior frente a um quadro de RNS viral do que os indivíduos controles em situações semelhantes. Quando comparamos os pacientes ICV e os controles ambos sem infecção aguda, observamos que os genes apresentam em sua maioria uma redução de expressão nos pacientes com ICV. DISCUSSÃO: Os vírus detectados respeitaram a sazonalidade em que normalmente são detectados e pacientes com ICV proporcionalmente tiveram mais infecções e uma evolução pior que o grupo controle. Aparentemente não houve diferenças significativas entre os grupos estudados quanto à liberação de citocinas e quimiocinas. Com relação ao estudo da expressão gênica, a maior amplitude de variação observada nos pacientes com ICV pode significar um desajuste de resposta imune levando a um quadro de maior inflamação local com consequente maior dano tecidual e justificando assim a incidência aumentada de complicações, duração aumentada dos sintomas e replicação viral aumentada nesse grupo de pacientes.

Descritores: Sinusite; Vírus; Imunodeficiência de Variável Comum; Citocinas; Quimiocinas; Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real; Imunidade Inata; Imunidade Adaptativa.

**Abstract** 

Bezerra, TA. Evaluation of antiviral immunity in nasal wash of patients with common variable immunodeficiency along with viral rhinosinusitis [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

INTRODUCTION: Primary immunodeficiencies (PIDs) are a heterogeneous group of genetic disorders that affect immunity and are characterized by relapsing, usually severe infections. Approximately half of the cases are linked to humoral deficiencies, being common variable immunodeficiency (CVID) the most frequent. CVID patients have reduced levels of antibodies; therefore, these patients have recurrent infections in the respiratory tract and approximately 90% had at least one episode of rhinosinusitis (RS). RS installs itself due to the imbalance between the environment and host factors and viral infection is at least 20 times as common as the bacterial infection in normal individuals. OBJECTIVES: (1) Identify the viral agents of rhinosinusitis in patients with CVID and in control individuals on a prospective context; (2) define which cytokines and chemokines are present in the nasal wash and evaluate the expression of genes related to innate and adaptive antiviral immunity in nasal wash of CVID patients and in control individuals. CASES, MATERIALS, AND METHODS: patients with CVID and control individuals were examined at Outpatient Facility of Dermatological Manifestations of Primary Immunodeficiencies and when they presented signs and symptoms of a viral RS. Nasal wash was collected in order to identify respiratory viruses; secretion of cytokines and chemokines were quantified and gene expression of genes related to innate and adaptive antiviral immunity were evaluated. This evaluation was repeated when all individuals previously studied were asymptomatic. RESULTS: From April 2012 to November 2014, 65 samples of nasal wash, 43 samples of 34 control individuals and 22 samples of 14 patients with CVID were collected. Four samples were positive for virus by direct immunofluorescence technique and eighteen samples by PCR. The detected viruses behaved according to the season in which they are normally detected and patients with CVID proportionally had more and longer infections and required more antibiotics than the control group. The evaluation of the production of cytokines and chemokines showed an increased secretion of CXCL10, CXCL8 CCL2, CCL5, IL-6, IL-10, IL-1β and TNF in both groups when they presented acute viral RS. Gene expression was performed by using Real Time PCR. CVID patients showed increased expression of genes related to innate and adaptive antiviral immunity when compared to control individuals presenting acute viral RS. Conversely, when we compared CVID patients and control individuals both without acute infection, we observed a reduction in gene expression in CVID patients. DISCUSSION: The viral rhinosinusitis respected seasonality and CVID patients had proportionally more infections and a worse evolution than the control group. Apparently, there were no significant differences between the groups regarding the release of cytokines and chemokines. The greater magnitude of gene expression variation observed in CVID patients suggests an imbalance of immune response leading to a state of greater local inflammation with consequent greater tissue damage, therefore justifying an increased incidence of complications, increased duration of symptoms and increased viral replication in this group of patients.

Descriptors: Sinusitis; Viruses; Common Variable Immunodeficiency; Cytokines; Chemokines; Real-Time Polymerase Chain Reaction; Immunity, Innate; Adaptive Immunity.

1. Introdução

O Sistema Imune consiste de uma rede de mecanismos, formado por componentes celulares e humorais, capazes de manter a integridade do organismo contra a agressão por microrganismos e evitando danos teciduais. Defeitos em um ou mais componentes do sistema imunológico podem causar doenças sérias e frequentemente fatais, chamadas Imunodeficiências. Essas doenças são classificadas em dois grupos: as congênitas ou primárias e as imunodeficiências adquiridas ou secundárias (1).

Imunodeficiências primárias (IDPs) são um grupo heterogêneo de distúrbios de origem genética que: afetam a imunidade humoral e celular ou mecanismos de defesa mediados por proteínas do complemento e células como fagócitos e natural killers (NK); que levam a falhas ou ausência da resposta imunológica e se caracterizam por infecções de repetição usualmente graves <sup>(2)</sup>. Sabe-se que possuem uma incidência de 1,4 – 12,4 para cada 100.000 habitantes e uma prevalência de 1 – 8,3 para 10.000 habitantes, sendo que usualmente pelo menos 50% dos casos são associados a deficiências da resposta humoral, afetada na diferenciação de linfócitos B ou na produção de anticorpos <sup>(3-5)</sup>. No Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foram avaliados 1.008 pacientes com diagnósticos bem definidos. A deficiência humoral foi a categoria mais comumente encontrada (61%), a maioria consistindo de Imunodeficiência Comum Variável (ICV), deficiência de IgA e deficiência de IgM <sup>(6)</sup>.

Como visto, aproximadamente metade dos casos estão ligados a deficiências humorais. Dentre as imunodeficiências primárias humorais podemos destacar a ICV <sup>(7)</sup>. Uma vez que a causa da ICV é desconhecida, não há uma definição universalmente aceita para essa doença. Muitos critérios diagnósticos têm sido propostos <sup>(8)</sup>. A definição publicada pela Sociedade Européia de Imunodeficiências (ESID) e pelo Grupo Pan Americano de Imunodeficiências (PAGID) em 1999 é comumente usada. Os critérios diagnósticos da ESID/PAGID compreendem três partes: (1) Hipogamaglobulinemia com níveis de IgG dois desvios-padrão abaixo da média para a idade; (2) falta de resposta anticórpica a imunizações ou isohemaglutininas ausentes; e (3) exclusão de outras causas primárias de hipogamaglobulinemia <sup>(9)</sup>. A ausência parcial de anticorpos resulta em infecções bacterianas recidivantes no trato respiratório e no trato gastrointestinal, que podem levar a alterações patológicas pulmonares e gastrointestinais <sup>(10)</sup>.

Cunningham-Rundles e Bodian *et al.* descrevem que a ICV pode manifestar-se na infância ou na idade adulta, com picos entre os 6 e 10 e entre os 26 e 40 anos de idade, respectivamente <sup>(11)</sup>. Um outro estudo relata que se trata de um processo contínuo <sup>(12)</sup>. Ambos os estudos descrevem que a doença pode ser detectada em qualquer fase da vida.

Durante os últimos anos, mutações em alguns genes associados com a diferenciação de células B, incluindo ICOS (Inducible Co-stimulation) (13-15), TACI (TNFRSF13B) (16, 17), BAFFR (B cell Activating Factor Receptor ou TNFRSF13C) (18), CD19 (19, 20), MSH5 (21), CD81 (22) e CD21 (23) têm sido encontradas em pacientes com ICV, porém a imensa maioria dos casos permanece sem etiologia genética conhecida.

Diversas anormalidades imunológicas foram identificadas em pacientes com ICV. Defeitos na iunidade inata incluem ativação defeituosa de TLR9 e produção diminuída de IL-6 e IL-10 (24).Os defeitos de células T descritos incluem ativação e proliferação reduzidas (25), produção prejudicada de citocinas (26-28) e expressão alterada de algumas moléculas de superfície induzidas pela ativação, como o CD154 (29, 30), o CD62-L (31) e atractina (32), sugerindo algumas anormalidades na sinalização pelo TCR (30, 33, 34). Do lado das células B, vários estudos sugeriram defeitos intrínsecos levando a distúrbios da diferenciação terminal destas células (35-37), hipermutações somáticas reduzidas (38), retroalimentação positiva de CD86 e CD70 reduzidas (39, 40) e desenvolvimento alterado de células B de memória que passaram por comutação isotípica (37, 41-43). Mais recentemente, as células dendríticas têm sido implicadas na patogênese da ICV, pelo fato dessas células apresentadoras de antígenos terem um papel fundamental na reação do centro germinativo através do contato direto com as células B e T e a secreção de citocinas apropriadas (44).

Uma vez que os pacientes com ICV possuem redução dos níveis de anticorpos, esses pacientes apresentam infecções recidivantes no trato respiratório e no trato gastrointestinal, que podem levar a alterações patológicas pulmonares e gastrointestinais (45). As infecções do trato respiratório são as mais freqüentes e, não raro, já existem bronquiectasias na época do diagnóstico. Em estudo realizado por Cunningham-Rundles & Bodian no ano de 1999, evidenciou-se que as infecções respiratórias são particularmente mais comuns em pacientes com ICV, sendo que aproximadamente 90% destes tiveram no mínimo um episódio de sinusite e 70% tinham otite média de repetição antes do diagnóstico. Cerca de 80% já tiveram pelo menos uma pneumonia e

muitos desses apresentaram múltiplos episódios <sup>(11)</sup>. Em 2012, Cunningham-Rundles avaliou 473 pacientes com ICV e observou que aproximadamente 50% dos pacientes apresentaram pelo menos um episódio de pneumonia. Quando não há história de pneumonia, os pacientes geralmente possuem história de bronquites, sinusites e otites recorrentes <sup>(45)</sup>.

A rinossinusite é definida como uma condição resultante de um processo inflamatório da mucosa que reveste a cavidade nasal e os seios paranasais. A expressão rinossinusite é a mais apropriada para definir esta doença, já que o nariz e os seios paranasais se apresentam usualmente como uma continuidade anatômica e fisiopatológica (46-49). A classificação mais comum das rinossinusites (RSs) se baseia no tempo de evolução dos sintomas e na freqüência de seu aparecimento: rinossinusite aguda (RSA) é aquela cujos sintomas apresentam duração de até 4 semanas; rinossinusite subaguda (RSSA) têm duração maior que 4 e menor que 12 semanas; rinossinusite crônica (RSC), com duração maior que 12 semanas; rinossinusite recorrente (RSR) com quatro ou mais episódios de RSA no intervalo de um ano, com resolução completa dos sintomas; e rinossinusite crônica com períodos de agudização (RSCA), com duração de mais de 12 semanas com sintomas leves e períodos de intensificação (48).

A rinossinusite se instala devido ao desequilíbrio entre o meio ambiente e fatores do hospedeiro. A causa mais comum em todas as faixas etárias é a infecção viral das vias aéreas superiores provocando o edema ou inflamação da mucosa nasal e a secreção de muco mais espesso, que obstrui os óstios de drenagem dos seios paranasais facilitando crescimento bacteriano dentro dos seios (50). Outros mecanismos pelos quais as infecções virais predispõem a rinossinusite são sinergia microbiana, aumento da adesão bacteriana às células epiteliais e disfunção da defesa do sistema imune local (51). Os sintomas mais freqüentemente observados são: obstrução nasal e congestão facial, rinorréia, dor ou pressão facial, hiposmia ou anosmia, dentre outros (46-49).

Na população geral, a rinossinusite viral é pelo menos 20 vezes mais frequente do que a infecção bacteriana <sup>(52)</sup>. Segundo alguns autores apenas 0,5% a 5% delas evoluem para rinossinusites bacterianas agudas <sup>(46, 53)</sup>.

Subauste *et al* descrevem que as causas mais comuns das rinossinusites agudas em indivíduos imunocompetentes são por rinovírus, influenza vírus, adenovírus e parainfluenza vírus <sup>(52)</sup>.

Atualmente, são considerados causadores de doença respiratória aguda os seguintes vírus respiratórios: vírus sincicial respiratório (VSR), vírus parainfluenza tipo 1, 2, 3 e 4 (PIV1, PIV2, PIV3 e PIV4), vírus influenza A e B ( Flu A e Flu B), adenovírus (ADV), coronavírus OC43, 229E, NL63 e HKU1, rinovírus humanos, alguns subtipos de enterovírus (enterovírus 68), e, mais recentemente, metapneumovírus humano (hMPV), bocavírus humano (HBoV), vírus influenza C e os poliomavírus WU e KI. Contudo, alguns vírus apresentam elevadas taxas de codetecção, como é o caso dos rinovírus, enterovírus, bocavírus humano, coronavírus e dos poliomavírus, sendo questionada sua importância na etiologia dessas infecções (54).

Já as manifestações bacterianas contam em sua fase aguda com bactérias aeróbicas como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* e *Streptococcus pyogenes* <sup>(51, 55)</sup> e com anaeróbios como *Peptostreptococcus*, *Prevotella* e *Fusobacterium* spp <sup>(56)</sup>. Em sua fase crônica, existe predomínio dos anaeróbios, principalmente *Prevotella*, *Fusobacterium* e *Peptostreptococcus* spp. Porém, bactérias aeróbias como *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* e *Haemophilus* spp também podem ser encontrados <sup>(51)</sup>.

Para a detecção de antígenos virais nas amostras respiratórias, várias técnicas têm sido utilizadas. Ensaios imunoenzimáticos (EIA) ou por técnicas de imunofluorescência (IFA) têm sido amplamente utilizadas desde a década de 70 no diagnóstico etiológico das infecções respiratórias agudas. A melhora das técnicas empregadas, com desenvolvimento de placas com capacidade para detecção de múltiplos vírus (multiplex) aumentou a sensibilidade do método e permitiu o diagnóstico de coinfecções. Apesar dos avanços, a sensibilidade para alguns tipos virais como os adenovírus e o metapneumovírus humano é baixa, sendo frequentes os casos de falso-negativos (57).

Mais recentemente a elaboração e aprimoramento das técnicas de biologia molecular geraram um importante avanço no diagnóstico das doenças virais. A amplificação do ácido nucléico através da reação em cadeia pela polimerase (PCR), pode ser realizada quando necessário após a transcrição reversa (RT-PCR), permitindo o diagnóstico de quase todas as infecções causadas tanto por vírus RNA como DNA, de forma rápida e altamente sensível e específica (58).

O PCR e suas variações, com sistemas automatizados de extração, amplificação e detecção de ácido nucleico, plataformas para múltiplos agentes (multiplex), ensaios

quantitativos ou semiquantitativos, transformou-se em uma importante ferramenta diagnóstica. Associado ao surgimento de equipamentos cada vez menores e mais portáteis e a protocolos de fácil execução, o diagnóstico molecular vem se tornando uma opção custo-efetiva e sendo preferida aos demais métodos <sup>(59)</sup>.

Os agentes mais envolvidos nas co-detecções são os rinovírus, coronavírus e o bocavírus humano. O grau de participação de cada vírus nos episódios de codetecção ainda não está bem elucidado. Em média, os diversos vírus respiratórios são excretados até uma semana após o início da infecção. No entanto, já foi demonstrado que lactentes e pacientes imunossuprimidos podem apresentar um período mais prolongado de excreção, chegando a duas ou três semanas, ou até meses em algumas situações (60).

Alguns vírus como o adenovírus e o bocavírus humano podem permanecer por longos períodos na nasofaringe após a primoinfecção, tornando difícil a diferenciação dos quadros agudos e remanescentes <sup>(61)</sup>.

Quanto à metodologia de identificação dos agentes microbiológicos que ocasionam a infecção viral, Pitkaranta *et al*, 1997 realizaram um estudo através do acompanhamento de 20 casos de adultos com rinossinusite adquirida da comunidade, sendo que 18 pacientes apresentavam sinais clínicos de rinossinusite, com imagem de RX dos seios da face alterada. No diagnóstico desses pacientes foi utilizado o RT-PCR, por ser uma técnica mais sensível do que o isolamento em cultura celular <sup>(62)</sup>.

Existem poucos relatos sobre os aspectos virais ou mesmo bacterianos das rinossinusites em pacientes com ICV. Há relatos do predomínio de *Haemophilus influenzae* nas amostras nasais colhidas de pacientes com imunodeficiência primária, nos estudos comparativos entre pré e pós tratamento pela reposição de imunoglobulina (63). Em 2007, um estudo com 17 pacientes obteve confirmação por RT-PCR da presença de rinovírus em cinco pacientes, de enterovírus em três e vírus sincicial respiratório em um dos pacientes (64). Outros estudos demonstraram que pacientes com hipogamaglobulinemia primária possuem 4,4 vezes mais episódios de infecções respiratórias agudas, que o número de infecções respiratórias virais também é significativamente aumentado, que a incidência de complicações, incluindo internações e necessidade de uso de antibióticos, é aumentada, que a persistência do vírus é prolongada e que a duração e intensidade dos sintomas é maior do que em indivíduos imunocompetentes (65, 66). Em complementação à identificação dos agentes, sejam virais ou bacterianos das rinossinusites, sabe-se que viroses respiratórias causadas por

rinovírus, vírus sincicial respiratório e influenza estimulam o epitélio respiratório a produzir citocinas, que destroem os cílios da superfície do epitélio (ciliocitofolia), prejudicando a limpeza mucociliar; porém, não se encontra na literatura mensuração ou quantificação destas citocinas em conjunto com o estudo da identificação dos agentes virais ou mesmo bacterianos da rinossinusite, inclusive nada se encontra quando se estudam as imunodeficiências primárias.

Esclarecendo um pouco mais sobre citocinas, sabe-se que várias interações entre as células do sistema imunológico são controladas por estes tipos de mediadores solúveis. As citocinas formam um grupo de proteínas de sinalização intercelular que regulam não só respostas inflamatórias e imunológicas locais e sistêmicas, como também a cicatrização de feridas, a hematopoese e muitos outros processos biológicos. A caracterização de um subtipo de resposta pode ser observada com a presença de determinadas citocinas.

A compreensão do papel das diferentes citocinas na resposta imune protetora e na resistência ou suscetibilidade do paciente aos agentes virais permite obter um parâmetro de comportamento destas citocinas, levando a um melhor diagnóstico, seja ele mais preciso ou mesmo mais direcionado ao correto tratamento a ser utilizado.

Nesse contexto, onde o papel e a importância da infecção viral na patogenia das rinossinusites ainda vem sendo esclarecida, há poucos relatos na literatura sobre estudo dos agentes virais das rinossinusites em pacientes com ICV (64-66). E não há estudos que avaliem de uma maneira global (identificação viral, quantificação de citocinas e quimiocinas e estudo da expressão gênica de genes relacionados a imunidade inata e adaptativa antiviral) em pacientes com ICV. Esse estudo visa gerar uma melhor compreensão da patogenia em questão para se estabelecer e delinear peculiaridades dos mecanismos regulatórios e da geração da resposta imunológica nestes pacientes imunodeficientes.

#### 1.1 Vírus respiratórios

#### 1.1.1 Vírus Sincicial Respiratório

O VSR pertence à família *Paramyxoviridae*, gênero *Pneumovirus*. É um vírus envelopado, com nucleocapsideo helicoidal, RNA fita simples de polaridade negativa, com diâmetro variando entre 150 a 300nm. O RNA viral é organizado em 10 genes que traduzem 11 proteínas: NS1 e NS2: não estruturais; N: nucleocapsideo; P: fosfoproteína (complexo polimerase); M: matriz; SH: glicoproteína hidrofóbica de superfície; G: adesão; F: fusão (membrana plasmática e formação sincício); M2-1 e M2-2: fatores de transcrição e regulação; L: nucleoproteína. As proteínas de superfície G e F são de especial importância clínica com implicações diagnósticas e terapêuticas (67).

O VSR apresenta dois subgrupos, A e B, sendo que são distintos em relação às propriedades antigênicas por algumas proteínas de superfície G, F, N e P. A proteína G (adesão) é a que apresenta maior variabilidade com 53% de homologia entre os grupos A e B. Já a glicoproteína F (fusão) é menos variável mantendo a similaridade antigênica entre os dois subgrupos <sup>(68)</sup>.

A imunidade induzida pela primoinfecção é limitada e pouco efetiva, sendo as reinfecções frequentes. A gravidade da doença geralmente reduz após a terceira infecção em pacientes imunocompetentes, limitando-se a sintomas do trato respiratório superior <sup>(68)</sup>.

A transmissão do VSR é através de contato viral nasal e ocular <sup>(69)</sup>.

A sazonalidade do vírus sincicial respiratório é bem marcada nos climas temperados, sendo que a estação de VSR geralmente ocorre nos meses de outono e inverno, estando praticamente ausente nos meses de verão (70).

Estudos de epidemiologia molecular demonstraram que durante uma mesma estação de VSR há circulação de cepas distintas de ambos os grupos A e B e dentro de cada grupo. A constante variabilidade entre as cepas proporcionaria uma vantagem seletiva ao vírus, permitindo a manutenção de epidemias anuais por uma população sempre susceptível <sup>(71)</sup>.

No Brasil há relatos referentes à sazonalidade das infecções pelo VSR em vários estados, evidenciando diferenças no padrão de circulação do vírus nas principais regiões do país. Dados oficiais do sistema de vigilância epidemiológica para o vírus influenza

(Sivep-Gripe), com coleta de informação em unidades sentinela em todo o território nacional, demonstram picos de circulação do VSR entre os meses de Março a Junho (72).

#### 1.1.2 Metapneumovírus

O metapneumovirus humano (hMPV) foi descrito em 2001 por van den Hoogen e colaboradores <sup>(73)</sup>.

É um vírus RNA de fita simples, polaridade negativa (-ssRNA), não segmentado, pertencente à família *Paramyxoviridae*, subfamília *Pneumovirinae*, gênero *Metapneumovirus*. Envelopado, com nucleocapsideo helicoidal e diâmetro de 150 a 300 nm, codifica nove proteínas. É subdividido em dois grupos principais, A e B e quatro subgrupos (A1, A2, B1 e B2) (74).

Estruturalmente, apresenta grande semelhança com o VSR incluindo a presença das importantes glicoproteínas de superfície G (adesão) e F (fusão). Difere do mesmo por não apresentar as duas proteínas não estruturais (NS1 e NS2) (74).

Sua circulação nos países de clima temperado ocorre durante os meses de inverno e início de primavera, porém em regiões tropicais pode apresentar picos durante a primavera e início do verão. Frequentemente tem sido observada maior incidência nos meses de pico do VSR ou subsequentes aos meses de maior circulação do vírus sincicial respiratório humano <sup>(75)</sup>.

#### 1.1.3 Vírus Parainfluenza

O vírus parainfluenza humano (PIV) pertence à família *Paramyxoviridae*, gêneros *Respirovirus* (PIV1 e PIV3) e *Rubulavirus* (PIV2 e PIV4), com quatro tipos (PIV1-PIV4) sendo os tipos 1, 2 e 3 de maior relevância clínica. É um vírus composto por RNA de fita simples, de polaridade negativa (-ssRNA), não segmentado, com diâmetro médio de 150 a 300nm. Vírus envelopado, apresenta em sua superfície duas proteínas: HN (atividade hemaglutinação e neuroaminidase) e F (fusão) (76).

É endêmico ao longo do ano, com maior circulação na primavera (77).

O quadro clínico mais frequente é a laringotraqueobronquite, ou crupe, porém causa também bronquiolite, pneumonia e infecção do trato respiratório superior <sup>(75)</sup>.

#### 1.1.4 Vírus Influenza

O vírus influenza pertence à família *Orthomyxoviridae*, e apresenta três tipos, A, B e C. São vírus envelopados, com diâmetro entre 80 a 120nm, compostos de RNA de fita simples, polaridade negativa (-ssRNA) e segmentado em sete (influenza C) ou oito (influenza A e B) partes que decodificam de nove a onze proteínas virais. O influenza A pode ser sub-classificado, baseado nas diferenças antigênicas de duas principais proteínas de superfície, a hemaglutinina (HA) e a neuroaminidase (NA). Atualmente são descritos dezoito tipos de HA e onze de NA, no entanto, nos seres humanos são mais frequentemente isolados três tipos de HA (H1, H2 e H3) e dois de NA (N1 e N2) (78, 79).

As cepas de influenza são nomeadas de acordo com o tipo, local de isolamento, número da cepa, ano de isolamento, e subtipo, como exemplo: A/Beijing/32/92/(H3N2). Na superfície, o vírus da influenza expressa algumas glicoproteínas importantes, como a hemaglutinina que é responsável pela adsorção e penetração do vírus, a neuroaminidase, que atua na liberação viral e disseminação para o trato respiratório e M2, presente apenas no influenza A, que regula a montagem viral <sup>(78)</sup>.

O vírus influenza apresenta distribuição mundial, sendo as principais cepas circulantes subtipos de influenza A H1N1 e H3N2 e influenza B. Sua maior circulação ocorre durante os meses de inverno em climas temperados, causando surtos epidêmicos anuais. Alterações antigênicas menores do tipo "drift", com mutações pontuais no segmento genético que codifica HA e NA causam variações antigênicas responsáveis por surtos epidêmicos sazonais que garantem a circulação viral ao longo das décadas. Já mutações antigênicas maiores do tipo "shift" com aquisição de novos segmentos genéticos, inclusive de outras espécies animais, ocorrem mais raramente e estão associadas às pandemias em populações totalmente susceptíveis, fenômeno observado recentemente em 2009, com o vírus H1N1 pandêmico (80).

Uma vez iniciada a estação de influenza a circulação viral geralmente ocorre durante cinco a oito semanas. A transmissão é respiratória de pessoa para pessoa através de tosse ou espirros, mas também por fômites em superfícies contaminadas. Em geral, os surtos comunitários primeiro atingem crianças em idade escolar disseminando para adultos e outros membros da família (81).

A manifestação clínica principal é febre de início súbito com calafrios, tosse não produtiva, cefaléia, adinamia e mialgia difusa, caracterizando quadro gripal típico.

Outros sintomas como congestão e obstrução nasal, coriza, odinofagia, dor abdominal, náuseas e vômitos, diarréia e conjuntivite estão relacionados com influenza (81).

Em Abril de 2009 foi identificada uma cepa emergente de influenza A H1N1 que apresentava rearranjo triplo, composta por RNA de linhagens de vírus que circulavam em humanos, suínos e aves <sup>(82)</sup>. Houve a partir desta data uma transmissão mundial dessa nova cepa pandêmica, cuja circulação inicial ocorreu no México <sup>(83)</sup>.

Estima-se que ao final de 2009, 200 milhões de pessoas haviam sido infectadas pelo novo vírus. Curiosamente a população alvo do influenza pandêmico, A(H1N1)pdm09, não foi a habitualmente acometida pelo influenza sazonal, atingindo adultos jovens entre 30 a 50 anos de idade. No entanto, as hospitalizações ocorreram em maior número nos lactentes, nas gestantes e em indivíduos com comorbidades <sup>(84)</sup>.

Atualmente, segundo informações disponibilizadas pelo Grupo Técnico de Influenza da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (GT Influenza/SVS/MS), em 2016, foram confirmados 5.871 casos de A(H1N1)pdm09 dentre os 35.461 casos suspeitos de síndrome respiratória aguda grave (SRAG) em todas as faixas etárias. Desses casos confirmados, 1.121 evoluíram a óbito <sup>(72)</sup>.

A prevenção pode ser realizada através de vacinas. Existem dois tipos de vacinas atualmente licenciadas, uma vacina trivalente inativada (TIV) e uma vacina intranasal com vírus vivo atenuado (LAIV), esta ainda não disponível no Brasil. A vacina inativada é constituída por dois subtipos de influenza A (H1N1 e H3N2) e um tipo B, que são atualizados anualmente de acordo com estudos de vigilância das cepas circulantes (81,85).

#### 1.1.5 Adenovírus

O adenovírus pertence a família *Adenoviridae*, gênero *Mastadenovirus*. Apresenta sete subgrupos: A – G, com 53 sorotipos distintos que são infectantes para os seres humanos <sup>(86)</sup>. É um vírus composto por DNA de fita dupla, linear, não segmentado, podendo codificar de 30 a 40 genes. Não possui envelope e sua estrutura é formada por um capsídeo icosaédrico, com diâmetro variando entre 65 a 80 nm <sup>(87)</sup>.

São causadores de doença respiratória, gastrointestinal e conjuntivites, sendo os tipos mais frequentes respiratórios: 1, 2, 3, 5, 6 e 7, gastrointestinais: 40 e 41 e oculares:

8, 19 e 37. Surtos de sorotipos respiratórios são mais comuns no inverno e primavera (88)

A faixa etária mais acometida são crianças de até cinco anos de idade e estima-se que até o primeiro ano de vida 33% das crianças já foram infectadas com pelo menos um sorotipo e metade das crianças em idade pré-escolar apresenta anticorpos contra os subtipos entéricos <sup>(88)</sup>.

Os adenovírus são transmitidos por via respiratória, contato, fômites, fecal-oral e água contaminada. O período de incubação é longo, variando de 2 a 15 dias com média de 10 dias. A replicação viral ocorre geralmente no trato respiratório e gastrointestinal e o vírus pode ser excretado nas secreções respiratórias por 5 a 10 dias e nas fezes por semanas ou meses. Alguns estudos recentes apontam para a persistência do adenovírus na forma de infecção latente nos linfócitos das mucosas respiratórias e do trato digestivo, podendo ser reativado em situações clínicas específicas, como nas imunossupressões (89-91).

Uma vez que a via de transmissão é ampla e a excreção é longa, o adenovírus é causador de surtos em unidades fechadas (creches, quartéis) e hospitais. O isolamento respiratório e de contato do paciente internado com adenovírus é de grande importância na prevenção de surtos nosocomiais em especial nas unidades de terapia intensiva e neonatal, onde as infecções podem ser mais graves e letais <sup>(92)</sup>.

#### 1.1.6 Rinovírus

O rinovírus humano (HRV) foi primeiramente descrito na década de 1950 em um esforço para identificar a etiologia do resfriado comum. HRV é a principal causa de infecção do trato respiratório superior, levando a consideráveis perdas econômicas nos termos de visitas médicas e faltas à escola e ao trabalho (93-96). Apesar de ser causa de infecções do trato respiratório superior relativamente benignas, HRVs são ligadas a exacerbações de doença pulmonar crônica, desenvolvimento de asma, bronquiolite em crianças e pneumonia fatal em idosos e adultos imunocomprometidos.

HRVs, membros da família *Picornaviridae* e gênero *Enterovírus*, são vírus de polaridade positiva e fita simples de RNA (ssRNA) com aproximadamente 7.200 pares de bases. O genoma viral consiste de um único gene cuja proteína traduzida é clivada por proteases em 11 proteínas <sup>(97)</sup>. Quatro proteínas, VP1, VP2, VP3 e VP4 formam o

capsídeo viral que envolve o genoma de RNA, enquanto que o restante das proteínas não estruturais estão envolvidas na replicação e montagem do genoma viral. As proteínas VP1, VP2, VP3 representam a diversidade antigénica viral, enquanto VP4 ancora o núcleo do RNA ao capsídeo. Há 60 cópias de cada uma das quatro proteínas do capsídeo, dando ao virion uma estrutura icosaédrica, com um cânion em VP1 que serve como local de ligação aos receptores da superfície celular. Mais de 90% dos sorotipos dos HRV conhecidos, o "grupo principal - major group ", utiliza o receptor da superfície celular ICAM-1 (molécula de adesão intracelular 1 ou CD54), enquanto que o "grupo secundário — minor group" se prende e entra nas células através do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR). Alguns dos principais grupos de HRVs também utilizam sulfato de heparano como um receptor adicional.

Até recentemente, HRVs foram classificados em duas espécies, HRV-A e B, com base em critérios de sequência filogenéticas <sup>(97)</sup>.

O desenvolvimento de técnicas moleculares altamente sensíveis para a identificação do HRV em amostras clínicas levaram à identificação e designação de uma nova espécie, HRV-C, pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus em 2009 <sup>(98)</sup>. Cepas de HRV-C tem uma organização genômica semelhante ao da HRV-A e HRV-B; no entanto, existem várias características distintas que apoiam sua classificação como uma nova espécie <sup>(99, 100)</sup>.

HRVs são transmitidos de pessoa para pessoa através do contato (seja direta ou através de um fômite) ou aerossóis (partículas pequenas ou grandes) (101, 102). A infecção por HRV é eficientemente iniciada por inoculação intranasal e conjuntival, mas não por via oral. Em estudos de infecção natural e experimental, o HRV é regularmente depositada sobre as mãos e introduzidos no ambiente. HRV é detectado em 40% das mãos dos voluntários infectados naturalmente e em 6% dos objetos de suas casas (103).

O rinovírus causa doenças respiratórias em todo o mundo e ao longo do ano. Começando na década de 1960, estudos longitudinais da epidemiologia e de características clínicas da infecção por HRV em climas temperados relataram um pico de incidência no início do outono, com um pico menor na primavera. Mais estudos prospectivos empregando métodos recentes de detecção molecular (RT-PCR) replicaram essas descobertas (104-106). Em geral, HRVs são a causa mais comum de doença respiratória viral durante a primavera, verão e outono.

#### 1.1.7 Coronavírus

Coronavírus é um vírus envelopado, da família *Coronaviridae* e gênero *Coronavirus*, com polaridade positiva, não segmentada e genomas de RNA de fita simples <sup>(107, 108)</sup>. Morfologicamente os coronavírus são esféricos ou pleomórficos com diâmetro médio de 80 – 120 nm.

O primeiro coronavírus humano foi identificado na década de 1960 por Tyrrell e Bynoe <sup>(109, 110)</sup>. O virus foi posteriormente nomeado de coronavírus humano 229E (HCoV-229E) <sup>(107)</sup>.

Os coronavirus afetam um grupo diverso de hospedeiros, e causam uma grande variedade de doenças <sup>(111)</sup>. Em humanos, resultam em complicações do trato respiratório com graus de severidade variados e têm sido associados a gastroenterites. Quatro coronavirus humanos (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 and HCoV-HKU1) são endêmicos na população humana e são principalmente associados com doenças respiratórias leves e auto-limitadas. Outros dois coronavirus humanos, chamados SARS-CoV e MERS-CoV, causam síndromes respiratórias graves com altas taxas de letalidade.

A apresentação clínica desses quatro coronavírus humanos não severos é sintomaticamente indistinguível, geralmente com rinorréia, dor de garganta, tosse e febre (112, 113). A maioria das infecções são associadas a doenças do trato respiratório superior com quadro auto-limitado ou "resfriado comum", mas podem se apresentar com uma evolução de alta morbidade com acometimento do trato respiratório inferior incluindo bronquiolite e pneumonia (114-116), exacerbações de asma (117), exacerbações agudas de doença pulmonar obstrutiva crônica (118) e crupe nos pacientes infectados por HCoV-NL63 (119).

Todas as faixas etárias são acometidas <sup>(112, 113)</sup>, mas representam doença grave nos jovens, idosos e imunocomprometidos <sup>(114, 120, 121)</sup>, frequentemente resultando em hospitalização. Dada a alta prevalência de infecções respiratórias, o coronavirus humano representa uma doença de importância substancial devido às altas implicações nos trabalhadores em decorrência de faltas ao serviço <sup>(122)</sup>.

São relatadas altas taxas de coinfecção com outros vírus respiratórios (112, 113, 120, 123)

Todos os quatro coronavirus humanos são endêmicos em todo o mundo e apresentam uma prevalência aumentada durante os meses de inverno em locais de clima temperado (120, 122).

#### 1.1.8 Bocavírus

Descoberto em 2005 <sup>(124)</sup>, o Bocavírus humano (HBoV) é um DNA virus com capsídeo icosaédrico não envelopado da família *Parvoviridae* e gênero *Bocavirus* <sup>(125)</sup>. Possui quarto tipos: hBoV1, hBoV2, HboV3 e HBoV4 <sup>(126, 127)</sup>.

O genoma linear de fita simples codifica duas formas de proteína não estrutural NS1, uma fosfoproteína nuclear NP1, e duas proteínas capsídicas estruturais VP1 e VP2 (128)

O principal ponto de replicação do HBoV1 parece ser o trato respiratório. HBoV1 também pode ser encontrado no soro, apontando para uma disseminação sistêmica <sup>(129, 130)</sup>. O número de cópias virais do HBoV1 nas fezes é baixo, mas os HBoV 2 – 4 têm sido encontrados predominantemente nas fezes <sup>(126, 127, 131)</sup>.

HBoV1 tem sido detectado por mais de seis meses em amostras de nasofaringe seriadas, mesmo em indivíduos assintomáticos <sup>(132, 133)</sup>. HBoV1 é frequentemente codetectado em amostras com outros vírus.

Mundialmente presente, a prevalência do dNA do HBoV1 em crianças jovens com infecções do trato respiratório é em torno de 10%, em alguns estudos é maior que 30% <sup>(134)</sup>. Ocorre em todo o ano, mas é mais comum no inverno. HBoV1 é mais frequentemente detectado em crianças jovens (menos de dois anos de idade) do que em crianças mais velhas e adultos.

Estudos epidemiológicos têm documentado que a maioria das crianças tem anticorpos IgG contra HBoV1 na idade escolar (135, 136).

As manifestações clínicas variam de leves infecções respiratórias do trato superior à pneumonias severas. A patogenicidade do HBoV1 tem sido questionada pela documentação de outros vírus na mesma amostra em mais de 90% dos casos e pela detecção do bocavírus em indivíduos assintomáticos em mais de 40% (134).

Infecções por HBoV1 não podem ser clinicamente diferenciadas de outras infecções respiratórias virais. HBoV pode ser detectado pela técnica do PCR <sup>(129, 137, 138)</sup>. Também é possível avaliar anticorpos IgM e IgG específicos para bocavírus <sup>(135, 137-140)</sup>.

O tratamento é de suporte e sintomático, direcionado aos sintomas clínicos (141).

- Identificar os agentes virais da rinossinusite nos pacientes com ICV e nos indivíduos normais com quadro de rinossinusite aguda (ou agudização de rinossinusite crônica) em um contexto prospectivo de modo a avaliar as variações sazonais;
- 2) Definir com mais clareza quais citocinas e quimiocinas estão presentes e qual é o seu comportamento (quantidade ou episódio em que aparecem) nos diferentes grupos a serem estudados (controle e pacientes com ICV);
- 3) Definir por PCR quantitativo em tempo real a expressão de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa ativados nas infecções virais nos dois grupos de indivíduos.

## 3. Métodos

#### 3.1 Casuística

#### 3.1.1 Pacientes

Na elaboração deste trabalho foram estudados pacientes com ICV com idade entre 18 e 60 anos, regularmente matriculados no Ambulatório de Manifestações Dermatológicas das Imunodeficiências Primárias (ADEE-3003) do Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Esses pacientes são regularmente acompanhados, fazem reposição regular de imunoglobulina humana intravenosa (IgIV) a cada 3 - 4 semanas na dose de 400 – 600 mg/kg/dose e apresentam níveis de IgG sérico maior que 600 mg/dl.

Critério para inclusão no estudo: ser portador de ICV e estar em vigência de rinossinusite aguda ou agudização da rinossinusite crônica de provável etiologia viral (com no máximo cinco dias de sinais e sintomas), segundo os critérios de diagnóstico estabelecidos por SHAPIRO *et al.* (142).

Ao ingressarem no estudo, os pacientes ou responsáveis foram esclarecidos verbalmente quanto à natureza e objetivo da pesquisa, autorizando por escrito a realização dos ensaios laboratoriais, ao firmarem um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Nele constaram as informações sobre a pesquisa e a ausência de benefício terapêutico imediato, ficando os pacientes livres para abandonar o referido estudo, no momento que desejassem, sem prejuízo do atendimento médico a eles prestado. O presente protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da USP com o nº 1185/06 (anexo).

#### 3.1.2 Indivíduos-controle

Foram selecionados indivíduos adultos imunocompetentes, sem evidência clínica ou laboratorial de outra doença que compareceram para atendimento no LIM-56 do HCFMUSP com quadro de rinossinusite aguda ou agudização de rinossinusite crônica de provável etiologia viral e no máximo cinco dias de sinais e sintomas.

#### 3.2 Coleta das amostras

Após preenchidos os critérios de inclusão para o presente estudo, o TCLE foi assinado pelo paciente ou seu representante legal.

Em seguida, foi coletada amostra de lavado nasofaríngeo (LNF) com a instilação de 3 (três) a 5 (cinco) mililitros (mL) de soro fisiológico 0,9%, através de uma seringa sem agulha, em cada narina do paciente sentado com a cabeça inclinada para trás. O paciente prendeu a respiração por 10 segundos e posteriormente inclinou sua cabeça para frente (movimento de flexão), assoando o nariz em copo de coleta de material biológico. Em seguida, o processo foi repetido na outra narina (143).

O material colhido, acondicionado em tubo estéril e mantido sob refrigeração, foi imediatamente encaminhado ao LIM-52 (Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo) para análise viral e para o Laboratório de Investigação Médica em Dermatologia e Imunodeficiências (LIM-56) para a avaliação da expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral por rt-PCR e para a quantificação de citocinas e quimiocinas por CBA.

Foram colhidas amostras dos pacientes com ICV e dos indivíduos controle quando estes apresentavam sinais e sintomas de rinossinusite aguda ou rinossinusite crônica agudizada por vírus e com início em até 5 dias. Também foram coletadas amostras quando esses pacientes estavam assintomáticos por um período mínimo de seis meses e demonstrando resolução completa do quadro.

### 3.3 Técnicas para diagnóstico dos vírus respiratórios

Chegando ao LIM-52, uma parte das amostras foi utilizada para detecção direta dos vírus com anticorpos monoclonais (imunofluorescência direta - IFD) e o restante foi estocado em freezer a -80°C para posterior estudo por reação em cadeia da polimerase (PCR).

## 3.3.1 Detecção direta com anticorpos monoclonais

Os vírus respiratórios que foram pesquisados por imunofluorescência direta foram os seguintes: vírus sincicial respiratório (VSR), adenovírus (ADV), influenza A

e B (Flu A e B), e parainfluenza 1, 2 e 3 (PIV1, 2 e 3). As secreções respiratórias foram centrifugadas e lavadas por duas vezes com Solução Salina Tamponada (PBS) para a aquisição de suspensão de células epiteliais do trato respiratório. Em seguida lâminas foram preparadas, com uma gota para cada monoclonal, fixadas com acetona por um período de 10 minutos e secas em temperatura ambiente.

Foi utilizado o kit comercial DAKO e adicionado o monoclonal específico sobre cada gota. As lâminas foram incubadas a 37°C por 15 minutos, lavadas com PBS por 5 minutos, secas e montadas com glicerina. A leitura foi realizada em microscópio de imunofluorescência.

#### 3.3.2 Extração de RNA viral

A extração do RNA foi feita com o kit de extração de RNA Qiagen, de acordo com as instruções do fabricante.

### 3.3.3 PCR (Polimerase Chain Reaction) na análise de diferentes vírus

Duas plataformas de PCR foram utilizadas: 1) para o diagnóstico de influenza A H1N1 foi realizado PCR em tempo real de acordo com o protocolo atualizado do *Center for Disease Control*, Atlanta, USA, disponível no site www.cdc.gov; 2) para diagnóstico dos demais vírus respiratórios foi realizado PCR multiplex com o kit Seeplex® RV 15 ACE Detection (Seegene, Seoul, Korea). Com esta plataforma, 15 vírus respiratórios podem ser identificados em eletroforese em gel de agarose, por comparação com o tamanho do fragmento de referência específico fornecido pelo fabricante. O kit permite a identificação dos seguintes vírus respiratórios: Adenovirus (ADV), metapneumovírus humano (hMPV), coronavírus (HCoV) 229E/NL63, HCoV OC43/HKU1, parainfluenza (PIV) 1, 2, 3 e 4, influenza A e B, virus sincicial respiratório (VSR) A e B, rinovírus (HRV) e bocavirus 1, 2, 3 e 4. A extração de RNA e transcrição reversa foram feitas com kits comerciais e a amplificação do cDNA foi feita em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA). A revelação do gel foi feita por transiluminação UV e armazenado em equipamento AlphaImager ® CE System, (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA).

## 3.4 Preparo das amostras e separação de células no LIM-56

As amostras recebidas no LIM-56 foram centrifugadas a 1.800 x G por 10 minutos para a aquisição do botão celular ao qual foi adicionado 100 µl de RNA *later* para melhor conservação do RNA. Tanto o botão celular quanto o sobrenadante foram congelados e conservados no *freezer* a -80°C para posterior realização da avaliação da expressão gênica por rt-PCR e para a quantificação de citocinas e quimiocinas por CBA.

## 3.5 Avaliação da síntese de citocinas e quimiocinas

A determinação das quimiocinas e citocinas foi realizada por citometria de fluxo, utilizando o Kit *Cytometric Bead Array* (CBA, BD Pharmingen). Foram dosadas as quimiocinas IL-8 (CXCL8), RANTES (CCL5), MIG (CXCL9), IP-10 (CXCL10) e MCP-1 (CCL2) e as citocinas do kit Th1/Th2/Th17 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFNγ), além das citocinas IL-12/IL-23p40, IFNα (por CBA flex) e de TNF, IL-10 e IL-1β (por CBA flex de alta sensibilidade) de acordo com as instruções do fabricante. A aquisição das amostras foi realizada no citômetro de fluxo (LSR Fortessa - BD Biosciences) e os resultados foram gerados em formato gráfico e tabular utilizando o BD FCAP array Software. A sensibilidade do teste para as quimiocinas foi de: CXCL8 (0,2 pg/ml), CCL5 (1,0 pg/ml), CXCL9 (2,5 pg/ml), CCL2 (2,7 pg/ml) e CXCL10 (2,8 pg/ml). A sensibilidade para a detecção das citocinas foram de: IL-1β alta sensibilidade (0,048 pg/ml), IL-2 (2,6 pg/ml), IL-4 (4,9 pg/ml), IL-6 (2,4 pg/ml), IL-10 alta sensibilidade (0,013 pg/ml), IL-12/IL-23p40 (7,9 pg/ml), IL-17A (18,9 pg/ml), TNF alta sensibilidade (0,06 pg/ml), IFNα (1,5 pg/ml) e IFNγ (3,7 pg/ml).

# 3.6 Estudo da expressão gênica relacionada à imunidade inata e adaptativa antiviral (Quantificação por PCR em tempo real)

A PCR em tempo real é uma técnica importante para o estudo e detecção da expressão gênica de moléculas relacionadas aos processos biológicos.

Neste estudo, utilizamos a técnica de PCR em tempo real quantitativa, demonstrando a expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa ativados nas infecções virais.

De maneira a facilitar o estudo, utilizamos o "PCR array", método que combina a técnica de PCR em tempo real e seu melhor desempenho, com a capacidade de detecção de múltipla expressão gênica de um *microarray*, de maneira simultânea. O emprego do "PCR Array" possibilita uma quantificação simultânea de mais de um produto gênico, seja ele raro ou abundante, desde que estejam presentes em uma mesma amostra, sendo possível a obtenção de resultados abordando uma maior e mais ampla faixa de estudo.

## 3.6.1 Constituição do "PCR Array" e vantagens da sua utilização

O "PCR Array" consiste em um arranjo (painel) projetado em uma pequena placa, para leitura em equipamento de PCR em tempo real. É uma forma muito confiável e sensível de se estudar processos biológicos, vias metabólicas, vias de transdução de sinais e doenças. Atualmente é utilizado por muitos pesquisadores no estudo de câncer, distúrbios ou avaliação do sistema imunológico, estudo de célulastronco, dentre outras plataformas de estudo já disponíveis.

A solicitação desse tipo de ensaio prende-se ao fato de permitir o estudo de mais de uma molécula simultaneamente, eliminando muitos passos de validação ou padronização de técnicas (pois já conta com controles positivos e também com curva padrão), comparado com uma reação de PCR em tempo real normal, pois é personalizado e direcionado para um determinado grupo de moléculas.

O "PCR Array" tem portanto, especificidade, reprodutibilidade e precisão no estudo da expressão gênica em uma mesma placa com 96 ou 384 poços. Cada poço do "PCR Array" representa a expressão de um gene relatado seja no estudo de vias metabólicas, de moléculas a serem analisadas ou da doença em questão. Também encontramos na placa os controles positivos, os controles "housekeeping" e controles da reação rt-PCR, já padronizados e validados.

No estudo de imunodeficiências sabe-se que é muito importante se utilizar de metodologias que trabalhem com alta sensibilidade, já que os pacientes possuem células em baixa quantidade. Juntamente com esta questão soma-se a área da qual o material é retirado, que por muitas vezes conta com baixo número de cópias de material genético do que necessita ser quantificado e mensurado. Utilizamos a metodologia de "PCR Array", pois ela analisa várias moléculas simultaneamente, já possui controles positivos

e curva padrão padronizadas e trabalha com quantidades possíveis de serem obtidas nas amostras colhidas dos pacientes em estudo, possibilitando a avaliação das moléculas presentes na região estudada relacionadas aos mecanismos fisiopatológicos possivelmente associados aos distúrbios encontrados na doença e contribuindo assim para melhor entendimento da ICV e de seu comportamento. A sensibilidade alcançada por este método garante rendimentos bem superiores a 90 %, muitas vezes não obtidos por outras técnicas, somados ainda à intensiva padronização que deve ser realizada, quando nos utilizamos de outras técnicas aqui não mencionadas. Em decorrência da previsível parcimônia de células obtidas na coleta de secreção nasal, utilizamos um passo de amplificação que utiliza iniciadores relacionados aos genes em questão, que serão estudados no projeto. Dessa forma, com quantidades acima de 2 ng de material genético se consegue sucesso na análise.

Outro ponto importante no qual é necessário se preocupar é quanto à precisão de um método. A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. Os resultados de análises já realizadas com "PCR Array" demonstram eficiência na amplificação de 99% com intervalo de confiança entre 90%-110%:

Dentro do ítem precisão encontra-se um ponto muito importante a ser considerado, a reprodutibilidade. Um coeficiente de correlação maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal para a linha de regressão. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o INMETRO recomenda um valor acima de 0,90. Em um estudo de diferentes pesquisadores foi comprovado que o "PCR Array" atingiu valores de coeficiente de correlação (RT²) maior que 0,999.

# 3.6.2 Estudo dos genes relacionados à imunidade inata e adaptativa ativados nas infecções virais por "PCR Array"

Para a análise da expressão relativa dos diferentes genes ativados nas infecções virais citadas, utilizamos a plataforma comercial denominada "antiviral immunity" (PAHS-122, Qiagen Corporation, Ltda) por conter 84 genes diferentes relacionados tanto com a resposta antiviral inata quanto a resposta adaptativa. Cada plataforma contém também 5 genes housekeeping (controles endógenos), 1 controle de contaminação de DNA genômico (HGDC), 3 controles de atividade da transcrição

reversa (RTC) e 3 controles positivos de amplificação PCR (PPC). A informação detalhada sobre cada gene avaliado nessa plataforma está em anexo (Glossário Gênico), enquanto aqui a seguir são reportados os genes classificados de acordo com a via de sinalização, conforme descrito no manual do fabricante:

Sinalização por receptores semelhantes a Toll:

<u>Receptores e Chaperonas:</u> CTSB, CTSL1, CTSS, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9.

Vias de sinalização subsequentes: CHUK (IκKα), FOS, IκBKβ, IRAK1, IRF3, IRF5, IRF7, JUN, MAP2K1 (MEK1), MAP2K3 (MEK3), MAP3K7 (TAK1), MAPK1 (ERK2), MAPK14 (p38 MAPK), MAPK3 (ERK1), MAPK8 (JNK1), MYD88, NFκB1, NFκBIα (IκBα/MAD3), RELA, RIPK1, SPP1, TBK1, TICAM1 (TRIF), TNF, TRAF3, TRAF6.

Genes responsivos: CCL3 (MIP-1A), CCL5 (RANTES), CD40 (TNFRSF5), CD80, CD86, CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC/IP-9), CXCL9 (MIG), IFNα1, IFNα2, IFNβ, IL-12A, IL-12B, IL-15, IL-1β, IL-6.

Sinalização por receptores semelhantes a NOD:

<u>Receptores e sinalização:</u> AIM2, CARD8, CASP1 (ICE), HSP90AA1, MEFV, NLRP3, NOD2, OAS2, PSTPIP1, PYCARD (TMS1/ASC), PYDC1 (POP1), SUGT1.

*Genes responsivos:* IL-1β, IL-18.

Sinalização por receptores semelhantes a RIG-1:

<u>Receptores e Chaperonas:</u> CYLD, DAK, DDX58 (RIG-I), DHX58 (LGP2), IFIH1 (MDA-5), ISG15 (G1P2), TRIM25.

<u>Vias de sinalização subsequentes:</u> ATG5, AZI2, CASP10 (MCH4), CASP8 (FLICE), CHUK (IκKα), DDX3X, FADD, IκBKβ, IRF3, IRF7, MAP3K1 (MEKK1), MAP3K7 (TAK1), MAPK14 (p38 MAPK), MAPK8 (JNK1), MAVS, NFκB1, NFκBIα, PIN1, RELA, RIPK1, TBK1, TNF, TRADD, TRAF3, TRAF6.

<u>Genes responsivos:</u> CXCL10 (IP-10), IFNα1, IFNα2, IFNβ, IL-12A, IL-12B, IL-8 (CXCL8).

Sinalização e Resposta do Interferon Tipo I.

<u>Vias de sinalização:</u> IFNα1, IFNα2, IFNαR1, IFNβ1, STAT1.

*Genes estimulados por interferon (ISGs):* APOBEC3G, IL-15, ISG15 (G1P2), MX1, TLR3.

Inicialmente, houve a extração de RNA das amostras colhidas dos pacientes e controles, anteriormente estocadas à -80°C, utilizando o *RNAeasy* ® *mini kit* (Qiagen, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. A pureza e quantidade do RNA foram avaliadas por meio de leitura por espectrofotometria (Thermo Scientific Nanodrop, EUA). Posteriormente à extração de RNA, foi realizada a síntese de cDNA e, em sequência, a amplificação do cDNA utilizando o kit RT² *PreAMP cDNA Synthesis Kit* (Qiagen).

## 3.6.3 Padronização da técnica de extração de RNA de células do lavado nasal.

Foi padronizado o número de células do lavado nasal a serem utilizadas nos experimentos de rt-PCR (real time PCR) utilizando o RNeasy Mini Kit (Qiagen) em acordo com as instruções do fabricante. Foram testadas várias concentrações celulares de lavado nasal  $(1x10^5)$  até  $1x10^7$ ). O menor número de células para obter uma amostra consistente de RNA revelou ser 1x10<sup>7</sup>. Este número de células foi utilizado para todos os experimentos. Resumidamente, 1 x 10<sup>7</sup> células foram centrifugadas por cinco minutos a 300 x G. Ao botão de células foi adicionado o tampão RLT na quantidade de 600µL (microlitros). O lisado foi então transferido para um QIAshredder spin column, centrifugado por dois minutos em velocidade máxima, adicionado um volume de álcool 70% ao lisado homogeneizado e misturado por pipetagem. Foram transferidos 700µL da amostra ao RNeasy spin column, centrifugado por 15 segundos a 8000 x G e descartado todo o fluido que passou o filtro. Adicionamos então 350µL do tampão rW1 ao RNeasy spin column, centrifugamos por 15 segundos a 8000 x G e descartamos o fluido que passou pelo filtro. Adicionamos 10µL do DNase I stock solution a 70µL do tampão RDD formando o DNase I incubation mix. O DNase I incubation mix (80µL) foi então adicionado ao RNase spin column diretamente sobre a membrana e deixado para descansar por 15 minutos. Foi adicionado 350µL do tampão rW1 ao RNeasy spin column e centrifugado por 15 segundos a 8000 x G, descartando o fluido. A seguir, adicionamos 500μL do tampão rPE ao *RNeasy spin column*, centrifugamos por 15 segundos a 8000 x G e descartamos o fluido. Adicionamos 500μL do tampão rPE ao *RNeasy spin column*, centrifugamos por 2 minutos a 8000 x G e descartamos o fluido. A coluna do *RNeasy spin column* foi passada para um novo tubo e centrifugada por 1 minuto em velocidade máxima. Colocou-se então o *RNeasy spin column* em um tubo de 1,5 mL, adicionamos 30–50μL de água livre de RNAse e centrifugamos por 1 minuto a 8000 x G.

#### 3.6.4 Síntese de cDNA

Foi adicionado ao RNA o mix de eliminação do DNA genômico, e para cada amostra de RNA utilizamos: 1ng-100ng de RNA, 2µL de tampão GE e água livre de RNase, sendo utilizado um volume total de 10µL. Este mix foi incubado a 42°C por 5 minutos e depois colocado imediatamente no gelo por 1 minuto.

Para a síntese de cDNA foi preparado o mix de transcrição reversa com: 4μL de 5x tampão BC3, 1μL de Controle P2, 1μL de *cDNA Synthesis Enzyme Mix*, 1μL de *RNase Inhibitor* e 3μL de água livre de RNase, sendo utilizado um volume total de 10μL. Foi adicionado 10μL do mix de transcrição reversa em cada tubo contendo 10μL do mix de eliminação de DNA genômico. Foi então incubado a 42°C por 30 minutos. A reação foi interrompida e imediatamente incubada por 5 minutos a 95°C. A reação foi colocada no gelo para realização da pré-amplificação.

## 3.6.5 Pré-amplificação do cDNA

Para a pré-amplificação do cDNA foi utilizado o kit *RT*<sup>2</sup> *PreAMP cDNA Synthesis* (Qiagen) e de acordo com as instruções do fabricante, 12,5µL de *RT*<sup>2</sup> *PreAMP PCR Mastermix* e 7,5µL *RT*<sup>2</sup> *PreAMP Pathway Primer Mix* foram adicionados ao cDNA. A mix foi amplificada através de um ciclo de 10 minutos a 95°C e 12 ciclos de 15 segundos a 95°C e na sequência 2 minutos a 60°C.

2μL do *Side Reaction Reducer* foram adicionados em cada reação préamplificada. Incubamos então a 37°C por 15 minutos, seguido de 95°C por 5 minutos.

Adicionamos 84µL de água livre de RNase. Colocamos então no gelo antes de realizar o PCR em tempo real.

#### 3.6.6 PCR Real Time usando RT<sup>2</sup> Profiler PCR Arrays

Para as reações de PCR em tempo real foi utilizado o RT<sup>2</sup> SYBR Green / ROX qPCR Master Mix (Qiagen), que contém SYBR Green como fluoróforo e ROX como uma referência passiva na análise por PCR em tempo real.

O mix de pré-amplificação contendo cDNA foi em seguida utilizado para amplificação com o *array PAHS122Z* (Qiagen) em acordo com as instruções do fabricante.

Resumidamente, 1350 μl de 2x *RT*<sup>2</sup> *SYBR Green Mastermix*, 102 μl da reação de pré-amplificação e 1248 μl de água livre de RNase, foram misturados e distribuídos nos 96 poços da placa do array (25 μl/poço).

Em seguida essa placa é selada com filme óptico, centrifugada por 1 minuto a 1000 X g em temperatura ambiente para remoção de bolhas, e posteriormente lida em equipamento ABI 7300 (Applied Biosystems), o qual foi programado de acordo com o ciclo a seguir para realização de Quantificação Absoluta.

1 Ciclo	10 Minutos	95°C
40 Ciclos	15 Segundos	95°C
	1 Minuto	60°C

Após a amplificação, o software ABI 7300 SDS (Applied Biosystems) foi utilizado para obter os dados de *cycle threshold* (Ct) para cada gene utilizado na análise comparativa de expressão gênica. Os dados de Ct > 35 foram excluídos da análise.

Os dados de expressão dos genes foram analisados usando o método comparativo de Ct, proposto por *Schmittgen* e *Livak* em 2008 <sup>(144)</sup>. Para normalização dos dados de Ct quanto ao número de células lisadas e a quantidade de mRNA extraido (ΔCt) foi utilizado um valor médio dos genes *housekeeping, ACTβ* (beta-actina), *GAPDH* (*glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase*), HPRT1 (*Hypoxanthine phosphoribosyl transferase 1*) e RPLP0 (*Ribossomal protein, large, P0*), para cada experimento. Os

valores de  $\Delta$ Ct foram normalizados quanto à variabilidade interindividual de acordo com a formula: ( $\Delta$ Ct- $\Delta$ Ct  $_{\text{médio}}$ )/desvio padrão. Os dados de  $\Delta$ Ct assim normalizados foram utilizados para calcular a modulação gênica (do inglês, *Fold change, FC*) entre as células isoladas de indivíduos infectados e não infectados (comparações pareadas,  $2^{-\Delta}$ Ct), ou entre as células isoladas dos indivíduos Controle e ICV quando ambos não estavam com infecção (comparação entre médias,  $2^{-\Delta}$ Ct/ $2^{-\Delta}$ Ct). O teste t (*student*) foi utilizado para avaliar a significância da modulação de expressão gênica entre os grupos analisados. Foi atribuído que o valor de p é significativo quando p for menor ou igual a 0,05 ( $p \le 0,05$ ).

4. Resultados

## 4.1 Identificação dos vírus respiratórios

De abril de 2012 a agosto de 2014, foram realizadas 58 avaliações em 47 indivíduos controle e 45 avaliações em 23 pacientes com imunodeficiência comum variável que apresentavam sinais e sintomas de rinossinusite. Foram excluídas 15 avaliações em 13 indivíduos controles, pois esses apresentavam sinais e sintomas de rinite alérgica (oito avaliações em seis indivíduos) ou mais de cinco dias de quadro clínico, o que sugere quadro bacteriano (sete avaliações em sete indivíduos). Nos pacientes com ICV, 23 avaliações em nove pacientes foram excluídas por apresentarem início ou agudização dos sintomas com duração maior de cinco dias. Todos os pacientes com ICV e indivíduos controle excluídos do estudo por apresentarem sinais e sintomas sugestivos de rinossinusite bacteriana receberam antbióticos e corticóides orais para tratamento.

Foram colhidas 65 amostras de lavado nasal, 43 amostras de 34 indivíduos controles (dez masculinos e 24 femininos) com idades que variaram entre 22 e 59 anos de idade (média 34,3 anos) e 22 amostras de 14 pacientes com ICV (sete masculinos e sete femininos) com idades entre 24 e 60 anos de idade (média de 41,3 anos). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados com relação às idades (p > 0.05). Todas as amostras foram colhidas quando os pacientes apresentavam sinais e sintomas de rinossinusites presumivelmente virais e com no máximo cinco dias do início dos sinais e sintomas. Os pacientes e controles que tiveram mais de uma amostra colhida foram devido ao fato de estarem em momentos infecciosos diferentes. Observamos que 41 indivíduos controles (34 controles selecionados pelo estudo e submetidos a coleta de lavado nasal, por sinais e sintomas de rinossinusite presumivelmente viral; e sete controles não selecionados pelo estudo por já se apresentarem com quadro clínico provavelmente bacteriano) tiveram um total de 50 episódios infecciosos (1,22 rinossinusites/indivíduo controle) e 23 pacientes com ICV (14 pacientes selecionados com quadro sugestivo de rinossinusite viral; e nove não selecionados por estarem com sinais e sintomas de possível rinossinusite bacteriana) apresentaram um total de 45 rinossinusites (1,96 rinossinusites/paciente com ICV). Isso significa que os pacientes com ICV do estudo apresentaram 60,6% mais infecções que o grupo controle (p = 0,0004). Considerando apenas os indivíduos selecionados e que foram submetidos a coleta do lavado nasal, a duração dos sintomas também foi maior nos pacientes com ICV (variação de 5 a 22 dias, média de 10,8 dias) em relação aos indivíduos controle (variação de 3 a 15 dias, média de 6,2 dias). A diferença da duração dos sintomas entre os dois grupos também foi estatisticamente significativa (p < 0,0001). Entre os indivíduos submetidos a coleta do lavado nasal, trinta relataram contato próximo com familiar ou colega de trabalho com infecção respiratória (21 controles e nove pacientes ICV) e 16 possuem o diagnóstico de rinite alérgica (sete indivíduos controle e nove pacientes com ICV). Durante o seguimento desses indivíduos, dois indivíduos controles e nove pacientes com ICV necessitaram de antibióticos para o tratamento de rinossinusite bacteriana, evidenciando que a evolução das rinossinusites virais dos pacientes com ICV tende a ser menos favorável do que nos indivíduos controles (p = 0,0003). Não houve necessidade de internação em nenhum dos indivíduos estudados. Os dados gerais da casuítica estão inseridos na tabela 1.

**Tabela 1** – Dados gerais da casuística

Tabela 1 – Dados gerais da casuística									
Características	Pacientes ICV	Controles							
Número total de avaliações	45	58							
Número total de indivíduos avaliados	23	47							
Número total de avaliações excluídas	23	15							
Número total de indivíduos excluídos	9	13							
Número e motivos de exclu	ısões								
Avaliações excluídas por rinite alérgica	0	8							
Pacientes excluídos por sintomas de rinite alérgica	0	6							
Avaliações excluídas por duração do quadro maior que 5 dias	23	7							
Pacientes excluídos por duração do quadro maior que 5 dias	9	7							
Número total de infecçõ	es								
	23	41							
Número total de indivíduos com infecção	(14 selecionados e	(34 selecionados e							
	9 excluídos)	7 excluídos)							
None total de inference	45	50							
Número total de infecções	(22 selecionadas)	(43 selecionadas)							
Média de rinossinusites por indivíduo*	1,96	1,22							
Lavado Nasal									
Nómero total de calatas de lacada masal	6	55							
Número total de coletas de lavado nasal	22	43							
Número total de indivíduos submetidos a coleta do lavado	14	34							
nasal	(7 homens e 7	(10 homens e 24							
nasai	mulheres)	mulheres)							
Variação de idade entre os indivíduos submetidos a coleta do	24 – 60	22 – 59							
lavado nasal (anos)	24 – 60	22 – 39							
Média de idade (anos)	41,3	34,3							
Tiveram contato próximo com familiar ou pessoas	9	21							
apresentando sintomas semelhantes (número de indivíduos)	9	21							
Rinite alérgica (número de indivíduos)	9	7							
Evolução não favorável com necessidade de antibioticoterapia									
por piora dos sintomas após o décimo dia ou persistência dos	9	2							
mesmos por mais de 14 dias. (número de indivíduos)*									
Duração dos sintomas (dias)*	5 – 22	3 – 15							
Média da duração dos sintomas (dias)*	10,8	6,2							
Necessidade de internação	0	0							

#### Notas:

ICV – Imunodeficiência Comum Variável.

<sup>\*</sup> $p \le 0.05$ .

Como descrito anteriormente, todas as amostras foram divididas em duas alíquotas, sendo uma delas enviada ao LIM-52 e a outra alíquota enviada ao LIM-56.

Em todas as 65 amostras foi realizada a técnica da IFD, sendo positiva em apenas quatro amostras (6,2% de positividade). Das amostras positivas, duas amostras foram de pacientes com ICV e duas amostras de indivíduos controle, sendo que os PCRs no controle 3 e no controle 12 foram negativos para todos os vírus respiratórios, apesar de terem apresentado resultados positivos por IFD para adenovírus e influenza B respectivamente.

A técnica do PCR também foi realizada nas 65 amostras, sendo positiva em 18/65 amostras (27,7%). A positividade foi semelhante entre os grupos estudados, 7/22 amostras (31,8%) em pacientes ICV e 11/43 amostras (25,6%) nos indivíduos controle (p > 0,05). Quando comparamos os dois métodos de detecção de vírus, a técnica do PCR se mostrou bem superior a técnica por IFD (p = 0,001).

Na tabela 2 estão dispostos os dados com as taxas de detecção dos vírus respiratórios pelas técnicas de IFD e PCR nos indivíduos controles e nos pacientes com ICV.

**Tabela 2** – Taxas de detecção dos vírus respiratórios pelas técnicas de IFD e PCR nos indivíduos controles e nos pacientes com ICV

		ADV	Flu A	Flu B	PIV4	HCoV	HRV
Total de indivíduos (ICVs + CTRLs)	48	-	-	-	-	-	-
Total de Amostras Colhidas	65	-	-	-	-	-	-
Total de Amostras Positivas	20	3	4	1	1	5	8
% de Amostras Positivas	30,8	4,6	6,2	1,5	1,5	7,7	12,3
Total de Amostras Positivas por IFD *	4	1	2	1	0	0	0
% de Amostras Positivas por IFD	6,2	1,5	3	1,5	0	0	0
Total de Amostras Positivas por PCR	18	2	4	0	1	5	8
% de Amostras Positivas por PCR	27,7	3	6,2	0	1,5	7,7	12,3
Total de Pacientes ICV	14	-	-	-	1	-	-
Total de Amostras em Pacientes ICV	22	-	-	-	-	-	1
Total de Amostras Positivas em Pacientes ICV **	7	2	2	0	1	1	3
% de Amostras Positivas	31,8	9,1	9,1	0	4,5	4,5	14
Total de Amostras Positivas por IFD	2	0	2	0	0	0	0
% de Amostras Positivas por IFD	9,1	0	9,1	0	0	0	0
Total de Amostras Positivas por PCR	7	2	2	0	1	1	3
% de Amostras Positivas por PCR	31,8	9,1	9,1	0	4,5	4,5	14
Total de Indivíduos Controle	34	-	-	-	-	-	-
Total de Amostras em Indivíduos Controle	43	-	-	-	-	-	-
Total de Amostras Positivas em Indivíduos Controle	13	1	2	1	0	4	4
% de Amostras Positivas	30,2	2,3	4,7	2,3	0	9,3	9,3
Total de Amostras Positivas por IFD *	2	1	0	1	0	0	0
% de Amostras Positivas por IFD	4,7	2,3	0	2,3	0	0	0
Total de Amostras Positivas por PCR	11	0	2	0	0	4	5
% de Amostras Positivas por PCR	25,6	0	4,7	0	0	9,3	11,6

#### Notas:

IFD: Imunofluorescência direta, PCR: *Polimerase Chain Reaction*, ICV: Imunodeficiência Comum Variável, CTRLs: Controles, ADV: Adenovírus, Flu A: Influenza A, Flu B: Influenza B, PIV4: Parainfluenza 4, HCoV: Coronavírus, HRV: Rinovírus.

<sup>\*</sup>Duas amostras positivas por IFD em indivíduos controle foram negativas pela técnica do PCR.

<sup>\*\*</sup>Houve co-detecção viral (ADV + HRV e ADV + HCoV) pela técnica do PCR em dois pacientes com ICV.

As amostras dos indivíduos controle positivas foram: controles 6, 10, 27, 32 e 33 (Rinovírus A/B/C), controles 7 e 28 (Coronavírus OC43), controles 11 e 30 (Coronavírus 229E/NL63) e controles 15 e 26 (Influenza A). As amostras dos pacientes ICV positivas foram: paciente 2 (Influenza A e subsequentemente Rinovírus A/B/C), paciente 8 (Influenza A e posteriormente Adenovírus + Rinovírus A/B/C), paciente 9 (Parainfluenza 4), paciente 10 (Adenovírus + Coronavírus 229E/NL63) e paciente 13 (Rinovírus A/B/C). Os pacientes 2 e 8 tiveram amostras positivas em duas ocasiões distintas. Um dado interessante encontrado foi o resultado positivo para vírus coexistindo simultaneamente no paciente 8 (Adenovírus + Rinovírus) e no paciente 10 (Adenovírus + Coronavírus).

Os dados virológicos clínicos e imunológicos dos pacientes ICV e dos indivíduos controles da casuística estão demonstrados nos quadros 1 e 2.

Quadro 1 - Dados virológicos, clínicos e imunológicos dos pacientes ICV da casuística

		Idade						* IgG	IgA	IgM	DS	
	Sexo	(Anos)	Coleta	Vírus	RA	RSC	IgIV	sérico	sérico	sérico	(Dias)	ATB
			15/01/12	XX				(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	1.0	2.70
ICV	_	2.4	15/04/12	Negativo		a.	a.	0.40	0.2	25	10	Não
1	F	24	06/09/12	Negativo	Não	Sim	Sim	949	0,3	< 25	9	Não
			26/06/13	Negativo							5	Não
			09/11/12	Negativo							7	Não
ICV	F	55	18/04/13	Negativo	Sim	Sim	Sim	930	4	20	8	Não
2			15/05/14	Flu A							12	Sim
			10/09/14	HRV							8	Não
ICV	M	26	20/04/12	Negativo	Não	Sim	Sim	905	0,1	1,6	5	Não
3			27/11/12	Negativo							11	Sim
ICV 4	F	41	02/05/12	Negativo	Não	Sim	Sim	608	0,2	0,1	14	Sim
ICV 5	M	58	10/05/12	Negativo	Sim	Sim	Sim	845	0,8	9,7	18	Sim
ICV		60	21/05/12	Negativo	NT~	G.	a.	1207	1.1	2.4	6	Não
6	M	60	05/09/12	Negativo	Não	Sim	Sim	1207	1,1	34	7	Não
ICV 7	M	41	25/05/12	Negativo	Sim	Sim	Sim	1293	0,1	109,2	22	Sim
ICV			14/08/12	Flu A							5	Não
8	F	46	22/05/13	ADV + HRV	Não	Sim	Sim	1095	4	8	8	Não
ICV 9	F	47	12/03/13	PIV4	Sim	Sim	Sim	1020	< 6	36	16	Sim
ICV 10	M	52	24/04/13	ADV + HCoV	Sim	Sim	Sim	606	2,7	< 12,5	15	Sim
ICV 11	M	33	04/09/13	Negativo	Sim	Sim	Sim	924	< 5	1,4	9	Não
ICV 12	F	36	04/12/13	Negativo	Sim	Sim	Sim	874	< 5	12,5	15	Sim
ICV 13	F	24	17/04/14	HRV	Sim	Não	Sim	693	10,3	51,3	20	Sim
ICV 14	M	35	22/07/14	Negativo	Sim	Sim	Sim	607	0,1	4,2	7	Não

Notas - ICV: Imunodeficiência Comum Variável, F: Feminino, M: Masculino, Flu A: Influenza A, HRV: Rinovírus, ADV: Adenovírus, PIV4: Parainfluenza 4, HCoV: Coronavírus, RA: Rinite alérgica, RSC: Rinossinusite crônica, IgIV: Reposição regular de Imunoglobulina intravenosa, DS: Duração dos sintomas em dias, ATB: Necessidade de antibiótico(s) para a resolução do quadro.

\* Nível de IgG sérico após reposição de IgIV.

Quadro 2 - Dados virológicos, clínicos e imunológicos dos controles da casuística

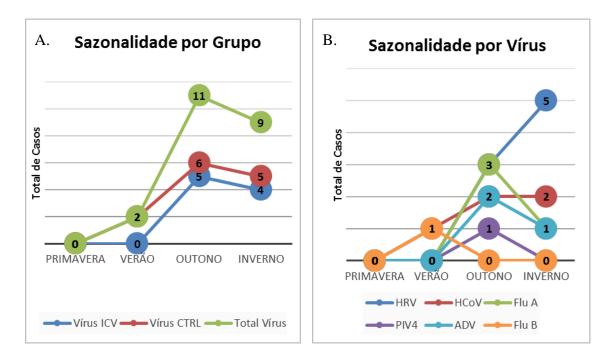
	Sexo	Idade (anos)	Coleta	Vírus	RA	RSC	DS (Dias)	ATB
CTRL 1	F	22	04/05/12	Negativo	Não	Não	4	Não
CTRL 2	F	34	09/05/12	Negativo	Não	Não	7	Não
			10/05/12	Negativo			5	Não
CTRL 3	M	31	08/04/13	ADV	Sim	Não	8	Não
			19/04/13	Negativo			4	Não
CTRL 4	F	23	25/05/12	Negativo	Não	Não	5	Não
CTRL 5	M	25	05/09/12	Negativo	Sim	Não	12	Sim
			12/09/12	HRV		Não	5	Não
CTRL 6	М	54	25/10/12	Negativo	Sim		3	Não
			30/10/13	Negativo			7	Não
CTRL 7	F	30	01/10/12	Negativo	Sim	Não	6	Não
CIKL /	1	30	11/07/13	HCoV	Siiii	1440	5	Não
CTRL 8	F	30	19/10/12	Negativo	Não	Não	4	Não
CIKLO	1	30	14/03/13	Negativo	1140	1140	8	Não
CTRL 9	M	42	14/11/12	Negativo	Não	Não	4	Não
			07/02/13	Negativo		Não	5	Não
CTRL 10	F	32	25/02/13	Negativo	Sim		5	Não
			29/04/13	HRV			9	Não
CTRL 11	F	22	15/02/13	HCoV	Não	Não	6	Não
CTRL 12	M	47	18/02/13	Flu B	Não	Não	6	Não
CTRL 13	F	42	18/02/13	Negativo	Não	Não	7	Não
CTRL 14	M	51	22/02/13	Negativo	Não	Não	6	Não
CTRL 15	F	28	25/02/13	Negativo	Não	Não	7	Não
			16/05/13	Flu A			6	Não
CTRL 16	F	45	05/03/13	Negativo	Não	Não	5	Não
CTRL 17	M	53	05/03/13	Negativo	Não	Não	5	Não
CTRL 18	F	37	05/03/13	Negativo	Não	Não	5	Não
CTRL 19	F	56	06/03/13	Negativo	Não	Não	6	Não
CTRL 20	M	33	06/03/13	Negativo	Não	Não	7	Não
CTRL 21	F	27	07/03/13	Negativo	Não	Não	8	Não
CTRL 22	F	32	07/03/13	Negativo	Não	Não	5	Não
CTRL 23	F	28	08/03/13	Negativo	Não	Não	5	Não
CTRL 24	F	59	25/03/13	Negativo	Nãp	Não	5	Não
CTRL 25	F	22	28/03/13	Negativo	Não	Não	6	Não
CTRL 26	M	49	10/05/13	Flu A	Não	Não	7	Não
CTRL 27	F	22	16/05/13	HRV	Sim	Não	9	Não
CTRL 28	F	31	19/06/13	HCoV	Não Não	Não	9	Não
CTRL 29	F F	28	05/07/13	Negativo HCoV	Não	Não	5	Não
CTRL 30	F F	27 25	15/07/13 23/08/13		Não	Não	7	Não
CTRL 31	F F	30	28/08/13	Negativo HRV	Não	Não	6 5	Não
CTRL 32	F F		28/08/13 08/08/14	HRV	Não	Não		Não
CTRL 33	M	26	13/08/14	Negativo Negativo	Não Sim	Não Não	4 15	Não Sim
		role E. Esminine		Negativo			D. Influenza D	

**Notas** - CTRL: Controle, F: Feminino, M: Masculino, Flu A: Influenza A, Flu B: Influenza B, HRV: Rinovírus, ADV: Adenovírus, HCoV: Coronavírus, RA: Rinite alérgica, RSC: Rinossinusite crônica, DS: Duração dos sintomas em dias, ATB: Necessidade de antibiótico(s) para a resolução do quadro.

O período em que cada uma das infecções aconteceu foram: rinovírus (outono – 3 casos; inverno – 5 casos), coronavírus (verão – 1 caso; outono – 2 casos; inverno – 2 casos), influenza A ( outono – 3 casos; inverno – 1 caso), adenovírus (outono – 2 casos; inverno – 1 caso), influenza B (verão – 1 caso) e parainfluenza 4 (outono – 1 caso).

Não houve nenhuma amostra positiva para os vírus: bocavírus, enterovírus, vírus sincicial respiratório, metapneumovírus e parainfluenza 1, 2 e 3.

A Figura 1 detalha a sazonalidade por vírus e por grupo de estudo.



**Figura 1 – Sazonalidade dos vírus respiratórios detectados.** (A) Sazonalidade por grupo de estudo (Vírus ICV – Quantidade de vírus detectados em pacientes com imunodeficiência comum variável; Vírus CTRL – Quantidade de vírus detectados em indivíduos controle; Total vírus – Quantidade total de vírus detectados). (B) Sazonalidade por vírus (HRV – Rinovírus; HCoV – Coronavírus; Flu A – Influenza A; PIV4 – Parainfluenza 4; ADV – Adenovírus; Flu B – Influenza B).

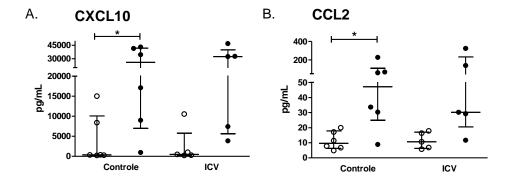
#### 4.2 Avaliação da produção de citocinas e quimiocinas

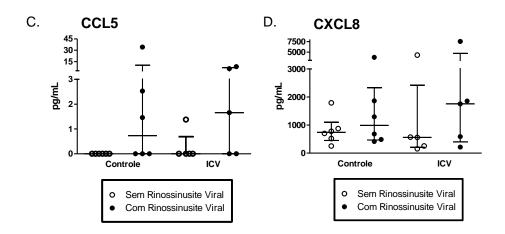
A avaliação da produção de citocinas e quimiocinas no sobrenadante do lavado nasal foi realizada em cinco pacientes com ICV, sendo que um dos pacientes teve duas amostras avaliadas, pois o mesmo apresentou dois quadros de rinossinusite viral distintos, e em seis indivíduos controle. Todos os indivíduos foram avaliados quando apresentaram uma rinossinusite viral aguda ou crônica agudizada e também após um intervalo de pelo menos seis meses após a rinossinusite quando já se encontravam completamente assintomáticos.

As quimiocinas CXCL10 e CCL2 apresentaram aumento estatisticamente significativo (p < 0.05) da produção nos indivíduos controles com rinossinusite viral em relação aos mesmos indivíduos quando esses se encontram assintomáticos e sem vigência de infecção. No grupo ICV foi observado uma tendência de aumento na secreção dessas citocinas durante o quadro de RNS, mas os valores encontrados não foram estatisticamente significativos (p > 0.05).

As quimiocinas CCL5 e CXCL8 não apresentaram diferenças significativas (*p* > 0,05) entre os grupos, mas apresentaram uma tendência de aumento de seus valores durante o quadro infeccioso em relação a ausência de infecção em ambos os grupos (*p* > 0,05). A secreção de CXCL8 apresentou uma diminuição em três indivíduos controles (dois com Flu A e um com HRV) e em um paciente com ICV (com PIV4) em relação aos valores desses mesmos indivíduos quando esses se encontravam assintomáticos e sem o quadro de rinossinusite aguda ou crônica agudizada. Essa diminuição foi contrária ao que foi observado nos demais indivíduos, onde houve aumento da secreção de CXCL8 durante o quadro infeccioso. Observamos um aumento na secreção de CCL5 em três indivíduos controles e em três pacientes com ICV em vigência de RNS viral. Houve detecção de CCL5 em apenas um paciente com ICV na ausência de infecção, mas em valor menor ao detectado na presença de infecção. Em todos os demais indivíduos do estudo, não houve quantificação de CCL5 na ausência de RNS viral. Optamos por desconsiderar os resultados da quimiocina CXCL9 que apresentou valores que sugerem provável erro no ensaio ou na leitura dessa quimiocina em específico.

Resumindo, podemos notar que não houve, na quantificação das quimiocinas, diferenças significativas (p > 0.05) entre os grupos controle e os pacientes com ICV quando comparados em situações semelhantes (Figura 2).

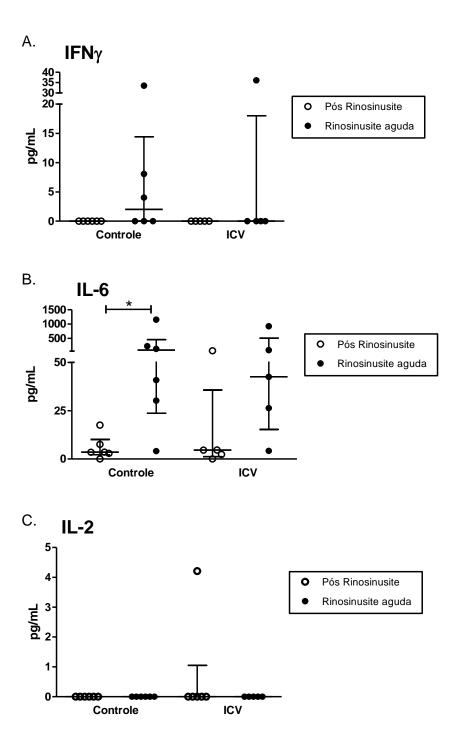




**Fígura 2 – Quantificação das quimiocinas CXCL10, CCL2, CCL5 e CXCL8 no sobrenadante do lavado nasal.** (A) Quantificação da quimiocina CXCL10. (B) Quantificação da quimiocina CCL2. (C) Quantificação da quimiocina CCL5. (D) Quantificação da quimiocina CXCL8. A dosagem foi realizada em seis indivíduos controles com rinossinusite aguda ou crônica agudizada e repetida após um intervalo de no mínimo seis meses quando o mesmo indivíduo já se encontrava completamente assintomático. O mesmo procedimento foi realizado em cinco pacientes com ICV (imunodeficiência comum variável). Os resultados são expressos em medianas e percentis. Observação: \* p < 0,05.

Ocorreu um aumento na secreção de IL-6 nos indivíduos controles durante o quadro de rinossinusite viral (p=0.03). Nos pacientes com ICV houve uma tendência de aumento na secreção da IL-6 durante o quadro infeccioso (p>0.05). Não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e ICV (p>0.05). Foi possível mensurar IFN $\gamma$  em três indivíduos controles (dois com HCoV e um com HRV) e em um paciente com ICV e infecção por Flu A na vigência de rinossinusite aguda. IFN $\gamma$  foi indetectável nos demais indivíduos do estudo. Foi possível quantificar IL-2 em apenas um paciente com ICV quando este se encontrava assintomático. Em todos os demais pacientes com ICV e indivíduos controles a citocina IL-2 foi indetectável.

É possível observar as quantificações das citocinas IFNγ, IL-6 e IL-2 nos grupos controle e ICV e nas situações de ausência e presença de infecção na Figura 3.



**Fígura 3 – Quantificação das citocinas IFN** $\gamma$ , IL-6 e IL-2 no sobrenadante do lavado nasal. (A) Quantificação de interferon gama. (B) Quantificação de interleucina 6. (C) Quantificação de interleucina 2. A dosagem foi realizada em seis indivíduos controles com rinossinusite aguda ou crônica agudizada e repetida após um intervalo de no mínimo seis meses quando o mesmo indivíduo já se encontrava completamente assintomático. O mesmo procedimento foi realizado em cinco pacientes com ICV (imunodeficiência comum variável). Os resultados são expressos em medianas e percentis. Observação: \* p < 0.05.

Na Figura 4, é possível perceber uma tendência de aumento na secreção das citocinas IL-10, TNF e IL-1\beta (por CBA de alta sensibilidade) durante o quadro infeccioso agudo ou crônico agudizado (p > 0.05). Também não observamos diferenças estatísticas entre controles e pacientes com ICV, estando esses grupos em situações semelhantes, com relação às dosagens dessas mesmas citocinas (p > 0.05). Algumas particularidades ocorreram na quantificação da secreção dessas citocinas. Houve redução do nível de TNF em um indivíduo controle com infecção aguda por rinovírus. Em outro indivíduo controle, com RNS por influenza A, o nível de TNF não apresentou variação de seus valores quando comparamos o estado infeccioso e o estado sem infecção. IL-10 foi indetectável em um indivíduo controle com rinossinusite aguda por influenza A e em um paciente com ICV na ausência de infecção, em todos os demais controles e pacientes com ICV houve aumento de seus níveis durante a presença de infecção. Com relação a IL-1β, houve diminuição dos seus níveis em um indivíduo controle com RNS por HRV e em dois pacientes com ICV com RNS (um com parainfluenza 4 e outro com rinovírus). Um paciente com ICV e que apresentou identificação concomitante de ADV e HCoV apresentou níveis de IL-1β muito elevados durante o quadro agudo de rinossinusite viral e quando estava assintomático.

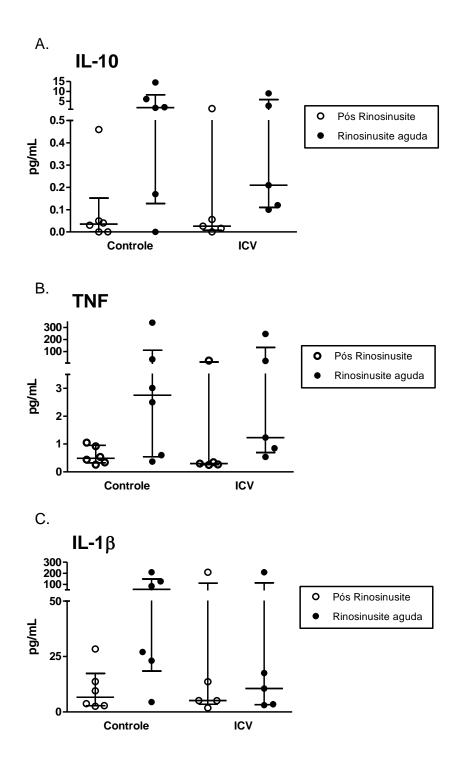


Figura 4 – Quantificação das citocinas IL-10, TNF e IL-1β no sobrenadante do lavado nasal. (A) Quantificação de interleucina 10. (B) Quantificação do fator de necrose tumoral. (C) Quantificação de interleucina 1 beta. A dosagem foi realizada em seis indivíduos controles com rinossinusite aguda ou crônica agudizada e repetida após um intervalo de no mínimo seis meses quando o mesmo indivíduo já se encontrava completamente assintomático. O mesmo procedimento foi realizado em cinco pacientes com ICV (imunodeficiência comum variável). Os resultados são expressos em medianas e percentis.

A dosagem de IFN $\alpha$  é visualizada na Figura 5. Foi possível mensurar IFN $\alpha$  em apenas um indivíduo controle com quadro agudo de rinossinusite viral por coronavírus e em um paciente com ICV e infecção aguda por influenza A. Todos os demais controles e pacientes com ICV apresentaram níveis de IFN $\alpha$  indetectáveis. IL-12/IL-23p40 apresentarou nível detectável em apenas um paciente ICV quando esse se encontrava assintomático e sem quadro agudo de rinossinusite viral.

As concentrações mínimas e máximas, médias e medianas das citocinas e quimiocinas avaliadas nos indivíduos controle e pacientes com ICV nas condições de ausência e presença de rinossinusite viral podem ser visualizadas na tabela 3.

Nos anexos, estão contidas todas as quantificações de citocinas e quimiocinas individualizadas por sujeito do estudo.

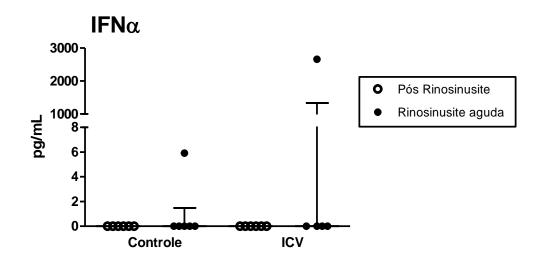


Figura 5 – Quantificação da citocina IFNα no sobrenadante do lavado nasal. A dosagem de interferon alfa foi realizada em seis indivíduos controles com rinossinusite aguda ou crônica agudizada e repetida após um intervalo de no mínimo seis meses quando mesmo o indivíduo já se encontrava completamente assintomático. O mesmo procedimento foi realizado em cinco pacientes com ICV (imunodeficiência comum variável). Os resultados são expressos em medianas e percentis.

**Tabela 3** – Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de controles e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral

	CTRL S/ RNS VARIAÇÃO	MÉDIA	MEDIANA	CTRL C/ RNS VARIAÇÃO	MÉDIA	MEDIANA	ICV S/ RNS VARIAÇÃO	MÉDIA	MEDIANA	ICV C/ RNS VARIAÇÃO	MÉDIA	MEDIANA
CXCL10	225 – 15.014	4.102	342	939 – 43.026	24.337	25.788	237 – 10.552	2.516	474	3.849 – 46.890	24.635	32.348
CCL2	4,8 – 20	11,3	9,6	9 – 228	72	43,2	5,7 – 18	11,5	10,6	11,7 – 324	107	30,25
CCL5	0	0	0	0 – 34	6,35	0,73	0 – 1,4	0,3	0	0 – 8,3	3,34	1,66
CXCL8	252 – 1794	820	740	414 – 3.740	1.413	988	151 – 4274	1162	561	214 – 7.520	2.387	1.756
IFNγ	0	0	0	0 – 33,5	7,6	2	0	0	0	0-36	7,21	0
IL-6	0 – 17,5	5,8	3,5	4,1 – 1.155	264	84,8	0 – 66,75	15,7	4,6	4,24 – 921	216	42,5
IL-1β	2,5 – 28,4	10,1	6,6	4,5 – 209,4	79,25	55,5	1,8 – 209,4	47	5,2	3,1 – 209,4	49	10,6
IL-10	0-0,46	0,12	0,04	0 – 14,5	4	1,85	0 – 1,32	0,3	0	0,1 – 9	2,44	0,21
TNF	0,3 – 1,05	0,6	0,5	0,37 – 339	63,5	2,8	0,25 – 25	5,2	0,3	0,5 – 245,5	54	1,23
IFNα	0	0	0	0-5,9	1,05	0	0	0	0	0 – 2.659	532	0

# **Notas:**

CTRL: Controle, RNS: Rinossinusite, ICV: Imunodeficiência Comum Variável.

# 4.3 Estudo da expressão de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral

Avaliamos a expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nas células do lavado nasal pela técnica de rt-PCR (Reação em cadeia de polimerase em tempo real) após e extração de RNA, síntese do cDNA e a amplificação do cDNA. Utilizamos a plataforma "antiviral immunity" (Qiagen Corporation, Ltda), com código PAHS-122, que analisa 84 genes diferentes.

Quatro pacientes com ICV e quatro indivíduos controles foram avaliados quando apresentavam quadros agudos ou crônicos agudizados de uma rinossinusite viral e também foram analisados após um período de no mínimo seis meses assintomáticos e livres de infecção.

Para a análise, os indivíduos foram pareados (com infecção e sem infecção) e foi feita a normalização dos dados em todas as amostras. Foi calculado o "Fold change" (FC) dos dados para observar quais genes foram "up regulados" e quais genes foram "down regulados". Foi realizada a comparação indivíduo controle com rinossinusite viral versus indivíduo controle sem rinossinusite; paciente com ICV e rinossinusite viral versus paciente com ICV sem rinossinusite; e paciente com ICV sem rinossinusite versus indivíduo controle sem rinossinusite. Os resultados obtidos foram:

# 4.3.1 Indivíduo Controle com Rinossinusite Viral versus Indivíduo Controle sem Rinossinusite Viral

Quatro indivíduos controles, dois com infecção por coronavírus, um com rinovírus e outro com influenza A, todos RNA vírus de cadeia simples (ssRNA) foram comparados de maneira pareada quando estavam sem infecção aguda e assintomáticos.

Os resultados se encontram na tabela 4.

**Tabela 4** – Expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nos indivíduos controles com RNS viral aguda ou crônica agudizada em relação aos indivíduos controles livres de infecção e assintomáticos

Sinalização por	receptor	es semelha	antes a Toll	Sinalização por receptores semelhantes a RIG-1					
	Receptores e Chaperonas								
Gene	FC	DP	t Teste	Gene	FC	DP	t Teste		
CTSS	1,03	0,96	0,561	DDX58 (RIG-1)	1,98	0,94	0,149		
TLR3	1,89	1,72	0,554	TRIM25	0,84	0,44	0,429		
		V	ias de sinaliza	ção subsequentes			1		
FOS	0,83	0,74	0,352	-	-	-	-		
IRF3	1,15	0,54	0,808	IRF3	1,15	0,54	0,808		
JUN	0,84	0,36	0,483	-	-	-	-		
MAPK14	0,98	0,79	0,648	MAPK14	0,98	0,79	0,648		
RELA	1,62	1,32	0,608	RELA	1,62	1,32	0,608		
SPP1	1,5	1,32	0,959	-	-	-	-		
TBK1	0,79	0,22	0,143	TBK1	0,79	0,22	0,143		
TRAF3	1,36	0,92	0,958	TRAF3	1,36	0,92	0,958		
			Genes re	esponsivos			1		
CD40	2,17	1,56	0,332	IL-8 (CXCL8)	0,7	0,89	0,202		
IL-15	1,75	0,53	0,083	-	-	-	-		
Sinalização por	Sinalização por receptores semelhantes a NOD				Sinalização e resposta do Interferon Tipo I				
Receptores e Sinalização			Genes estimulado	s por int	erferon	(ISGs)			
NLRP3	0,65	0,38	0,157	IL-15	1,75	0,53	0,083		
PSTPIP1	1,23	0,2	0,165	MX1	1,7	0,68	0,118		
PYCARD	0,82	0,28	0,331	TLR3	1,89	1,72	0,554		

## **Notas:**

RNS: Rinossinusite, DP: Desvio Padrão.

FC: média dos dados do FC (Fold change) obtida dos quatro indivíduos.

Os genes estão separados quanto à via de sinalização.

Os genes que se encontram na cor vermelha apresentaram um aumento na expressão (FC  $\geq$  1,5) durante os períodos de infecção. A ausência de cor mostra que não houve nem aumento nem diminuição da expressão durante as infecções (1,5 > FC  $\leq$  0,67). A cor verde representa uma diminuição de expressão durante a infecção aguda (FC  $\leq$  0,67).

- (a) Não foi possível avaliar a expressão dos demais genes, pois não houve amplificação suficiente para cálculo do FC.
- (b) Nenhum dos genes expressos nessa comparação apresentou diferença significativa ( $p \le 0.05$ ).

# 4.3.2 Paciente ICV com Rinossinusite Viral versus Paciente ICV sem Rinossinusite Viral

Quatro pacientes com ICV e rinossinusite viral aguda, um por Parainfluenza 4, um por Adenovírus + Coronavírus, e dois por Influenza A, todos eles vírus ssRNA com exceção do adenovírus que é um DNA vírus, foram comparados de maneira pareada quando estavam sem infecção aguda e assintomáticos.

Os resultados se encontram na tabela 5.

# 4.3.3 Paciente ICV sem Rinossinusite Viral versus Indivíduo Controle sem Rinossinusite Viral

Quatro pacientes com ICV foram comparados com quatro indivíduos controles quando ambos se encontravam assintomáticos e sem quadro de rinossinusite viral, utilizando a média do FC de cada grupo.

Os resultados se encontram na tabela 6.

**Tabela 5** - Expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nos pacientes com ICV com RNS viral aguda ou crônica agudizada em relação aos pacientes ICV livres de infecção e assintomáticos

Sinalização por receptores				Sinalização por receptores			
semelha	antes a T	Γoll		semelhantes a RIG-1			
Receptores e Chaperonas							
Gene	FC	DP	t Teste	Gene	FC	DP	t Teste
CTSS	4,43	4,13	0,124	DDX58 (RIG-1)	5,24	6,48	0,266
-	-	-	-	IFIH1 (MDA-5)	5,11	4,57	0,040
-	-	-	-	TRIM 25	3,98	5,25	0,281
		Vias d	le sinalizaçã	o subsequentes			
FOS	3,39	4,18	0,228	-	-	-	-
IRF3	4,23	4,09	0,262	IRF3	4,23	4,09	0,262
IRF5	4,41	5,62	0,416	-	-	-	-
JUN	6,74	7,59	0,156	-	-	-	-
MAPK1	3,36	2,63	0,341	-	-	-	-
MAPK14	4,33	3,2	0,068	MAPK14	4,33	3,2	0,068
RELA	5,11	3,38	0,019	RELA	5,11	3,38	0,019
SPP1	3,73	1,66	0,044	-	-	-	-
TBK1	5,06	6,84	0,350	TBK1	5,06	6,84	0,350
TICAM1 (TRIF)	4,22	2,42	0,044	-	-	-	-
TRAF3	4,61	2,8	0,028	TRAF3	4,61	2,8	0,028
			Genes resp	onsivos			
CXCL10 (IP-10)	3,74	2,43	0,142	CXCL10 (IP-10)	3,74	2,43	0,142
IL-15	5,31	4,66	0,167	CXCL8 (IL-8)	1,67	2,37	0,839
Sinalização por recep	tores sei	melhant	es a NOD	Sinalização e Respo	sta do l	Interfer	on Tipo I
Receptores	Receptores e Sinalização				s por in	terferor	(ISGs)
AIM2	4,53	3,56	0,111	IL-15	5,31	4,66	0,167
NLRP3	6,44	6,89	0,139	MX1	5,94	5,73	0,036
PSTPIP1	4	3,63	0,227	-	-	-	-
PYCARD	5,59	5,41	0,220	-	-	-	-
SUGT1	3,96	4,98	0,482	-	-	-	-

#### Notas

RNS: Rinossinusite, ICV: Imunodeficiência Comum Variável, DP: Desvio Padrão.

FC: média dos dados do FC (Fold change) obtida dos quatro indivíduos.

Os genes estão separados quanto à via de sinalização.

Os genes que se encontram na cor vermelha apresentaram um aumento na expressão ( $FC \ge 1,5$ ) durante os períodos de infecção.

(a) Os genes RELA, SPP1, TICAM1 (TRIF), TRAF3, IFIH1 (MDA-5) e MX1 apresentaram diferença estatísticamente significativa com valores de  $p \le 0.05$ ; (b) Não foi possível avaliar a expressão dos demais genes, pois não houve amplificação suficiente para cálculo do FC; (c) Nenhum gene apresentou diminuição de expressão (FC  $\le 0.67$ ).

**Tabela 6** - Expressão gênica de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral nos pacientes com ICV em relação aos indivíduos controles, ambos livres de infecção e assintomáticos

Sinali	zação por	es	Sinalização por receptores				
se	emelhante	s a Toll		semelhantes a RIG-1			
Receptores e Chaperonas							
Gene	FC	DP	t Teste	Gene	FC	DP	t Teste
CTSS	0,54	0,53	0,21	DDX58 (RIG-1)	0,81	1,34	0,48
-	-	-	-	TRIM25	0,49	0,27	0,33
		Via	s de sinalizaçã	o subsequentes			
FOS	0,45	0,31	0,0004	-	-	-	-
IRF3	0,54	0,50	0,22	IRF3	0,54	0,50	0,22
JUN	0,39	0,24	0,12	-	-	-	-
MAPK14	0,51	0,33	0,01	MAPK14	0,51	0,33	0,01
RELA	0,68	1,02	0,01	RELA	0,68	1,02	0,01
SPP1	0,37	0,21	0,01	-			-
TBK1	0,54	0,69	0,07	TBK1	0,54	0,69	0,07
TRAF3	0,52	0,48	0,09	TRAF3	0,52	0,48	0,09
			Genes resp	onsivos	•	•	
IL-15	0,82	2,47	0,40	CXCL8 (IL-8)	0,71	0,88	0,16
Sinalização por	receptore	s semelha	intes a NOD	Sinalização e Resposta do Interferon Tipo I			
Rece	ptores e S	inalização	0	Genes estimulado	s por in	terferoi	ı (ISGs)
NLRP3	0,42	0,45	0,05	IL-15	0,82	2,47	0,40
PSTPIP1	0,85	0,56	0,38	MX1	0,59	0,3	0,10
PYCARD	0,62	2,52	0,20	-	-	-	-

## **Notas:**

ICV: Imunodeficiência Comum Variável, DP: Desvio Padrão.

FC: média dos dados do FC (Fold change) obtida dos quatro indivíduos.

Os genes estão separados quanto à via de sinalização.

Os genes que se encontram na cor verde apresentaram uma diminuição na expressão (FC  $\leq$  0,67) nos ICVs em relação aos controles. A ausência de cor mostra que não houve nem aumento nem diminuição da expressão durante as infecções (1,5 > FC  $\leq$  0,67).

- (a) Os genes FOS, MAPK14, RELA, SPP1 e NLRP3 apresentaram diferença estatisticamente significativa com valores de  $p \le 0.05$ .
- (b) Não foi possível avaliar a expressão dos demais genes, pois não houve amplificação suficiente para cálculo do FC.
- (c) Nenhum gene apresentou aumento de expressão (FC  $\geq$  1,5).

4.3.4 Comparação entre os valores de FC encontrados nas avaliações ICV com infecção versus ICV sem infecção, Controle com infecção versus Controle sem infecção e ICV sem infecção versus Controle sem infecção.

Sinalização por receptores semelhantes a TOLL:

No presente estudo, observamos que os genes: CTSS, FOS, IRF3, JUN, MAPK14 (p38 MAPK), SPP1, TBK1 e TRAF3 apresentaram comportamento semelhante com aumento de expressão (FC  $\geq$  1,5) nos pacientes com ICV com infecção, alterações na expressão discretas (1,5  $\geq$  FC  $\geq$  0,67) nos indivíduos controles com infecção e uma diminuição na expressão (FC  $\leq$  0,67) nos pacientes ICV sem infecção em relação aos controles sem infecção. Os genes RELA e IL-15 apresentaram um aumento na expressão durante os quadros infecciosos, porém esse aumento foi mais importante nos pacientes ICV do que nos indivíduos controle. Na ausência de rinossinusite aguda ou crônica agudizada de etiologia viral, os genes IL-15 e RELA apresentaram discreta diminuição na expressão (1,5  $\geq$  FC  $\geq$  0,67). A quantificação da expressão dos genes CXCL10, IRF5, MAPK1 e TICAM1 foi realizada apenas na comparação entre os pacientes ICV, evidenciando um aumento de expressão durante a infecção viral aguda.

É possível observar todos esses dados descritos na Figura 6 que faz uma comparação entre os valores de FC da via de sinalização por receptores semelhantes a Toll encontrados nas avaliações entre pacientes com ICV e infecção versus pacientes com ICV sem infecção, entre indivíduos controle com infecção versus indivíduos controle sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus indivíduos controle sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus indivíduos controle sem infecção.

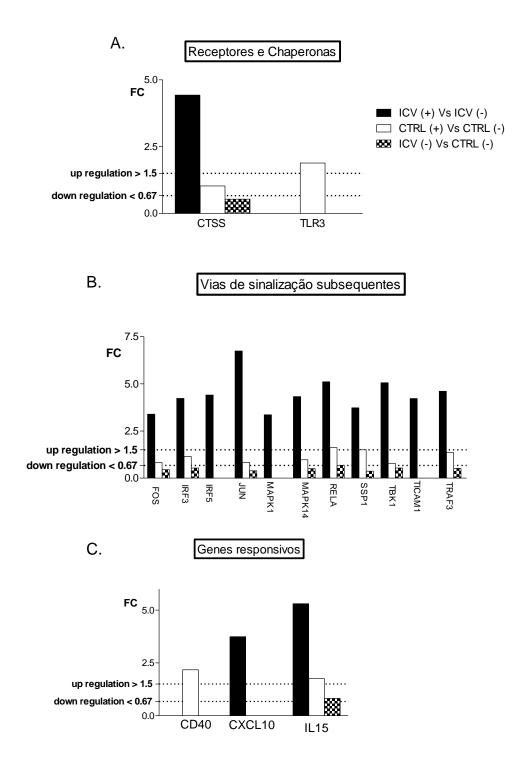


Figura 6 - Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização por receptores semelhantes a Toll. (A) Receptores e chaperonas. (B) Vias de sinalização. (C) Genes responsivos. Foram realizadas comparações entre pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e infecção versus pacientes com ICV sem infecção, entre indivíduos controle (CTRL) com infecção versus CTRLs sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus CTRLs sem infecção ce entre pacientes com ICV sem infecção versus CTRLs sem infecção. Observação - (+): Positivo para rinossinusite viral. (-): Negativo para rinossinusite viral.

Sinalização por receptores semelhantes a NOD:

O gene PYCARD apresentou um aumento na expressão nos pacientes ICV com infecção, discreta diminuição na expressão  $(1,5 \ge FC \ge 0,67)$  nos controles com infecção e uma expressão diminuída nos ICV sem infecção em relação aos controles sem infecção. NLRP3 apresentou um aumento na expressão (FC > 1,5) nos pacientes ICV com infecção e diminuição de expressão (FC < 0,66) nos controles com infecção em relação aos controles sem infecção e diminuição de expressão também nos pacientes com ICV sem RNS quando comparados com controles sem RNS. PSTPIP1 também demonstrou aumento na expressão nos pacientes ICV com infecção, mas não foi observada mudança significativa em sua expressão  $(1,5 \ge FC \ge 0,67)$  na comparação entre os indivíduos controles com e sem infecção e na comparação de pacientes e controles na ausência do quadro viral. Foi possível avaliar AIM2 e SUGT1 apenas na comparação entre os pacientes ICV com e sem infecção e ambos os genes apresentaram um aumento de sua expressão durante a infecção viral.

A Figura 7 faz uma comparação entre os valores de FC da via de sinalização por receptores semelhantes a NOD encontrados nas avaliações entre pacientes com ICV e infecção versus pacientes com ICV sem infecção, entre indivíduos controle com infecção versus indivíduos controle sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus indivíduos controle sem infecção.

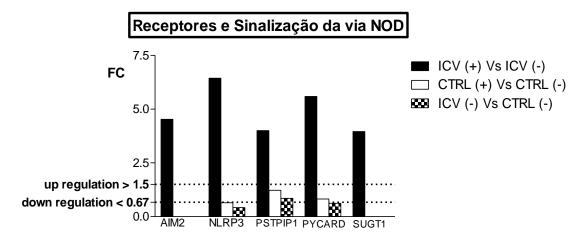


Figura 7 - Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização por receptores semelhantes a NOD. Foram realizadas comparações entre pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e infecção versus pacientes com ICV sem infecção, entre indivíduos controle (CTRL) com infecção versus CTRLs sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus CTRLs sem infecção observação - (+): Positivo para rinossinusite viral. (-): Negativo para rinossinusite viral.

Sinalização por receptores semelhantes a RIG-1:

Observamos um aumento na expressão dos genes DDX58 (RIG-1) e RELA durante o quadro infeccioso agudo nos pacientes ICV e indivíduos controle, mas o aumento foi mais significativo nos imunodeficientes. Esses mesmos genes apresentaram valores semelhantes de expressão  $(1,5 \ge FC \ge 0,67)$  na comparação entre os pacientes com ICV e controles sem infecção respiratória viral aguda. Os genes IRF3, MAPK14 (p38 MAPK), TBK1, TRAF3 e TRIM 25 apresentaram aumento de expressão nos pacientes ICV com infecção aguda, diminuição de expressão na ausência de infecção quando comparados com os controles sem infecção, e expressão com discreta variação nos valores de FC  $(1,5 \ge FC \ge 0,67)$  nos controles em vigência de infecção aguda viral. CXCL8 (IL-8) teve um aumento de expressão durante o quadro de rinossinusite aguda na comparação entre os pacientes ICV com e sem infecção, enquanto nas outras duas comparações apresentou valores de FC com alterações discretas  $(1,5 \ge FC \ge 0,67)$ . Os genes CXCL10 (IP-10) e IFIH1(MDA-5) foram observados apenas na comparação entre os pacientes ICV com e sem infecção e ambos os genes com aumento em sua expressão. A Figura 8 apresenta os dados descritos nesse tópico.

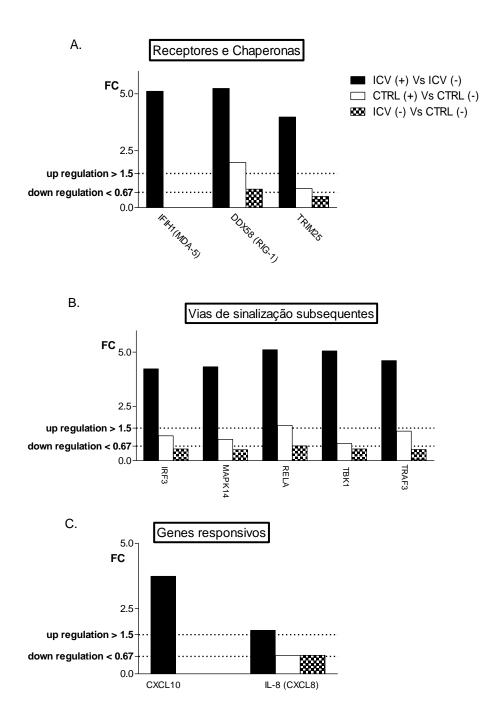


Figura 8 – Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização por receptores semelhantes a RIG-1. (A)Receptores e chaperonas. (B)Vias de sinalização. (C) Genes responsivos. Foram realizadas comparações entre pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e infecção versus pacientes com ICV sem infecção, entre indivíduos controle (CTRL) com infecção versus CTRLs sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus CTRLs sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus CTRLs sem infecção. Observação - (+): Positivo para rinossinusite viral. (-): Negativo para rinossinusite viral.

Sinalização da resposta do interferon tipo I:

Observamos aumento na expressão de IL-15 e MX1 durante o quadro infeccioso agudo nos pacientes ICV e indivíduos controles, mas o aumento da expressão foi maior nos pacientes imunodeficientes. Na comparação durante a ausência de infecção, MX1 mostrou-se com expressão reduzida nos pacientes ICV enquanto IL-15 apresentou valores semelhantes no ICV sem infecção em relação ao controle sem infecção (1,5  $\geq$  FC  $\geq$  0,67). O gene TLR3 foi quantificado apenas na comparação entre os indivíduos controles, apresentando uma tendência de aumento de expressão durante a infecção aguda. Todos esses dados estão representados na figura 8.

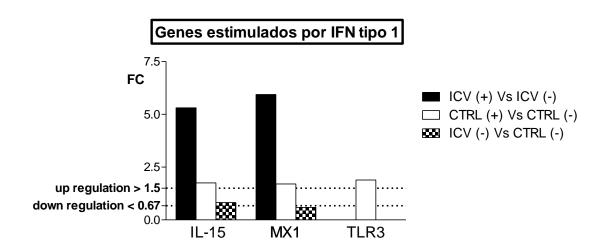


Figura 9 - Comparação entre os valores de FC (Fold Change) da via de sinalização da resposta do interferon (IFN) tipo I. Foram realizadas comparações entre pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e infecção versus pacientes com ICV sem infecção, entre indivíduos controle (CTRL) com infecção versus CTRLs sem infecção e entre pacientes com ICV sem infecção versus CTRLs sem infecção. Observação - (+): Positivo para rinossinusite viral. (-): Negativo para rinossinusite viral.

Mais detalhes quanto à expressão gênica de genes relacionados a imunidade inata e adaptativa antiviral dos controles e pacientes com ICV estão contidos nos anexos.

# 5.1 Identificação dos vírus respiratórios

No período de abril de 2012 a novembro de 2014, foram realizadas 58 avaliações em 47 indivíduos controle e 45 avaliações em 23 pacientes com imunodeficiência comum variável que apresentavam sinais e sintomas de rinossinusite. Dentre as avaliações, observamos que 41 indivíduos controles (34 controles selecionados pelo estudo e sete controles não selecionados pelo estudo por já se apresentarem com quadro clínico provavelmente bacteriano) tiveram um total de 50 rinossinusites (1,22 rinossinusites/indivíduo controle) e 23 pacientes com ICV (14 pacientes selecionados e nove não selecionados por estarem com sinais e sintomas de possível rinossinusite bacteriana) apresentaram um total de 45 rinossinusites (1,96 rinossinusites/paciente com ICV). Isso significa que os pacientes com ICV desse estudo apresentaram 60,6% mais infecções do que o grupo controle (p = 0,0004). Kainulainen et al. evidenciaram em um estudo que pacientes com hipogamaglobulinemia primária em reposição regular de imunoglobulina e com níveis séricos de IgG ≥ 6,0 g/l apresentaram 4,4 vezes mais infecções de vias aéreas superiores, sejam elas bacterianas ou virais, do que indivíduos controle (65). Já um outro estudo que avaliou infecções virais respiratórias adiquiridas na comunidade em pacientes com hipogamaglobulinemia secundária a transplante pulmonar observou uma incidência semelhante de infecções entre os pacientes com hipogamaglobulinemia e indivíduos controle (145).

Nesse período foram colhidas 65 amostras de lavado nasal, sendo 43 amostras colhidas de 34 indivíduos controles e 22 amostras colhidas em 14 pacientes com imunodeficiência comum variável. Todas as amostras foram colhidas quando os indivíduos, entre 18 e 60 anos de idade, apresentavam sinais e sintomas de quadro de rinossinusite sugestivamente viral (máximo de cinco dias de sintomas). Considerando apenas os indivíduos selecionados e que foram submetidos a coleta do lavado nasal, a duração dos sintomas também foi maior nos pacientes com ICV (variação de 5 a 22 dias, média de 10,8 dias) em relação aos indivíduos controle (variação de 3 a 15 dias, média de 6,2 dias). A diferença da duração dos sintomas entre os dois grupos também foi estatisticamente significativa (p < 0,0001). Durante o seguimento desses indivíduos, dois indivíduos controles e nove pacientes com ICV necessitaram de antibióticos para o tratamento de rinossinusite bacteriana, evidenciando que a evolução das rinossinusites virais dos pacientes com ICV tende a ser menos favorável do que nos indivíduos

controles (p = 0,0003). Duração prolongada do sintomas e maior necessidade de antibióticos nos pacientes com ICV já foi relatada por outros autores <sup>(65)</sup>.

A identificação dos vírus foi realizada no laboratório de virologia do IMT, que realizou duas técnicas (IFD e PCR) em todas as amostras. Pela técnica da IFD, foram pesquisados os seguintes vírus: vírus sincicial respiratório, adenovírus, influenza A e B, e parainfluenza 1, 2 e 3. A técnica do PCR foi realizada para os vírus: adenovírus, metapneumovírus, coronavírus, parainfluenza 1, 2, 3 e 4, influenza A e B, vírus sincicial respiratório A e B, rinovírus A/B/C, bocavírus 1, 2, 3 e 4, e enterovírus.

Apenas 4/65 (6,2%) amostras foram positivas pela técnica da IFD. Das amostras que foram positivas pela técnica da IFD, duas amostras (adenovírus e infuenza B) não encontraram confirmação pela técnica do PCR. A negatividade pelo PCR de um resultado positivo pela técnica da IFD já foi observada em outros estudos (146).

A técnica do PCR foi positiva em 18/65 (27,7%) amostras e encontrou positividade semelhante entre os grupos estudados, 25,6% nos indivíduos controles e 31,8% nos pacientes com ICV.

A positividade relativamente baixa, em comparação com outros estudos, pode se dever à técnica empregada para a coleta nesse estudo que foi o lavado nasal e não a técnica do *swab* nasofaríngeo ou aspirado nasofaríngeo. Além do mais, alguns artigos citam utilizar a técnica de lavado nasal, porém utilizam a técnica de aspirado nasal, obtendo valores mais altos do que os encontrados neste estudo (147-149). No entanto, o baixo custo da técnica e a facilidade de aplicação desse método em adultos por ser um método não invasivo, faz alguns autores cogitarem o lavado nasal como teste de triagem para pesquisa de vírus respiratórios (143). Os vírus mais encontrados e o período em que cada uma das infecções aconteceu se assemelha a estudos prévios com relação a sazonalidade desses vírus (77, 80, 88, 120, 122).

# 5.2 Imunidade inata e adaptativa antiviral no lavado nasal

O epitélio das vias aéreas promove proteção contra vários patógenos <sup>(150, 151)</sup>. Além da função de barreira, é uma importante fonte de citocinas, quimiocinas e outros mediadores inflamatórios que atuam na resposta da imunidade inata e adaptativa. As células epiteliais reconhecem motivos moleculares conservados de origem microbiana chamados padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs – *pathogen-associated* 

*molecular patterns*) pelo uso de diferentes receptores de reconhecimento de padrões (PRRs – *pattern-recognition receptors*) <sup>(152)</sup>. Os PRRs incluem receptores semelhantes a Toll (TLRs), receptores semelhantes ao domínio de oligomerização da ligação de nucleotídeos (NLRs – *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*) e os receptores semelhantes ao gene 1 induzidos por ácido retinóico (RLRs, RIG-1-like receptors – *retinoic acid-inducible gene 1*) e são todos importantes no reconhecimento de patógenos, ativação celular e regulação da resposta imune <sup>(152-154)</sup>. A despeito da função protetora dos PRRs contra infecções, evidências acumulativas sugerem um papel desses receptores na patogênese de várias doenças inflamatórias <sup>(155)</sup>.

Mamíferos expressam pelo menos dez diferentes TLRs que reconhecem componentes de bactérias e vírus, e eles têm sido identificados em vários tecidos e células das vias aéreas humanas (156, 157).

Os TLRs reconhecedores de vírus, expressos em endossomos e denominados TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9, respondem a dsRNA, ssRNA, ssRNA e CpG-DNA, respectivamente (158-160).

Os RLRs são constituídos de três homólogos: RIG-I, MDA-5 (*melanoma differentiation-associated gene 5*) e LGP-2 (*laboratory of genetics and physiology 2*) (161). Os PRRs citoplasmáticos RIG-I e MDA-5 detectam dsRNA da replicação viral em células infectadas, e por meio da proteína adaptadora MAVS (IPS-1) levam à indução da síntese de IFN tipo I através da ativação de IRF3 (IFN regulating factor 3), e à produção de citocinas pró inflamatórias pela ativação da via de sinalização do NFκB (162-164). RIG-I é necessário para o reconhecimento e resposta contra os *Paramyxovírus* e vírus influenza, enquanto MDA-5 é crítico não apenas para a secreção de IFNβ e CXCL10, mas também para a produção de IL-6 em resposta a picornavírus (165). IL-6 induz produção de anticorpos em células B e ativação e diferenciação de células T (166). A quimiocina CXCL10, associada a uma resposta celular tipo 1, regula a migração de células T ativadas através da ligação com CXCR3 (167).

Os TLRs desempenham um papel importante na defesa do hospedeiro induzindo a ativação de NFκB e a produção de IFNs do tipo 1, mas também contribuem para a patogênese de doenças específicas. Evidências sugerem que há uma deficiência intrínseca ou localmente induzida na função de barreira epitelial da mucosa nasal em pacientes com rinite alérgica, devido à inflamação persistente (168, 169). Essa inflamação é caracterizada pelo aumento da liberação de citocinas como GM-CSF, infiltração de

células inflamatórias e regulação aumentada da ICAM-1 (*intracellular adhesion molecule-1*) <sup>(170)</sup>. O aumento de expressão de ICAM-1 (CD54) favorece a infecção por rinovírus, pelo fato desses vírus utilizarem-se dessa molécula como receptor <sup>(171-174)</sup>.

Os IFN dos tipos I e III são responsáveis pela indução de um estado antiviral nas células imediatamente após a infecção <sup>(175)</sup>. IFN tipo I é produzido por muitos diferentes tipos celulares. IFN tipo III parece ser principalmente produzido por células dendríticas plasmocitóides presentes nos epitélios, onde as células epiteliais são o alvo principal de atividade <sup>(176)</sup>. Devido aos seus efeitos poderosos e potencialmente danosos, a produção dessas citocinas é rigidamente regulada <sup>(177)</sup>.

Defeitos na resposta do hospedeiro a patógenos externos, incluindo vírus, também têm sido relacionados à persistência do estado inflamatório gerando risco de efeitos paralelos indesejados do sistema de defesa, especialmente nos pacientes que sofrem de uma doença inflamatória crônica <sup>(178)</sup>. Clinicamente, infecções respiratórias virais têm sido frequentemente implicadas como gatilhos para exacerbações em pacientes com rinossinusite crônica e essas infecções também são conhecidas por danificar a função das células epiteliais nasais humanas <sup>(179, 180)</sup>.

Algumas das alterações imunológicas causadas por vírus respiratórios já foram descritas. O vírus influenza é reconhecido por pelo menos três classes de PRRs, incluindo TLR7, RIG-1 e NLRP3 (181, 182). Esse vírus possui uma proteína chamada PB1-F2 que dissipa o potencial de membrana mitocondrial requerido para ativação do inflamassomo NLRP3 e para a sinalização antiviral mediada por MAVS (183-185). Em adição, a proteína NS1 do vírus influenza inibe a resposta por interferon do hospedeiro tanto pelo sequestro do RNA viral quanto pela ligação a RIG-1 e outras proteínas necessárias para as vias de sinalização por RIG-1 e IFN (186-190). A proteína NS1 inibe a secreção de IL-1β mediada pelo inflamassomo NLRP3 (191, 192). A proteína NS1 parece ter um papel chave na inibição de RIG-1 e da secreção de IL-1β mediada pelo inflamassomo NLRP3 por células não imunes como o epitélio pulmonar (192).

Expressão aumentada de IL-1 $\beta$  e NLRP3 foi observada em amostras de aspirado nasofaríngeo em crianças com quadro de infecção respiratória mais grave por metapneumovírus, sugerindo que o inflamassomo está envolvido na resposta imune inata ao hMPV nesses pacientes, como um mecanismo protetor ou como responsável pelo dano pulmonar. Os níveis mais altos de IL-1 $\beta$  e NLRP3 foram encontrados nos pacientes com quadros mais graves (193). Observamos uma tendência de aumento na

expressão de NLRP3 e de outros genes relacionados à sinalização por receptores semelhantes a NOD (PYCARD/ASC, PSTPIP1, SUGT1 e AIM2) nos pacientes ICV durante o quadro agudo de infecção viral. NLRP3 teve sua expressão diminuída nos ICVs na ausência de infecção quando comparado com os controles também sem infecção ( $p \leq 0,05$ ). O gene PYCARD/ASC apresentou a mesma tendência, mas os resultados não foram estatisticamente significativos (p > 0,05). No grupo controle, houve uma tendência de diminuição de expressão do gene NLRP3 durante o quadro de rinossinusite viral e uma variação não significativa na expressão dos genes PSTPIP1 e PYCARD. Apesar de não detectarmos a expressão do gene IL-1 $\beta$ , observamos uma tendência de aumento na secreção dessa citocina durante os quadros infecciosos nos grupos controles e ICV.

Uma vez que AIM2 tem sua expressão induzida por IFNγ e que o inflamassomo AIM2 é ativado por dsDNA intracelular derivado de vírus DNA, bactérias ou por células do próprio hospedeiro (194-196), a tendência de aumento na expressão do gene AIM2 nos pacientes com ICV pode significar a presença de rinossinusite crônica nesses pacientes, já que nenhum indivíduo controle preenchia critérios clínicos para rinossinusite crônica e DNA vírus foi identificado em apenas um paciente com ICV, o que não seria suficiente para gerar aumento de expressão.

A expressão dos genes NLRP3, PSTPIP1, PYCARD, SUGT1 e AIM2 sugere que a via de sinalização por receptores semelhantes a NOD estava ativa em ambos os grupos, porém apresentou um estado de maior expressão e ativação no grupo ICV.

Muitos estudos têm mostrado anormalidades na resposta imune em pacientes com rinossinusite crônica, como uma resposta exagerada ao TLR3 (197); pacientes com rinite alérgica têm sido reportados como apresentando um aumento na regulação de TLR3 na mucosa nasal (198). O TLR3, que se localiza nas membranas endossômicas, é conhecido por reconhecer e estimular a expressão de CXCL8 (IL-8) nas células epiteliais das vias aéreas (199). Também já foi relatado que estímulo do TLR3 na mucosa nasal ativou a produção de IL-6 e CXCL8, além de promover um aumento da regulação do receptor celular epitelial de vírus ICAM-1 (155). CXCL8 é um importante quimiotáxico para neutrófilos e estimula essas células a liberar enzimas e produzir espécies reativas do oxigênio (200). Em nosso estudo observamos que os indivíduos controle apresentaram uma tendência de aumento na expressão TLR3 não evidenciado nos pacientes ICV durante o quadro de infecção viral aguda.

Kim et al. descreveram células epiteliais nasais humanas (HNECs) de indivíduos controles e indivíduos com rinossinusite crônica que produziram quantidades semelhantes de IL-6 e CXCL8 frente a uma infecção por rinovírus. Porém as HNECs de pacientes com rinossinusite crônica apresentaram uma diminuição da indução da proteína IFNβ e a expressão do mRNA de MDA-5 estava discretamente lentificada após infecção por HRV, sugerindo que isso pode ser responsável pelo atraso na eliminação do HRV. A resposta por IFNβ foi reduzida no grupo de HNECs de indivíduos com rinossinusite crônica (201). IL-6, CXCL8 e GM-CSF produzidos pela infecção por HRV aumentam a suscetibilidade para infecções respiratórias superiores adicionais (52). Observamos uma tendência de aumento na expressão do gene CXCL8 nos pacientes ICV e uma tendência de aumento na proteína CXCL8 em ambos os grupos durante o quadro de rinossinusite viral. O gene que codifica a citocina pró-inflamatória IL-6, produzida por macrófagos e células T e que atua na inflamação e na maturação das células B, além de ser um pirógeno endógeno capaz de induzir febre em pessoas com doenças autoimunes ou infecções, é produzida primariamente nos locais de inflamação aguda e crônica, não foi expresso em nenhum grupo mas apresentou valores aumentados de sua proteína no lavado nasal em ambos os grupos com infecção, sendo que o aumento no grupo controle foi estatisticamente significativo (p = 0.03).

MDA-5 (IFIH1) apresentou um aumento de expressão nos ICVs com rinossinusite viral, mas não foi detectado nos controles com infecção. Gough *et al.* observaram que fibroblastos embriônicos murinos *knockout* para MDA-5 produzem quantidades normais de IFNβ em resposta ao dsRNA. Já as células *knockout* para RIG não produzem quantidades detectáveis de IFNβ (202). A tendência de aumento de expressão de RIG-1 (DDX58) em ICVs e controles com infecção viral também é mais um dado que fortalece que há produção de IFN do tipo I na via final de sinalização por receptores semelhantes a RIG-1. Tengroth *et al.* descreveram que a ativação de RIG-1/MDA-5 resultou em um aumento na regulação da liberação de IFNβ na mucosa nasal (155). Esse mesmo autor relatou que RIG-I, MDA-5 e TLR3 foram expressos em níveis de proteínas e em mRNA em ordem decrescente na mucosa nasal (155). Esse artigo pode corroborar o achado do nosso estudo de que apenas RIG-1 apresentou expressão quantificável em todos, diferentemente de MDA-5 e TLR3.

Após o reconhecimento do RNA viral por RIG-1 e MDA-5, ocorre uma interação com a proteína adaptadora MAVS (IPS-1) localizada na membrana

mitocondrial <sup>(203-206)</sup>. RIG-1 também interage com TRIM25. A ativação de MAVS recruta TRAF3 e leva ao recrutamento de complexos de sinalização como o complexo TBK1 e o complexo IκK para ativar fatores de transcrição como IRF3, IRF7 e NFκB <sup>(207, 208)</sup> gerando a produção de IFN tipo I, citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como CXCL8, TNFα, IL-12 e CXCL10. Observou-se uma tendência de aumento na expressão dos genes TRIM25, TBK1 e IRF3 e um aumento na expressão do gene TRAF3 (*p* = 0,028) durante o quadro de infecção aguda viral nos pacientes ICV e uma tendência de diminuição de expressão nesses mesmos pacientes quando livres de infecção e comparados com controles em situação semelhante. Não foi observada variação significativa da expressão desses genes nos controles com rinossinusite viral. Controles e ICVs apresentaram um aumento na expressão do gene RELA (proteína essencial para a ativação de NFκB) durante o quadro de infecção viral aguda, sendo que o aumento de expressão foi maior nos pacientes ICV.

CTSS (Catepsina S) é necessária para complementar o efeito de reconhecimento de DNA por TLR9 (209). Foi observado uma tendência de aumento na expressão do gene codificador da CTSS no grupo ICV durante o quadro infeccioso agudo e uma tendência de diminuição de expressão nesses pacientes na ausência de infecção quando os comparamos com controles também na ausência de infecção. Não houve variação no grupo controle com infecção.

A fosfoproteína osteopontina (Opn/SPP1) é essencial para um desenvolvimento eficiente da resposta Th1 (210-212). Opn é expressa em células T ativadas, células dendríticas e macrófagos dentro de 24 horas de uma infecção viral ou bacteriana e podem ser responsáveis pela resistência contra infecções microbianas (210, 213). Em contraste, a expressão desregulada de Opn tem sido associada com doenças autoimunes em modelos de camundongos (211) e em muitos tipos de doenças autoimunes em humanos, incluindo nefrite lúpica, esclerose múltipla e artrite reumatóide (214-218). A expressão intracelular de Opn em células dendríticas plasmocitóides é necessária para uma translocação nuclear eficiente do IRF7 e está associada à expressão do gene do IFNα dependente de TLR9, mas não de outras citocinas pró-inflamatórias. A importância biológica de Opn na resposta por IFNα foi enfatizada pelo achado de camundongos deficientes de Opn desenvolverem uma resposta reduzida de células NK dependente de IFNα frente a tumores e ao vírus herpes simplex 1 (219). Observamos um aumento de expressão do gene codificador de Opn nos ICVs e controles com quadro de

rinossinusite viral aguda e uma diminuição de expressão nos pacientes com ICV na ausência de infecção viral aguda, mesmo com quadro de rinossinusite crônica. Esse aumento dá indícios da atuação da IRF7 e do IFN tipo I nesses pacientes, mesmo não apresentando detecção dos genes responsáveis pela expressão destes.

Sinalização por TLR induz uma regulação aumentada de moléculas coestimulatórias nas células dendriticas. Dentre essas moléculas, o CD40, membro da superfamília dos receptores do TNF, é importante na apresentação de antígenos pelas células dendríticas. Esse processo, chamado de maturação das células dendríticas, é essencial para a indução de uma resposta imune adaptativa patógeno-específica (220). O CD40 também possui outras funções importantes, dentre elas: a mudança de classe de imunoglobulinas dependente de células T, desenvolvimento de células B de memória, e formação do centro germinativo. Observamos uma tendência de aumento na expressão do gene codificador do CD40 no grupo controle com infecção viral aguda. Não foi possível avaliar a expressão desses genes no grupo ICV.

Todos os TLRs induzem vias inflamatórias conservadas, culminando com a ativação do NFκB e da AP-1 <sup>(221)</sup>. AP-1 é uma proteína que recruta membros de JUN e FOS <sup>(222)</sup>. Dentre a família de proteínas da AP-1, c-JUN desempenha um papel central na resposta inflamatória. A ativação de AP-1 na sinalização por TLR é principalmente mediada por MAP quinases.

Os eventos proximais da sinalização intracelular mediada por TLR são iniciadas por várias proteínas adaptadoras, dentre elas TRIF (TICAM1)  $^{(223,\ 224)}$ . TRIF tem a habilidade de ativar o NF $\kappa$ B, as MAP quinases e o promotor do gene de IFN $\beta$   $^{(225,\ 226)}$ .

TLR3 ativa a via dependente de TRIF, que leva a indução de IFN tipo I, particularmente IFNβ. A transcrição do gene do IFNβ é rigidamente controlada por ativação cooperativa de vários fatores de transcrição, incluindo NFκB, ATF2/c-JUN, IRF3 e IRF7 (225).

Enquanto NFκB e ATF2/c-JUN são ativados por numerosos estímulos como os ligantes de TLR, IL-1β, TNFα e dano ao DNA, IRF3 e IRF7 são proteínas estruturalmente relacionadas presentes no citoplasma em condições não estimuladas. Após o estímulo, essas proteínas são fosforiladas por TBK1 e IκKi, translocando-se para o núcleo para regular a expressão de genes alvo (227, 228). Enquanto IRF3 é constitutivamente expresso, a expressão de IRF7 é fraca em células não estimuladas e significantemente induzida pela estimulação com LPS, IFN tipo I ou infecções virais.

Assim, a indução inicial de IFNβ é largamente dependente da ativação de IRF3. Juntando tudo, o eixo TRIF - TBK1/IκKi - IRF3 controla a indução de IFN tipo I na sinalização por TLR3 e TLR4 <sup>(153)</sup>.

Ligantes de TLR7/8 e TLR9 também são gatilhos para a indução de IFN tipo I por células dendríticas plasmocitóides, um subtipo de células dendríticas que é especializado em produzir grande quantidade de IFN tipo I em resposta aos ligantes de TLR7/8 e TLR9 e infecções virais (229, 230). Diferente de outros tipos de células dendríticas, as células dendríticas plasmocitóides expressam constitutivamente altos níveis de IRF7 (231, 232).

IRF5 também é fosforilada por TBK1 e IκKi e, em humanos, é sugerido como um participante seletivo na indução de IFN tipo I mediado por TLR7, ao invés de citocinas inflamatórias (233-235).

Percebemos um aumento na expressão gênica dos genes codificadores de TRIF (TICAM1), de MAPK1 e MAPK14 (MAP kinases), de FOS e JUN (famílias de proteínas que compõem a estrutura do fator de transcrição AP-1) e de IRF5 nos pacientes ICV em vigência de infecção viral aguda. Houve diminuição de expressão dos genes MAPK14 e FOS nos pacientes ICV na ausência de infecção quando comparados com controles sem infecção. Não houve variação significativa na expressão dos genes MAPK14, JUN e FOS nos controles com infecção aguda. Não foi possível quantificar a expressão de TRIF, MAPK1 e IRF5 nos controles com infecção aguda.

A expressão de CXCL10 pode ser induzida por IFN $\gamma$  (236), IFN $\alpha$  e  $\beta$  (237) ou TNF $\alpha$  (238) secretadas por diferentes células imunes, e tem como funções a quimiotaxia de monócitos/macrófagos, células T, células NK e células dendríticas, além da promoção de adesão de células T às células endoteliais. TNF $\alpha$  induz NF $\alpha$  (239) e, entre outras funções, está envolvido no recrutamento de neutrófilos para os pulmões (240). Houve uma tendência de aumento na expressão do gene de CXCL10 apenas nos ICVs com infecção. Não foi possível quantificar a expressão de CXCL10 no grupo controle. Apesar disso, foi possível dosar a proteína CXCL10 no lavado nasal em níveis altos em ambos os grupos durante o quadro de rinossinusite aguda ou crônica agudizada. No grupo controle, o aumento na secreção da quimiocina CXCL10 durante a infecção apresentou valores de p < 0,05.

A produção de TNFα foi previamente reportada com altos níveis na secreção nasofaríngea de crianças infectadas com VSR e influenza (241). Não observamos a

expressão do gene do TNF, citocina multifuncional próinflamatória secretada principalmente por macrófagos, em nenhum dos grupos estudados, mas foi possível dosar a proteína e observar uma tendência de aumento na secreção em ambos os grupos durante o quadro infeccioso agudo.

Não detectamos aumento na expressão dos genes CXCL9 e CCL5 em nenhum dos grupos estudados, mas foi possível quantificar uma tendência de aumento da proteína CCL5 em ambos os grupos com infecção viral aguda. Essa quimiocina é produzida por células T, endoteliais e plaquetas, e atrai monócitos, basófilos, eosinófilos, células dendríticas, células T e NK, e possui como função adicional a degranulação de basófilos e ativação de células T. Estranhamente, a proteína CXCL9, estreitamente relacionada com CXCL10, produzida principalmente por macrófagos após estímulo pelo IFNy e que possui como principal função a quimiotaxia de linfócitos T e funções inibitórias na neovascularização e na inibição de células progenitoras hematopoiéticas, apresentou níveis não detectáveis durante o quadro de infecção aguda e valores aumentados na ausência de infecção em alguns sujeitos de ambos os grupos. Esse achado é diferente de outros estudos que avaliaram soro e lavado nasal em indivíduos com adenovírus e influenza A, onde houve aumento da secreção (242, 243). Nos anexos é possível perceber também que, apesar de não podermos quantificar a expressão do gene CXCL9, esse gene foi expresso em alguns sujeitos do estudo durante o quadro de rinossinusite aguda. Todos esses dados nos levaram a desconsiderar a quantificação da proteína CXCL9 por provável erro no ensaio do CBA com relação a essa quimiocina em específico.

MxA (myxovirus resistance protein A) é uma GTPase citoplasmática intracelular que tem atividade contra uma grande variedade de vírus <sup>(244-249)</sup>. É induzida exclusivamente por IFN tipo I e tipo III como uma resposta específica a infecções virais e seus níveis basais em indivíduos saudáveis e imunotolerantes são baixos <sup>(250, 251)</sup>.

Foi identificado MxA elevado em amostras de sangue total durante infecções respiratórias por HRV, VSR, PIV, Flu, hcoV e hMPV em crianças <sup>(252)</sup>. Em nosso estudo, identificamos um aumento de expressão do gene MxA nos pacientes om ICV e nos indivíduos controle durante os períodos de infecção.

IL-15 é uma citocina induzida por IFN tipo I que exerce um efeito antiviral pela ativação de células NK e células TCD8 (253, 254). Células NK são linfócitos efetores inatos que podem agir para eliminar diretamente células infectadas por vírus pela

produção de enzimas citolíticas como as granzimas ou pela produção de citocinas como IFNγ que regulam a resposta da imunidade adaptativa <sup>(255, 256)</sup>. Pacientes ICV e controles apresentaram aumento na expressão do gene que codifica a citocina IL-15 durante o quadro de infecção aguda.

O aumento da expressão dos genes que codificam MxA e IL-15 são dados que corroboram com a sinalização e resposta do IFN tipo I e tipo III, apesar da não detecção da expressão gênica do IFNα no lavado nasal e de apenas um paciente com ICV apresentar níveis quantificáveis e bem altos dessa citocina em nosso estudo. A expressão dos genes MxA e IL-15 foram bem maiores no grupo ICV.

Apesar de não detectarmos níveis substanciais de IFNα no lavado nasal de pacientes, outros estudos também apresentaram dificuldades semelhantes. Em um estudo que avaliou a resposta localizada da mucosa nasal em resposta à vacina intranasal de influenza viva atenuada em adultos (LAIV), foi observado aumento da expressão gênica no lavado nasal de genes estimuladores do IFN como o MX1 (MxA), RIG-1 e IRF7 no terceiro dia após a vacinação. Sendo assim especula-se que a liberação de IFN estaria possivelmente abaixo dos níveis de detecção no lavado nasal (257). Em outros dois estudos que avaliaram lavados nasofaríngeos de crianças com VSR o IFNβ foi indetectável (258, 259).

Também dosamos a proteína da quimiocina CCL2, produzida por monócitos, macrófagos, fibroblastos e queratinócitos, e que tem como função o recrutamento de monócitos, células NK e T de memória, basófilos e células dendríticas aos locais de infecção, ativa macrófagos e induz liberação de histamina pelos basófilos; observamos aumento nas suas concentrações quando comparamos indivíduos infectados e não infectados de ambos os grupos, mas não observamos diferenças estatísticas entre os grupos, quando os comparamos em situações semelhantes. A citocina IL-10 é produzida por macrófagos e células T e tem como uma de suas principais funções a inibição da resposta Th1. Observamos uma tendência de aumento da secreção dessa citocina nos controles e em pacientes com ICV durante o quadro de rinossinusite viral.

Não podemos tirar conclusões em relação às citocinas IL-2, IL-4, IL-12/IL-23p40 e IL-17A, uma vez que não obtivemos quantidades significativas detectáveis com os kits utilizados.

Concluindo, com relação aos agentes virais das rinossinusites nos pacientes com ICV, não houve diferença estatística na detecção viral em relação ao grupo controle,

mas observamos uma maior quantidade de episódios infecciosos, assim como duração prolongada dos sintomas e maior necessidade de antibióticos nos pacientes com ICV. Os pacientes imunodeficientes também apresentaram co-detecção viral em duas situações, diferentemente do grupo controle que não apresentou nenhum. Os vírus foram detectados em ambos os grupos respeitando a sazonalidade em que normalmente são detectados. E uma vez que o PCR se mostrou muito superior à técnica por IFD na detecção viral, devemos avaliar se devemos continuar a utilizar essa forma de detecção diagnóstica.

Com relação à quantificação de citocinas e quimiocinas, observamos um aumento da secreção dessas proteínas durante a infecção aguda em relação à ausência de infecção, comportamento semelhante ao observado em estudos que avaliaram a secreção dessas citocinas e quimiocinas no soro e em lavados/aspirados nasais durante quadros de infecções respiratórias (242, 243, 260-262). Não observarmos, em nosso estudo, diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos controles e os pacientes com ICV quando os comparamos em situações semelhantes.

Em se tratando do estudo da expressão gênica por rt-PCR, apesar de não termos observado a expressão de todos os oitenta e quatro genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral contidos na plataforma denominada antiviral immunity (PAHS-122, Qiagen Corporation, Ltda), observamos genes expressos em todas as vias de sinalização propostas pela plataforma (Sinalização por receptores semelhantes a Toll, Sinalização por receptores semelhantes a NOD, Sinalização por receptores semelhantes a RIG-1 e Sinalização e resposta do interferon tipo I) e, como os genes expressos nessas vias estendem desde seus receptores até os genes responsivos, passando pela sinalização, podemos ter uma idéia do funcionamento dessas vias nos pacientes com ICV e nos indivíduos controle. Percebemos que de uma maneira geral, os pacientes com ICV apresentam um aumento de expressão de genes relacionados à imunidade inata e adaptativa anitiviral no lavado nasal substancialmente maior frente a um quadro de rinossinusite aguda ou crônica agudizada por um vírus do que os indivíduos controle em situações semelhantes. Quando comparamos os pacientes ICV e os controles ambos sem infecção aguda, observamos que os genes apresentam em sua maioria uma redução de expressão nos pacientes ICV.

Uma vez que a magnitude e o padrão biológico de uma resposta imune precoce influenciam a evolução de uma infecção, quando a resposta é de natureza e magnitude

apropriada o hospedeiro obtém sucesso em eliminar a infecção com mínimo dano tecidual ou inflamação sistêmica. Por outro lado, se a natureza e magnitude da resposta forem inapropriadas, a resposta inflamatória à infecção pode levar o hospedeiro a sérios danos <sup>(243)</sup>. O dano ao epitélio respiratório durante a infecção viral facilita ainda mais infecções bacterianas do trato respiratório e subsequentes doenças inflamatórias como sinusites e pneumonias <sup>(263)</sup>.

Essa maior amplitude de variação observada nos pacientes com ICV provavelmente significa um desajuste de resposta imune levando a um quadro de maior inflamação local com consequente maior dano tecidual e justificando assim a incidência aumentada de complicações como otites médias e mastoidites, sequelas como sinéquias nos seios paranasais e bronquiectasias, duração aumentada dos sintomas, replicação viral aumentada e internações nesse grupo de pacientes (65, 66).

Nosso estudo foi o primeiro a realizar a quantificação de citocinas e quimiocinas, além de avaliar por rt-PCR a expressão gênica de genes relacionados a imunidade inata adaptativa no lavado nasal de pacientes com Imunodeficiência Comum Variável. Não há na literatura nenhum estudo que tenha feito avaliação semelhante, nem mesmo no sangue nesse tipo de paciente. Sendo assim, mais estudos são necessários para responder perguntas que surgiram no decorrer de nossa pesquisa.

6. Conclusões

- 1. Os agentes virais detectados durante os quadros de rinossinusite no grupo controle e nos pacientes com ICV respeitaram a sazonalidade habitual;
  - a rinossinusite viral teve uma duração prolongada nos pacientes com ICV e esses mesmos pacientes tiveram evolução menos favorável com consequente evolução para rinossinusite bacteriana
  - o houve maior necessidade de uso de antibióticos e corticóides orais para tratamento dessa complicação.
- 2. Com relação ao método de detecção, o PCR se mostrou muito superior a IFD;
  - o a técnica de coleta por lavado nasal isolada pode ter influenciado negativamente na detecção por ambos os métodos
  - Justifica-se a técnica do lavado nasal pelo baixo custo e pela facilidade de aplicação da técnica em adultos não hospitalizados.
- 3. As citocinas e quimiocinas no lavado nasal tiveram um comportamento semelhante em ambos os grupos estudados
  - observamos aumento na secreção das mesmas durante o quadro agudo de rinossinusite viral.
  - Não houve diferenças nos níveis de secreção das citocinas e quimiocinas entre os grupos quando comparados em situações semelhantes.
- 4. Com relação à expressão gênica dos genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral no lavado nasal, observamos uma maior variação de expressão nos genes dos pacientes com ICV.
  - o Esses genes se encontravam:
    - "down regulados" nos pacientes com ICV quando comparamos com os controles, ambos sem infecção;
    - "up regulados" e em valores muito maiores que os controles quando ambos os grupos estavam com rinossinusite viral.
- 5. Essa maior variação de expressão gênica pode talvez justificar um desajuste na resposta imune inata e adaptativa levando a um maior dano tecidual e maior resposta inflamatória nos pacientes com ICV e assim justificar o maior índice de complicações frente a infecções.
- 6. Mais estudos são necessários para elucidar as muitas questões e hipóteses que surgiram no decorrer desse trabalho.



# HOSPITAL DAS CLÍNICAS

# DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

# TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

		(Instruções para preenchimer	nto no verso)	
I - DAD	OOS DE IDENT	TIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PE	SQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL	
1. NOME DO P	PACIENTE.:			
DOCUMENTO	DE IDENTIDA	ADE N° : Si	EXO: .M Ž FŽ	
DATA NASCII				
		CIDA		
CEP:		TELEFONE:DDD ()		
		tesco, tutor, curador etc.)		
DOCUMENT	O DE IDENT	IDADE :SI	EXO: M $Z$ F $Z$	
DATA NASCII				
		CIDAD:		
AVALIAÇÃO D COMUM VARIÁ		OS VIRAIS NAS RINOSSINUSITE	ES DE PACIENTES COM IMUNODEFICIÊNC	ΙA
2. PESQUISADO	OR: Prof. Dr. De	ewton de Moraes Vasconcelos		
CARGO/FUNÇÃ Departamento de			ambulatório de Imunodeficiências primárias	do
INSCRIÇÃO CO	NSELHO REG	IONAL Nº		
UNIDADE DO H	ICFMUSP: Deri	matologia		
3. AVALIAÇÃO	DO RISCO DA	PESQUISA:		
SEM RISCO	Ž	RISCO MÍNIMO	RISCO MÉDIO Ž	
RISCO BAIXO	Ž	RISCO MAIOR $\check{Z}$		
(probabilidade	de que o indivíd	luo sofra algum dano como consequê	encia imediata ou tardia do estudo)	
4.DURAÇÃO DA	A PESQUISA :	2 anos		

# III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

## 1. justificativa e os objetivos da pesquisa

Você está sendo convidado a participar voluntariamente (isto é, sem remuneração e de modo não obrigatório) de um estudo que avaliará quais são os patógenos virais nas rinossinusites em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável.

2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais

Caso você concorde, lavados da região nasofaríngea serão coletados, para pesquisa de moléculas de defesa presentes na amostra coletada e identificação dos agentes virais das rinossinusites presentes nestes mesmos lavados.

#### 3. desconfortos e riscos esperados

O risco e o desconforto para coleta do lavado nasofaríngeo são mínimos, pois este é obtido facilmente, como em procedimentos para investigação de sinusites, no qual será administrado ao paciente certa quantidade de soro fisiológico para em seguida, o mesmo assoar o nariz, sendo disponibilizado então amostras de material biológico para posterior pesquisa.

## 4. benefícios que poderão ser obtidos

O possível benefício é o de um acompanhamento dentro de uma sistemática diferente da que é feita no ambulatório de Imunodeficiências Primárias do Serviço de Dermatologia do HC-FMUSP (ADEE-3003). Você poderá ainda estar ajudando outras pessoas com a mesma doença ao permitir a obtenção/análise de dados.

5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo

N	ao	se	ap	licam
---	----	----	----	-------

\_\_\_\_\_

# IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

A coleta de de lavados nasofaríngeos dos pacientes deverá ser agendada. Orientações sobre procedimentos riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer dúvidas serão dadas a qualquer momento.

2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.

A participação no estudo é livre e a qualquer momento poderá ser retirado seu consentimento sem que isto traga prejuízo de seu tratamento.

3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

Os resultados obtidos dos testes laboratoriais serão mantidos em confidencialidade.

4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

A assistência no HCFMUSP está disponível para eventuais danos à saúde relacionados à coleta de exames decorrentes da pesquisa.

5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

Como se trata de projeto com risco mínimo, não há previsão de indenização.

# V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

## Dr. Dewton de Moraes Vasconcelos ou Thiago de Almeida Bezerra

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470 – Prédio 2, 3° andar - IMT

Fone: 3061 7499

# VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

## VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 20 .

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador (carimbo ou nome Legível)

**Tabela 7** - Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de indivíduos controle e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral

CTRL 11	HCoV	Negativo
IL-17A	0	0
IFNγ	33,5	0
TNF	2,15	0
IL-10	10,74	0
IL-6	225,5	3,56
IL-4	0	0
IL-2	0	0
IFNα	5,9	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	34.484,27	225,08
CCL2	60,59	6,74
CXCL9	0	1.702,45
CCL5	2,53	0
CXCL8	1.863,28	779
IL-1β	27,04	9,53
IL-10	6,13	0
TNF	2,5	0,35

CTRL 27	HCoV	Negativo
IL-17A	0	0
IFNγ	0	0
TNF	0	0
IL-10	4,2	0
IL-6	40,8	3,52
IL-4	0	0
IL-2	0	0
IFNα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	17.092,47	369,25
CCL2	30,36	17,14
CXCL9	0	3.593,62
CCL5	0	0
CXCL8	483,81	1.793,8
IL-1β	4,47	28,4
IL-10	1,71	0,05
TNF	0,37	1,05

CTRL 30	HCoV	Negativo
IL-17A	0	0
ΙϜΝγ	8,06	0
TNF	339,16	0,92
IL-10	14,47	0,47
IL-6	1.155,36	17,51
IL-4	0	0
IL-2	0	0
ΙϜΝα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	41.495,83	15.014,32
CCL2	228,53	19,97
CXCL9	0	0
CCL5	34,14	0
CXCL8	3.739,41	699,8
IL-1β	209,4	2,55

Continua.

**Tabela 7** - Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de indivíduos controle e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral (continuação)

CTRL 15	Flu A	Negativo
IL-17A	0	0
IFNγ	0	0
TNF	35,25	0,26
IL-10	0,17	0,03
IL-6	30,23	7,55
IL-4	0	0
IL-2	0	0
IFNα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	8986,77	8405,69
CCL2	33,67	11,4
CXCL9	0	0
CCL5	0	0
CXCL8	414,21	519,53
IL-1β	83,94	2,86

CTRL 26	Flu A	Negativo
IL-17A	0	0
IFNγ	0	0
TNF	0,61	0,54
IL-10	0	0
IL-6	4,1	2,94
IL-4	0	0
IL-2	0	0
IFNα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	939,16	286,08
CCL2	8,94	7,79
CXCL9	0	2610,1
CCL5	0	0
CXCL8	680,17	872,37
IL-1β	127,58	13,7

CTRL 33	HRV	Negativos
IL-17A	0	0
IFNγ	4,03	0
TNF	3,0	0,45
IL-10	2,02	0,04
IL-6	128,9	0
IL-4	0	0
IL-2	0	0
ΙϜΝα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	43026,9	315,1
CCL2	69,36	4,83
CXCL9	0	2245,5
CCL5	1,46	0
CXCL8	1294,76	251,7
IL-1β	23,1	3,74

Continua.

**Tabela 7** - Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de indivíduos controle e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral (continuação)

ICV 2	Flu A	HRV	Negativo
IL-17A	0	0	0
ΙΕΝγ	36,05	0	0
TNF	22,02	0,86	0,27
IL-10	2,8	0,1	0
IL-6	921,37	4,24	0
IL-4	0	0	0
IL-2	0	0	0
ΙϜΝα	2.659,31	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0	0
CXCL10	46.890,4	7.412,85	287,88
CCL2	324,43	11,7	6,87
CXCL9	0	0	18.343,06
CCL5	8,33	0	0
CXCL8	1.755,59	589,82	256,67
IL-1β	17,53	3,45	5,18

ICV 8	Negativo	
IL-17A	0	
IFNγ	0	
TNF	0,36	
IL-10	0,02	
IL-6	4,6	
IL-4	0	
IL-2	0	
ΙϜΝα	0	
IL-12/IL-23p40	0	
CXCL10	1.029,98	
CCL2	16,37	
CXCL9	0	
CCL5	0	
CXCL8	567,8	
IL-1β	5,1	

Continua.

**Tabela 7** - Quantificação de quimiocinas e citocinas (em pg/ml) no lavado nasal de indivíduos controle e pacientes com ICV com e sem quadro de rinossinusite viral (conclusão)

ICV 9	PIV4	Negativo
IL-17A	0	0
IFNγ	0	0
TNF	0,54	0,31
IL-10	0,12	0,03
IL-6	42,5	4,64
IL-4	0	0
IL-2	0	0
IFNα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	32.348,82	237,64
CCL2	29,23	5,74
CXCL9	0	1.283,32
CCL5	0	0
CXCL8	214,09	560,77
IL-1β	3,1	13,66

ICV 10	ADV + HCoV	Negativo
IL-17A	0	0
IFNγ	0	0
TNF	245,5	25
IL-10	8,97	1,33
IL-6	87,35	66,75
IL-4	0	0
IL-2	0	0
IFNα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	0
CXCL10	3.849,05	473,79
CCL2	139,65	17,83
CXCL9	0	0
CCL5	5,77	1,38
CXCL8	7.519,84	4.274,14
IL-1β	209,4	209,4

ICV 13	HRV	Negativo
IL-17A	0	0
ΙΕΝγ	0	0
TNF	1,23	0,25
IL-10	0,21	0,06
IL-6	26,32	2,4
IL-4	0	0
IL-2	0	4,21
ΙΕΝα	0	0
IL-12/IL-23p40	0	12,61
CXCL10	32675,5	10552,47
CCL2	30,24	10,62
CXCL9	0	0
CCL5	1,66	0
CXCL8	1855,81	150,92
IL-1β	10,57	1,82

### **Notas:**

CTRL: Controle; ICV: Imunodeficiência Comum Variável.

Negativo: Ausência de rinossinusite viral. HCoV: Coronavírus; Flu A: Influenza A; HRV: Rinovírus; PIV4: Parainfluenza 4; ADV: Adenovírus.

A dosagem foi realizada em seis indivíduos controles com rinossinusite aguda ou crônica agudizada e repetida após um intervalo de no mínimo seis meses quando mesmo o indivíduo já se encontrava completamente assintomático. O mesmo procedimento foi realizado em cinco pacientes com ICV.

**Tabela 8** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (CT's individuais de controles e pacientes com ICV)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV + HCoV
A1	AIM2	24,9	ND	ND	ND	27,3	28,6	29,8	26,0	29,0	29,4	31,5	29,5	21,9	27,3	24,0	30,4
A2	APOBEC3G	28,2	ND	ND	ND	32,6	29,9	33,3	29,3	36,7	ND	ND	32,9	27,4	32,8	24,5	34,8
A3	ATG5	25,6	ND	ND	30,2	ND	28,1	30,0	30,9	31,5	29,3	ND	30,9	24,4	ND	23,8	27,9
A4	AZI2	30,7	ND	ND	ND	ND	32,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	25,8	ND	27,4	34,9
A5	CARD9	30,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	32,2	ND	ND	ND	27,0	ND	31,7	32,0
A6	CASP1	22,0	ND	ND	ND	33,3	27,0	26,0	32,3	23,4	ND	ND	ND	20,3	32,9	21,0	29,4
A7	CASP10	30,9	ND	ND	ND	ND	32,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	28,0	ND	29,8	33,6
A8	CASP8	27,9	ND	ND	ND	ND	34,4	ND	ND	33,0	ND	ND	ND	28,4	ND	30,7	31,3
A9	CCL3	21,3	ND	ND	ND	ND	23,1	25,3	34,2	34,6	ND	ND	ND	17,8	ND	19,0	27,4
A10	CCL5	27,6	ND	ND	ND	ND	28,7	30,4	ND	ND	ND	ND	ND	23,4	ND	26,0	ND
A11	CD40	26,4	31,1	31,1	ND	28,6	26,4	27,9	26,2	31,1	ND	ND	ND	24,1	29,2	22,2	29,0
A12	CD80	25,9	ND	ND	ND	ND	34,5	33,8	ND	ND	ND	ND	ND	26,5	ND	26,1	32,5
B1	CD86	25,9	ND	ND	ND	32,2	33,0	31,7	29,1	34,7	ND	ND	ND	24,7	31,3	23,1	31,6
B2	CHUK	25,6	ND	ND	ND	ND	30,1	32,6	ND	27,6	ND	ND	ND	26,3	ND	26,1	ND
В3	CTSB	22,9	ND	ND	30,1	ND	24,7	24,8	ND	24,6	ND	ND	ND	23,2	ND	18,6	27,8
B4	CTSL1	33,9	ND	ND	32,8	ND	32,8	ND	ND	30,0	38,2	ND	ND	32,6	ND	31,2	29,6
B5	CTSS	21,1	29,7	30,7	26,5	27,8	26,0	25,4	25,8	27,1	27,9	28,8	26,4	20,0	25,3	19,1	30,9
В6	CXCL10	26,3	ND	ND	ND	24,4	23,1	24,0	21,9	30,0	31,7	ND	32,8	21,0	25,2	15,5	31,1
B7	CXCL11	30,8	ND	31,3	ND	29,5	26,7	29,7	26,4	ND	ND	ND	ND	24,0	30,7	19,9	ND
B8	CXCL9	32,6	ND	ND	ND	ND	28,2	29,2	ND	35,0	ND	ND	ND	22,7	ND	19,9	32,2
В9	CYLD	28,1	ND	ND	ND	ND	30,6	33,2	ND	31,6	ND	ND	ND	24,5	ND	27,4	29,3
B10	DAK	28,3	ND	ND	ND	ND	32,7	ND	ND	36,5	ND	ND	ND	28,5	ND	30,4	30,6
B11	DDX3X	23,0	ND	ND	28,6	ND	27,4	29,8	ND	24,4	ND	ND	ND	20,9	ND	23,0	31,6
B12	DDX58	20,7	31,7	31,3	31,8	25,9	ND	27,9	20,8	27,5	30,1	30,7	ND	19,0	23,8	23,4	30,5

**Tabela 8** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (CT's individuais de controles e pacientes com ICV) (continuação)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV + HCoV
<b>C1</b>	DHX58	29,4	ND	ND	23,9	31,1	28,7	34,5	26,3	ND	ND	ND	ND	22,1	30,8	25,6	31,7
C2	FADD	30,1	ND	ND	ND	30,4	33,1	ND	ND	37,0	ND	ND	ND	27,5	ND	29,6	31,4
С3	FOS	17,0	23,6	26,1	25,0	23,5	22,1	20,4	22,6	25,5	23,0	23,9	22,3	17,3	21,8	18,7	28,3
<b>C4</b>	HSP90AA1	21,0	ND	ND	27,8	ND	23,0	23,6	ND	24,2	ND	ND	ND	20,2	ND	18,4	28,7
C5	IFIH1	24,6	ND	ND	ND	26,1	27,0	28,8	24,8	29,5	30,3	30,0	30,0	19,2	26,1	21,9	31,8
С6	IFNA1	ND	ND	ND	ND	ND	31,7	30,1	ND	36,1	ND	ND	ND	29,5	ND	27,5	28,5
С7	IFNA2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	32,9	ND	31,5	ND
С8	IFNAR1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	34,3	ND	ND	ND	25,5	ND	34,8	33,8
С9	IFNB1	30,5	ND	ND	28,8	ND	30,2	28,7	ND	29,1	37,2	ND	ND	28,6	ND	26,1	27,6
C10	IKBKB	27,2	ND	ND	ND	ND	29,9	31,7	ND	31,2	37,1	ND	ND	25,7	ND	27,2	33,9
C11	IL12A	30,8	ND	ND	ND	ND	30,0	31,4	ND	32,9	ND	ND	32,5	28,7	ND	28,5	28,9
C12	IL12B	34,6	ND	ND	33,8	ND	ND	34,6	ND	33,1	ND	35,9	ND	30,1	ND	33,4	28,8
D1	IL15	27,2	31,7	ND	33,7	27,1	27,1	28,4	23,9	30,3	32,3	32,5	31,7	25,5	25,8	22,8	29,7
D2	IL18	26,6	ND	ND	ND	ND	31,8	32,2	ND	32,3	ND	ND	ND	23,7	ND	25,8	33,0
D3	IL1B	19,7	ND	ND	29,0	ND	23,5	26,5	ND	26,2	ND	ND	ND	19,2	ND	20,1	30,8
<b>D4</b>	IL6	25,6	ND	ND	ND	ND	32,1	34,6	ND	34,5	ND	ND	ND	25,6	ND	24,5	35,0
<b>D5</b>	IL8	15,4	22,9	23,6	21,7	21,7	24,2	18,8	24,4	21,5	21,8	21,3	19,0	17,2	20,5	18,7	29,2
D6	IRAK1	27,8	ND	30,9	ND	ND	30,7	ND	30,5	36,3	ND	ND	32,5	24,5	30,0	27,8	36,3
D7	IRF3	24,9	30,8	26,8	30,5	25,2	26,2	29,1	23,3	28,0	29,4	31,0	28,8	23,1	25,1	25,0	28,6
D8	IRF5	26,7	ND	30,4	ND	30,8	27,9	28,8	28,8	30,7	34,4	31,4	ND	24,9	29,1	24,4	29,6
D9	IRF7	24,3	ND	ND	ND	ND	24,9	28,7	ND	31,9	ND	ND	ND	18,1	ND	23,2	ND
D10	ISG15	21,4	ND	ND	ND	33,3	22,2	25,9	28,9	26,1	ND	ND	36,4	15,5	34,5	18,6	27,5
D11	JUN	27,4	32,8	31,3	ND	31,9	31,1	31,5	28,5	ND	33,8	32,2	30,1	24,9	29,6	25,6	33,5
D12	MAP2K1	23,6	ND	ND	ND	ND	32,1	34,1	ND	33,2	ND	ND	ND	25,9	ND	26,9	33,8

**Tabela 8** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (CT's individuais de controles e pacientes com ICV) (continuação)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26	CTRL 33	CTRL 6	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26	CTRL 33 HRV	ICV 8	ICV 2	ICV 9	ICV 10	ICV 8	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV + HCoV
E1	MAP2K3	23.4	Negativo ND	Negativo ND	Negativo 29,7	ND	25.7	Flu A 28.1	ND	Negativo 30,1	Negativo ND	Negativo ND	Negativo ND	<b>Flu A</b> 20.0	ND	25.0	28,5
E2	MAP3K1	26.1	ND ND	ND	ND	ND	32.8	31.5	ND ND	ND	ND	ND	ND	26.3	ND ND	25.2	_
		-,					- /-	- /-						-,-		-,	30,9
E3	MAP3K7	25,9	ND	ND	32,3	ND	28,4	28,5	ND	29,9	ND	ND	ND	25,8	ND	24,0	29,9
E4	MAPK1	22,5	27,9	ND	ND	28,1	26,6	26,5	27,2	27,1	27,4	29,8	26,9	23,3	26,4	22,5	28,8
E5	MAPK14	24,0	30,9	ND	30,5	30,1	28,4	27,6	29,0	31,5	29,5	30,0	29,0	21,8	27,9	24,3	30,2
E6	МАРК3	26,6	ND	ND	33,9	ND	29,9	34,3	ND	33,2	ND	ND	ND	25,8	ND	28,6	31,2
E7	MAPK8	27,0	ND	ND	30,8	32,1	29,2	31,4	29,8	ND	31,7	ND	32,4	25,2	31,3	25,7	ND
E8	MAVS	28,9	ND	31,9	ND	31,7	28,2	ND	30,1	ND	ND	ND	ND	27,5	32,1	27,5	29,8
E9	MEFV	28,3	ND	ND	ND	33,6	32,2	33,5	29,9	ND	ND	ND	32,9	21,8	31,7	28,8	ND
E10	MX1	23,2	29,1	29,5	33,9	24,8	25,4	28,1	21,3	31,5	30,1	29,0	27,7	19,4	23,7	20,7	28,6
E11	MYD88	22,9	ND	ND	34,1	ND	26,0	27,0	ND	29,2	ND	ND	ND	20,7	ND	22,0	28,7
E12	NFKB1	19,4	ND	ND	30,6	ND	26,4	27,2	ND	25,1	ND	ND	ND	20,9	ND	21,7	29,3
F1	NFKBIA	19,0	ND	ND	24,8	ND	23,8	24,6	ND	22,5	ND	ND	35,9	16,9	ND	19,4	29,1
F2	NLRP3	25,1	31,5	31,3	29,7	28,8	30,0	29,6	29,3	ND	31,8	31,5	27,7	24,6	27,2	24,6	30,7
F3	NOD2	25,4	ND	ND	31,0	ND	29,8	28,3	ND	25,0	ND	ND	ND	24,0	ND	24,3	ND
F4	OAS2	28,8	ND	ND	ND	33,5	28,0	31,0	28,9	ND	ND	ND	ND	21,4	31,6	24,4	31,8
F5	PIN1	24,1	ND	ND	32,2	ND	25,4	31,7	ND	28,0	ND	ND	ND	24,8	ND	23,2	29,6
F6	PSTPIP1	23,0	28,2	30,9	ND	25,0	26,8	26,4	24,2	30,1	25,9	26,9	25,9	21,5	24,5	23,7	27,6
F7	PYCARD	22,3	28,1	28,8	ND	27,5	25,8	28,3	24,6	26,8	28,9	28,0	29,0	20,8	25,4	22,4	28,2
F8	PYDC1	34,3	ND	ND	ND	31,7	ND	ND	ND	31,4	ND	ND	ND	34,5	ND	ND	31,8
F9	RELA	22,9	28,9	29,7	29,8	26,8	22,3	25,5	25,3	30,0	26,3	28,0	27,1	17,4	25,9	20,6	25,8
F10	RIPK1	27,9	ND	ND	ND	ND	29,7	32,9	ND	ND	ND	ND	ND	24,6	ND	27,0	30,9
F11	SPP1	22,4	30,4	29,1	ND	27,7	25,4	24,8	28,2	31,8	ND	31,1	29,0	21,2	26,7	21,4	29,5
F12	STAT1	18,0	ND	ND	29,7	ND	22,5	24,7	ND	28,7	37,2	ND	ND	17,3	ND	19,4	27,9

**Tabela 8** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (CT's individuais de controles e pacientes com ICV) (conclusão)

	Genes	CTRL 11	CTRL 26	CTRL 33	CTRL 6	CTRL 30	CTRL 11	CTRL 26	CTRL 33	ICV 8	ICV 2	ICV 9	ICV 10	ICV 8	ICV 2	ICV 9	ICV 10 ADV +
	Genes	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	HCoV	HCoV	Flu A	HRV	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Flu A	Flu A	PIV4	HCoV
G1	SUGT1	29,2	ND	ND	ND	28,4	ND	32,3	26,3	30,9	34,1	32,8	ND	25,9	29,8	26,0	32,0
G2	TBK1	24,7	30,2	29,3	31,5	26,1	29,7	29,9	25,6	29,6	29,9	30,9	28,8	25,6	25,2	24,2	32,2
G3	TICAM1	25,2	ND	ND	31,2	ND	28,0	29,9	28,5	31,9	30,4	35,0	30,3	23,5	28,7	24,9	29,3
G4	TLR3	31,2	33,0	ND	33,4	30,0	29,8	31,1	ND	ND	ND	ND	ND	29,6	31,6	28,9	33,2
G5	TLR7	31,2	ND	ND	ND	ND	33,3	ND	31,1	ND	ND	ND	ND	29,5	ND	26,8	ND
G6	TLR8	25,3	ND	ND	32,8	30,5	31,8	34,7	29,8	32,0	ND	ND	30,5	24,8	30,3	24,6	ND
G7	TLR9	30,9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	31,0	ND	33,1	34,9
G8	TNF	21,5	ND	ND	31,3	ND	23,9	26,1	34,7	24,6	ND	ND	ND	17,4	ND	19,3	26,5
G9	TRADD	26,1	ND	ND	33,3	ND	ND	31,6	ND	ND	ND	ND	ND	22,6	ND	25,0	34,5
G10	TRAF3	23,4	30,3	28,6	ND	27,3	25,2	26,1	27,6	29,6	28,4	31,3	28,0	19,9	26,8	22,2	26,9
G11	TRAF6	26,9	ND	ND	ND	ND	31,6	33,6	ND	ND	ND	ND	ND	25,8	ND	27,1	32,2
G12	TRIM25	17,9	28,3	29,7	33,1	27,2	26,8	27,1	24,7	28,0	27,9	29,4	25,3	21,7	24,3	22,3	31,1
H1	ACTB	16,1	26,0	27,4	24,2	22,3	21,6	20,2	21,8	24,4	22,8	23,8	22,0	15,0	20,9	15,4	27,5
H2	B2M	30,4	ND	ND	ND	ND	32,1	34,0	ND	34,6	ND	ND	ND	25,8	ND	26,8	32,3
Н3	GAPDH	22,4	ND	ND	29,3	ND	23,7	27,7	ND	28,0	36,0	ND	ND	21,0	ND	22,8	27,9
H4	HPRT1	20,7	ND	ND	29,0	ND	24,9	26,4	ND	25,1	ND	ND	ND	20,5	ND	20,6	ND
Н5	RPLP0	18,7	ND	ND	26,6	ND	23,9	24,2	ND	26,0	36,6	ND	ND	16,6	34,8	17,8	31,7
Н6	HGDC	31,4	ND	ND	ND	ND	ND	30,6	ND	32,8	ND	32,4	ND	29,5	ND	33,6	ND
Н7	RTC	31,6	23,3	23,2	31,5	23,6	30,9	30,9	23,7	33,2	22,6	23,8	23,5	24,4	24,0	31,5	33,4
Н8	RTC	30,9	23,3	23,3	29,4	23,7	27,8	30,9	23,6	33,4	22,6	24,0	23,5	24,3	23,9	31,3	32,2
Н9	RTC	31,7	23,4	23,4	30,4	23,6	29,8	30,8	23,7	ND	22,6	23,8	23,4	24,4	23,8	31,2	32,6
H10	PPC	19,1	18,9	19,3	18,7	19,7	19,2	19,5	19,6	19,2	17,6	19,9	19,1	20,2	19,6	19,7	18,6
H11	PPC	19,8	19,1	19,6	18,9	19,6	ND	19,3	19,6	19,7	18,4	19,7	18,9	20,5	19,6	19,8	18,6
H12	PPC	15,7	19,8	20,1	18,8	19,5	18,8	20,1	19,7	19,5	18,6	20,4	20,0	20,4	20,1	19,7	18,6

rt-PCR: PCR em tempo real; CT: Cycle threshold; ICV: Imunodeficiência Comum Variável; CTRL: Indivíduos controle.

Negativo: Ausência de vírus; HCoV: Coronavírus; Flu A: Influenza A; HRV: Rinovírus; PIV4: Parainfluenza 4; ADV: Adenovírus.

ND: Não detectável.

Cor Rosa - Genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral.

Cor amarela - Genes housekeeping.

Cor Verde - HGDC: controle de contaminação de DNA genômico; RTC: controles de atividade da transcrição reversa; PPC: controles positivos de amplificação PCR.

**Tabela 9** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's individuais de controles e pacientes com ICV com os cálculos de média e desvio padrão dos Delta CT's)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV	Média	DP
A1	AIM2	5,4	NA	NA	NA	5,0	5,1	5,2	4,2	3,1	6,6	7,7	7,5	3,6	-0,6	4,9	1,3	4,6	2,33
A2	APOBEC3G	8,7	NA	NA	NA	10,3	6,4	8,7	7,5	NA	NA	NA	10,9	9,1	4,9	5,4	5,7	7,8	2,10
A3	ATG5	6,1	NA	NA	2,9	NA	4,6	5,4	9,1	5,6	6,5	NA	8,9	6,1	NA	4,7	-1,2	5,3	2,82
A4	AZI2	11,2	NA	NA	NA	NA	8,9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7,5	NA	8,3	5,8	8,3	1,97
<b>A5</b>	CARD9	10,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6,3	NA	NA	NA	8,7	NA	12,6	2,9	8,2	3,82
A6	CASP1	2,5	NA	NA	NA	11,0	3,5	1,4	10,5	-2,5	NA	NA	NA	2,0	5,0	1,9	0,3	3,6	4,26
A7	CASP10	11,4	NA	NA	NA	NA	9,1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9,7	NA	10,7	4,5	9,1	2,70
A8	CASP8	8,4	NA	NA	NA	NA	10,9	NA	NA	7,1	NA	NA	NA	10,1	NA	11,6	2,2	8,4	3,46
A9	CCL3	1,8	NA	NA	NA	NA	-0,4	0,7	12,4	8,7	NA	NA	NA	-0,5	NA	-0,1	-1,7	2,6	5,09
A10	CCL5	8,1	NA	NA	NA	NA	5,2	5,8	NA	NA	NA	NA	NA	5,1	NA	6,9	NA	6,2	1,28
A11	CD40	6,9	5,1	3,7	NA	6,3	2,9	3,3	4,4	5,2	NA	NA	NA	5,8	1,3	3,1	-0,1	4,0	2,06
A12	CD80	6,4	NA	NA	NA	NA	11,0	9,2	NA	NA	NA	NA	NA	8,2	NA	7,0	3,4	7,5	2,62
B1	CD86	6,4	NA	NA	NA	9,9	9,5	7,1	7,3	8,8	NA	NA	NA	6,4	3,4	4,0	2,5	6,5	2,56
B2	CHUK	6,1	NA	NA	NA	NA	6,6	8,0	NA	1,7	NA	NA	NA	8,0	NA	7,0	NA	6,2	2,33
В3	CTSB	3,4	NA	NA	2,8	NA	1,2	0,2	NA	-1,3	NA	NA	NA	4,9	NA	-0,5	-1,3	1,2	2,30
B4	CTSL1	14,4	NA	NA	5,5	NA	9,3	NA	NA	4,1	NA	NA	NA	14,3	NA	12,1	0,5	8,6	5,39
B5	CTSS	1,6	3,7	3,3	-0,8	5,5	2,5	0,8	4,0	1,2	5,1	5,0	4,4	1,7	-2,6	0,0	1,8	2,3	2,29
В6	CXCL10	6,8	NA	NA	NA	2,1	-0,4	-0,6	0,1	4,1	8,9	NA	10,8	2,7	-2,7	-3,6	2,0	2,5	4,46
В7	CXCL11	11,3	NA	3,9	NA	7,2	3,2	5,1	4,6	NA	NA	NA	NA	5,7	2,8	0,8	NA	5,0	3,02
B8	CXCL9	13,1	NA	NA	NA	NA	4,7	4,6	NA	NA	NA	NA	NA	4,4	NA	0,8	3,1	5,1	4,20
В9	CYLD	8,6	NA	NA	NA	NA	7,1	8,6	NA	5,7	NA	NA	NA	6,2	NA	8,3	0,2	6,4	2,96
B10	DAK	8,8	NA	NA	NA	NA	9,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	10,2	NA	11,3	1,5	8,2	3,86
B11	DDX3X	3,5	NA	NA	1,3	NA	3,9	5,2	NA	-1,5	NA	NA	NA	2,6	NA	3,9	2,5	2,7	2,06
B12	DDX58	1,2	5,7	3,9	4,5	3,6	NA	3,3	-1,0	1,6	7,3	6,9	NA	0,7	-4,1	4,3	1,4	2,8	3,10

**Tabela 9** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's individuais de controles e pacientes com ICV com os cálculos de média e desvio padrão dos Delta CT's) (continuação)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV	Média	DP
<b>C1</b>	DHX58	9,9	NA	NA	-3,4	8,8	5,2	9,9	4,5	NA	NA	NA	NA	3,8	2,9	6,5	2,6	5,1	4,03
C2	FADD	10,6	NA	NA	NA	8,1	9,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9,2	NA	10,5	2,3	8,4	3,11
С3	FOS	-2,5	-2,4	-1,3	-2,3	1,2	-1,4	-4,2	0,8	-0,4	0,2	0,1	0,3	-1,0	-6,1	-0,4	-0,8	-1,3	1,91
<b>C4</b>	HSP90AA 1	1,5	NA	NA	0,5	NA	-0,5	-1,0	NA	-1,7	NA	NA	NA	1,9	NA	-0,7	-0,4	-0,1	1,24
<b>C5</b>	IFIH1	5,1	NA	NA	NA	3,8	3,5	4,2	3,0	3,6	7,5	6,2	8,0	0,9	-1,8	2,8	2,7	3,8	2,60
С6	IFNA1	NA	NA	NA	NA	NA	8,2	5,5	NA	NA	NA	NA	NA	11,2	NA	8,4	-0,6	6,5	4,47
<b>C7</b>	IFNA2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14,6	NA	12,4	NA	13,5	1,60
C8	IFNAR1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8,4	NA	NA	NA	7,2	NA	15,7	4,7	9,0	4,76
С9	IFNB1	11,0	NA	NA	1,5	NA	6,7	4,1	NA	3,2	NA	NA	NA	10,3	NA	7,0	-1,5	5,3	4,30
C10	IKBKB	7,7	NA	NA	NA	NA	6,4	7,1	NA	5,3	NA	NA	NA	7,4	NA	8,1	4,8	6,7	1,26
C11	IL12A	11,3	NA	NA	NA	NA	6,5	6,8	NA	7,0	NA	NA	10,5	10,4	NA	9,4	-0,2	7,7	3,72
C12	IL12B	15,1	NA	NA	6,5	NA	NA	10,0	NA	7,2	NA	NA	NA	11,8	NA	14,3	-0,3	9,2	5,32
D1	IL15	7,7	5,7	NA	6,4	4,8	3,6	3,8	2,1	4,4	9,5	8,7	9,7	7,2	-2,1	3,7	0,6	5,1	3,32
D2	IL18	7,1	NA	NA	NA	NA	8,3	7,6	NA	6,4	NA	NA	NA	5,4	NA	6,7	3,9	6,5	1,48
D3	IL1B	0,2	NA	NA	1,7	NA	0,0	1,9	NA	0,3	NA	NA	NA	0,9	NA	1,0	1,7	0,9	0,75
<b>D4</b>	IL6	6,1	NA	NA	NA	NA	8,6	10,0	NA	8,6	NA	NA	NA	7,3	NA	5,4	5,9	7,4	1,71
<b>D5</b>	IL8	-4,1	-3,1	-3,8	-5,6	-0,6	0,7	-5,8	2,6	-4,4	-1,0	-2,5	-3,0	-1,1	-7,4	-0,4	0,1	-2,5	2,68
D6	IRAK1	8,3	NA	3,5	NA	NA	7,2	NA	8,7	NA	NA	NA	10,5	6,2	2,1	8,7	7,2	7,0	2,65
<b>D7</b>	IRF3	5,4	4,8	-0,6	3,2	2,9	2,7	4,5	1,5	2,1	6,6	7,2	6,8	4,8	-2,8	5,9	-0,5	3,4	2,93
D8	IRF5	7,2	NA	3,0	NA	8,5	4,4	4,2	7,0	4,8	11,6	7,6	NA	6,6	1,2	5,3	0,5	5,5	3,05
D9	IRF7	4,8	NA	NA	NA	NA	1,4	4,1	NA	6,0	NA	NA	NA	-0,2	NA	4,1	NA	3,4	2,31
D10	ISG15	1,9	NA	NA	NA	11,0	-1,3	1,3	7,1	0,2	NA	NA	NA	-2,8	6,6	-0,5	-1,6	2,2	4,52
D11	JUN	7,9	6,8	3,9	NA	9,6	7,6	6,9	6,7	NA	11,0	8,4	8,1	6,6	1,7	6,5	4,4	6,9	2,35
D12	MAP2K1	4,1	NA	NA	NA	NA	8,6	9,5	NA	7,3	NA	NA	NA	7,6	NA	7,8	4,7	7,1	1,98

**Tabela 9** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's individuais de controles e pacientes com ICV com os cálculos de média e desvio padrão dos Delta CT's) (continuação)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV	Média	DP
E1	MAP2K3	3,9	NA	NA	2,4	NA	2,2	3,5	NA	4,2	NA	NA	NA	1,7	NA	5,9	-0,6	2,9	1,97
E2	MAP3K1	6,6	NA	NA	NA	NA	9,3	6,9	NA	NA	NA	NA	NA	8,0	NA	6,1	1,8	6,5	2,54
E3	MAP3K7	6,4	NA	NA	5,0	NA	4,9	3,9	NA	4,0	NA	NA	NA	7,5	NA	4,9	0,8	4,7	1,97
E4	MAPK1	3,0	1,9	NA	NA	5,8	3,1	1,9	5,4	1,2	4,6	6,0	4,9	5,0	-1,5	3,4	-0,3	3,2	2,30
E5	MAPK14	4,5	4,9	NA	3,2	7,8	4,9	3,0	7,2	5,6	6,7	6,2	7,0	3,5	0,0	5,2	1,1	4,7	2,25
Е6	марк3	7,1	NA	NA	6,6	NA	6,4	9,7	NA	7,3	NA	NA	NA	7,5	NA	9,5	2,1	7,0	2,34
E7	марк8	7,5	NA	NA	3,5	9,8	5,7	6,8	8,0	NA	8,9	NA	10,4	6,9	3,4	6,6	NA	7,0	2,27
E8	MAVS	9,4	NA	4,5	NA	9,4	4,7	NA	8,3	NA	NA	NA	NA	9,2	4,2	8,4	0,7	6,5	3,11
E9	MEFV	8,8	NA	NA	NA	11,3	8,7	8,9	8,1	NA	NA	NA	10,9	3,5	3,8	9,7	NA	8,2	2,79
E10	MX1	3,7	3,1	2,1	6,6	2,5	1,9	3,5	-0,5	5,6	7,3	5,2	5,7	1,1	-4,2	1,6	-0,5	2,8	2,99
E11	MYD88	3,4	NA	NA	6,8	NA	2,5	2,4	NA	3,3	NA	NA	NA	2,4	NA	2,9	-0,4	2,9	1,98
E12	NFKB1	-0,1	NA	NA	3,3	NA	2,9	2,6	NA	-0,8	NA	NA	NA	2,6	NA	2,6	0,2	1,7	1,61
F1	NFKBIA	-0,5	NA	NA	-2,5	NA	0,3	0,0	NA	-3,4	NA	NA	NA	-1,4	NA	0,3	0,0	-0,9	1,40
F2	NLRP3	5,6	5,5	3,9	2,4	6,5	6,5	5,0	7,5	NA	9,0	7,7	5,7	6,3	-0,7	5,5	1,6	5,2	2,51
F3	NOD2	5,9	NA	NA	3,7	NA	6,3	3,7	NA	-0,9	NA	NA	NA	5,7	NA	5,2	NA	4,2	2,49
F4	OAS2	9,3	NA	NA	NA	11,2	4,5	6,4	7,1	NA	NA	NA	NA	3,1	3,7	5,3	2,7	5,9	2,88
F5	PIN1	4,6	NA	NA	4,9	NA	1,9	7,1	NA	2,1	NA	NA	NA	6,5	NA	4,1	0,5	3,9	2,30
F6	PSTPIP1	3,5	2,2	3,5	NA	2,7	3,3	1,8	2,4	4,2	3,1	3,1	3,9	3,2	-3,4	4,6	-1,5	2,4	2,15
F7	PYCARD	2,8	2,1	1,4	NA	5,2	2,3	3,7	2,8	0,9	6,1	4,2	7,0	2,5	-2,5	3,3	-0,9	2,7	2,48
F8	PYDC1	14,8	NA	NA	NA	9,4	NA	NA	NA	5,5	NA	NA	NA	16,2	NA	NA	2,7	9,7	5,79
F9	RELA	3,4	2,9	2,3	2,5	4,5	-1,2	0,9	3,5	4,1	3,5	4,2	5,1	-0,9	-2,0	1,5	-3,3	1,9	2,54
F10	RIPK1	8,4	NA	NA	NA	NA	6,2	8,3	NA	NA	NA	NA	NA	6,3	NA	7,9	1,8	6,5	2,50
F11	SPP1	2,9	4,4	1,7	NA	5,4	1,9	0,2	6,4	5,9	NA	7,3	7,0	2,9	-1,2	2,3	0,4	3,4	2,72
F12	STAT1	-1,5	NA	NA	2,4	NA	-1,0	0,1	NA	2,8	NA	NA	NA	-1,0	NA	0,3	-1,2	0,1	1,68

**Tabela 9** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's individuais de controles e pacientes com ICV com os cálculos de média e desvio padrão dos Delta CT's) (conclusão)

	Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV	Média	DP
G1	SUGT1	9,7	NA	NA	NA	6,1	NA	7,7	4,5	5,0	11,3	9,0	NA	7,6	1,9	6,9	2,9	6,6	2,90
G2	ТВК1	5,2	4,2	1,9	4,2	3,8	6,2	5,3	3,8	3,7	7,1	7,1	6,8	7,3	-2,7	5,1	3,1	4,5	2,50
G3	TICAM1	5,7	NA	NA	3,9	NA	4,5	5,3	6,7	6,0	7,6	11,2	8,3	5,2	0,8	5,8	0,2	5,5	2,89
G4	TLR3	11,7	7,0	NA	6,1	7,7	6,3	6,5	NA	NA	NA	NA	NA	11,3	3,7	9,8	4,1	7,4	2,75
G5	TLR7	11,7	NA	NA	NA	NA	9,8	NA	9,3	NA	NA	NA	NA	11,2	NA	7,7	NA	9,9	1,57
G6	TLR8	5,8	NA	NA	5,5	8,2	8,3	10,1	8,0	6,1	NA	NA	8,5	6,5	2,4	5,5	NA	6,8	2,09
<b>G7</b>	TLR9	11,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12,7	NA	14,0	5,8	11,0	3,60
G8	TNF	2,0	NA	NA	4,0	NA	0,4	1,5	12,9	-1,3	NA	NA	NA	-0,9	NA	0,2	-2,6	1,8	4,62
G9	TRADD	6,6	NA	NA	6,0	NA	NA	7,0	NA	NA	NA	NA	NA	4,3	NA	5,9	5,4	5,9	0,95
G10	TRAF3	3,9	4,3	1,2	NA	5,0	1,7	1,5	5,8	3,7	5,6	7,5	6,0	1,6	-1,1	3,1	-2,2	3,2	2,71
G11	TRAF6	7,4	NA	NA	NA	NA	8,1	9,0	NA	NA	NA	NA	NA	7,5	NA	8,0	3,1	7,2	2,08
G12	TRIM25	-1,6	2,3	2,3	5,8	4,9	3,3	2,5	2,9	2,1	5,1	5,6	3,3	3,4	-3,6	3,2	2,0	2,7	2,45
H1	АСТВ	16,1	26,0	27,4	24,2	22,3	21,6	20,2	21,8	24,4	22,8	23,8	22,0	15,0	20,9	15,4	27,5		
НЗ	GAPDH	22,4	NA	NA	29,3	NA	23,7	27,7	NA	28,0	NA	NA	NA	21,0	NA	22,8	27,9		
Н4	HPRT1	20,7	NA	NA	29,0	NA	24,9	26,4	NA	25,1	NA	NA	NA	20,5	NA	20,6	NA		
Н5	RPLP0	18,7	NA	NA	26,6	NA	23,9	24,2	NA	26,0	NA	NA	NA	16,6	34,8	17,8	31,7		
	HKGs sem B2M	19,5	26	27,4	27,3	22,3	23,5	24,6	21,8	25,9	22,8	23,8	22	18,3	27,9	19,1	29,1		

rt-PCR: PCR em tempo real; CT: Cycle threshold; ICV: Imunodeficiência Comum Variável; CTRL: Indivíduos controle; DP: Desvio Padrão.

Delta CT = CT – média dos HKGs (genes housekeeping).

Negativo: Ausência de vírus; HCoV: Coronavírus; Flu A: Influenza A; HRV: Rinovírus; PIV4: Parainfluenza 4; ADV: Adenovírus.

NA: Não aplicável.

Cor Rosa - Genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral.

Cor amarela - Genes housekeeping.

Cor Verde – Média dos genes *housekeeping* (ACTB + GAPDH + HPRT1 + RPLP0 / 4). B2M foi excluída do cálculo da média por ter sido indetectável ou por ter apresentado valores de CT elevados.

**Tabela 10** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's normalizados de controles e pacientes com ICV)

Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV
AIM2	0,37	NA	NA	NA	0,19	0,24	0,29	-0,15	-0,61	0,88	1,36	1,29	-0,39	-2,21	0,15	-1,41
APOBEC3G	0,43	NA	NA	NA	1,21	-0,63	0,42	-0,13	NA	NA	NA	1,51	0,65	-1,35	-1,14	-0,96
ATG5	0,28	NA	NA	-0,87	NA	-0,28	0,01	1,34	0,10	0,41	NA	1,25	0,28	NA	-0,22	-2,33
AZI2	1,43	NA	NA	NA	NA	0,31	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-0,44	NA	-0,01	-1,29
CARD9	0,67	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-0,52	NA	NA	NA	0,13	NA	1,13	-1,41
CASP1	-0,26	NA	NA	NA	1,74	-0,03	-0,51	1,63	-1,41	NA	NA	NA	-0,36	0,34	-0,38	-0,76
CASP10	0,84	NA	NA	NA	NA	0,02	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,22	NA	0,61	-1,69
CASP8	0,01	NA	NA	NA	NA	0,73	NA	NA	-0,38	NA	NA	NA	0,49	NA	0,94	-1,79
CCL3	-0,16	NA	NA	NA	NA	-0,59	-0,38	1,92	1,19	NA	NA	NA	-0,60	NA	-0,53	-0,86
CCL5	1,47	NA	NA	NA	NA	-0,80	-0,31	NA	NA	NA	NA	NA	-0,90	NA	0,53	NA
CD40	1,43	0,54	-0,13	NA	1,11	-0,52	-0,35	0,21	0,57	NA	NA	NA	0,88	-1,30	-0,43	-2,00
CD80	-0,43	NA	NA	NA	NA	1,33	0,64	NA	NA	NA	NA	NA	0,27	NA	-0,21	-1,59
CD86	-0,05	NA	NA	NA	1,32	1,17	0,21	0,31	0,90	NA	NA	NA	-0,06	-1,22	-1,00	-1,57
СНИК	-0,06	NA	NA	NA	NA	0,16	0,76	NA	-1,93	NA	NA	NA	0,75	NA	0,33	NA
CTSB	0,95	NA	NA	0,71	NA	0,01	-0,41	NA	-1,06	NA	NA	NA	1,61	NA	-0,72	-1,09
CTSL1	1,08	NA	NA	-0,57	NA	0,13	NA	NA	-0,84	NA	NA	NA	1,06	NA	0,65	-1,50
CTSS	-0,31	0,62	0,43	-1,37	1,39	0,07	-0,64	0,72	-0,50	1,22	1,15	0,89	-0,29	-2,13	-1,03	-0,22
CXCL10	0,96	NA	NA	NA	-0,09	-0,66	-0,70	-0,53	0,34	1,43	NA	1,86	0,05	-1,17	-1,36	-0,11
CXCL11	2,11	NA	-0,35	NA	0,75	-0,57	0,04	-0,13	NA	NA	NA	NA	0,25	-0,71	-1,39	NA
CXCL9	1,91	NA	NA	NA	NA	-0,09	-0,13	NA	NA	NA	NA	NA	-0,18	NA	-1,04	-0,47
CYLD	0,75	NA	NA	NA	NA	0,25	0,74	NA	-0,24	NA	NA	NA	-0,07	NA	0,65	-2,08
DAK	0,15	NA	NA	NA	NA	0,25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,52	NA	0,80	-1,73
DDX3X	0,39	NA	NA	-0,66	NA	0,62	1,23	NA	-2,04	NA	NA	NA	-0,04	NA	0,59	-0,10
DDX58	-0,51	0,93	0,36	0,53	0,26	NA	0,16	-1,24	-0,38	1,43	1,32	NA	-0,67	-2,23	0,48	-0,45

**Tabela 10** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's normalizados de controles e pacientes com ICV) (continuação)

Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV
DHX58	1,19	NA	NA	-2,10	0,93	0,03	1,19	-0,14	NA	NA	NA	NA	-0,31	-0,54	0,35	-0,60
FADD	0,72	NA	NA	NA	-0,09	0,39	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,25	NA	0,69	-1,95
FOS	-0,62	-0,61	-0,04	-0,54	1,31	-0,07	-1,55	1,10	0,44	0,74	0,71	0,82	0,15	-2,53	0,44	0,25
HSP90AA 1	1,22	NA	NA	0,47	NA	-0,37	-0,80	NA	-1,32	NA	NA	NA	1,57	NA	-0,52	-0,25
IFIH1	0,51	NA	NA	NA	-0,02	-0,11	0,15	-0,30	-0,09	1,41	0,93	1,60	-1,10	-2,16	-0,39	-0,44
IFNA1	NA	NA	NA	NA	NA	0,36	-0,22	NA	NA	NA	NA	NA	1,05	NA	0,41	-1,60
IFNA2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,71	NA	-0,71	NA
IFNAR1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-0,13	NA	NA	NA	-0,38	NA	1,42	-0,91
IFNB1	1,33	NA	NA	-0,88	NA	0,33	-0,28	NA	-0,48	NA	NA	NA	1,18	NA	0,40	-1,58
IKBKB	0,85	NA	NA	NA	NA	-0,26	0,33	NA	-1,12	NA	NA	NA	0,54	NA	1,15	-1,49
IL12A	0,97	NA	NA	NA	NA	-0,32	-0,24	NA	-0,19	NA	NA	0,75	0,72	NA	0,45	-2,14
IL12B	1,10	NA	NA	-0,51	NA	NA	0,15	NA	-0,39	NA	NA	NA	0,49	NA	0,95	-1,79
IL15	0,81	0,20	NA	0,42	-0,07	-0,43	-0,37	-0,91	-0,20	1,33	1,09	1,40	0,65	-2,15	-0,41	-1,35
IL18	0,46	NA	NA	NA	NA	1,21	0,79	NA	-0,07	NA	NA	NA	-0,74	NA	0,13	-1,77
IL1B	-1,03	NA	NA	1,01	NA	-1,29	1,20	NA	-0,87	NA	NA	NA	-0,12	NA	0,07	1,02
IL6	-0,76	NA	NA	NA	NA	0,69	1,53	NA	0,67	NA	NA	NA	-0,08	NA	-1,16	-0,89
IL8	-0,60	-0,22	-0,51	-1,15	0,70	1,18	-1,24	1,88	-0,72	0,53	-0,01	-0,21	0,49	-1,86	0,75	0,97
IRAK1	0,51	NA	-1,29	NA	NA	0,11	NA	0,67	NA	NA	NA	1,33	-0,27	-1,82	0,67	0,08
IRF3	0,68	0,47	-1,38	-0,07	-0,16	-0,24	0,39	-0,65	-0,45	1,09	1,30	1,17	0,49	-2,13	0,84	-1,34
IRF5	0,56	NA	-0,84	NA	0,97	-0,38	-0,45	0,49	-0,25	2,01	0,69	NA	0,34	-1,43	-0,07	-1,64
IRF7	0,60	NA	NA	NA	NA	-0,85	0,33	NA	1,14	NA	NA	NA	-1,55	NA	0,33	NA
ISG15	-0,07	NA	NA	NA	1,94	-0,77	-0,20	1,09	-0,45	NA	NA	NA	-1,10	0,97	-0,59	-0,83
JUN	0,45	-0,01	-1,26	NA	1,17	0,30	0,02	-0,06	NA	1,75	0,64	0,54	-0,13	-2,21	-0,15	-1,06
MAP2K1	-1,53	NA	NA	NA	NA	0,76	1,20	NA	0,11	NA	NA	NA	0,28	NA	0,38	-1,19

**Tabela 10** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's normalizados de controles e pacientes com ICV) (continuação)

Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV
мар2К3	0,49	NA	NA	-0,26	NA	-0,37	0,33	NA	0,68	NA	NA	NA	-0,62	NA	1,54	-1,79
МАРЗК1	0,06	NA	NA	NA	NA	1,13	0,17	NA	NA	NA	NA	NA	0,60	NA	-0,13	-1,82
марзк7	0,88	NA	NA	0,18	NA	0,12	-0,42	NA	-0,35	NA	NA	NA	1,42	NA	0,13	-1,97
MAPK1	-0,07	-0,56	NA	NA	1,15	-0,04	-0,56	0,96	-0,84	0,63	1,22	0,73	0,80	-2,01	0,11	-1,51
MAPK14	-0,10	0,10	NA	-0,69	1,39	0,06	-0,77	1,11	0,39	0,88	0,66	1,01	-0,53	-2,10	0,21	-1,63
марк3	0,01	NA	NA	-0,18	NA	-0,26	1,16	NA	0,10	NA	NA	NA	0,18	NA	1,07	-2,09
марк8	0,19	NA	NA	-1,57	1,22	-0,59	-0,13	0,43	NA	0,82	NA	1,48	-0,06	-1,60	-0,19	NA
MAVS	0,91	NA	-0,65	NA	0,92	-0,60	NA	0,56	NA	NA	NA	NA	0,87	-0,73	0,61	-1,89
MEFV	0,23	NA	NA	NA	1,13	0,19	0,24	-0,03	NA	NA	NA	0,96	-1,69	-1,58	0,55	NA
MX1	0,31	0,10	-0,24	1,26	-0,08	-0,31	0,23	-1,09	0,93	1,51	0,80	0,98	-0,55	-2,34	-0,41	-1,09
MYD88	0,24	NA	NA	1,98	NA	-0,19	-0,26	NA	0,18	NA	NA	NA	-0,28	NA	0,00	-1,67
NFKB1	-1,12	NA	NA	1,03	NA	0,77	0,58	NA	-1,52	NA	NA	NA	0,58	NA	0,57	-0,89
NFKBIA	0,26	NA	NA	-1,15	NA	0,87	0,66	NA	-1,76	NA	NA	NA	-0,38	NA	0,85	0,65
NLRP3	0,15	0,11	-0,50	-1,13	0,54	0,54	-0,09	0,91	NA	1,51	1,00	0,19	0,43	-2,33	0,11	-1,44
NOD2	0,66	NA	NA	-0,21	NA	0,83	-0,21	NA	-2,07	NA	NA	NA	0,60	NA	0,39	NA
OAS2	1,17	NA	NA	NA	1,82	-0,50	0,16	0,42	NA	NA	NA	NA	-0,98	-0,76	-0,21	-1,12
PIN1	0,28	NA	NA	0,42	NA	-0,90	1,35	NA	-0,82	NA	NA	NA	1,10	NA	0,05	-1,49
PSTPIP1	0,52	-0,11	0,51	NA	0,10	0,38	-0,28	-0,03	0,81	0,32	0,30	0,69	0,34	-2,72	1,01	-1,83
PYCARD	0,04	-0,25	-0,56	NA	0,99	-0,16	0,39	0,04	-0,74	1,37	0,59	1,73	-0,08	-2,11	0,23	-1,48
PYDC1	0,88	NA	NA	NA	-0,05	NA	NA	NA	-0,73	NA	NA	NA	1,11	NA	NA	-1,21
RELA	0,56	0,37	0,16	0,24	1,00	-1,23	-0,40	0,62	0,85	0,60	0,90	1,25	-1,12	-1,55	-0,18	-2,07
RIPK1	0,77	NA	NA	NA	NA	-0,11	0,72	NA	NA	NA	NA	NA	-0,08	NA	0,58	-1,88
SPP1	-0,20	0,38	-0,63	NA	0,76	-0,55	-1,16	1,10	0,92	NA	1,43	1,34	-0,18	-1,69	-0,41	-1,11
STAT1	-0,96	NA	NA	1,39	NA	-0,68	-0,03	NA	1,62	NA	NA	NA	-0,64	NA	0,09	-0,79

**Tabela 10** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta CT's normalizados de controles e pacientes com ICV) (conclusão)

Genes	CTRL 11 Negativo	CTRL 26 Negativo	CTRL 33 Negativo	CTRL 6 Negativo	CTRL 30 HCoV	CTRL 11 HCoV	CTRL 26 Flu A	CTRL 33 HRV	ICV 8 Negativo	ICV 2 Negativo	ICV 9 Negativo	ICV 10 Negativo	ICV 8 Flu A	ICV 2 Flu A	ICV 9 PIV4	ICV 10 ADV +HCoV
SUGT1	1,06	NA	NA	NA	-0,19	NA	0,39	-0,74	-0,54	1,63	0,84	NA	0,35	-1,64	0,11	-1,29
TBK1	0,26	-0,14	-1,04	-0,12	-0,27	0,68	0,33	-0,27	-0,31	1,04	1,05	0,93	1,10	-2,88	0,22	-0,59
TICAM1	0,09	NA	NA	-0,55	NA	-0,32	-0,07	0,41	0,19	0,72	1,98	0,98	-0,11	-1,62	0,13	-1,82
TLR3	1,55	-0,13	NA	-0,48	0,09	-0,40	-0,33	NA	NA	NA	NA	NA	1,40	-1,37	0,88	-1,21
TLR7	1,10	NA	NA	NA	NA	-0,07	NA	-0,39	NA	NA	NA	NA	0,78	NA	-1,42	NA
TLR8	-0,50	NA	NA	-0,63	0,65	0,69	1,60	0,56	-0,33	NA	NA	0,82	-0,14	-2,10	-0,61	NA
TLR9	0,12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,48	NA	0,83	-1,44
TNF	0,05	NA	NA	0,48	NA	-0,31	-0,07	2,42	-0,67	NA	NA	NA	-0,59	NA	-0,35	-0,95
TRADD	0,78	NA	NA	0,13	NA	NA	1,20	NA	NA	NA	NA	NA	-1,63	NA	0,06	-0,53
TRAF3	0,26	0,40	-0,71	NA	0,68	-0,53	-0,63	0,96	0,18	0,91	1,60	1,04	-0,57	-1,58	-0,04	-1,97
TRAF6	0,08	NA	NA	NA	NA	0,42	0,88	NA	NA	NA	NA	NA	0,17	NA	0,40	-1,96
TRIM25	-1,75	-0,17	-0,18	1,27	0,89	0,22	-0,11	0,06	-0,25	0,98	1,19	0,24	0,27	-2,59	0,21	-0,29

rt-PCR: PCR em tempo real; CT: Cycle threshold; ICV: Imunodeficiência Comum Variável; CTRL: Indivíduos controle; DP: Desvio Padrão.

Delta CT = CT – média dos HKGs (genes housekeeping).

Delta CT normalizado = (Delta CT – Média dos Delta CT's) / Desvio Padrão.

Negativo: Ausência de vírus; HCoV: Coronavírus; Flu A: Influenza A; HRV: Rinovírus; PIV4: Parainfluenza 4; ADV: Adenovírus.

NA: Não aplicável.

Cor Rosa - Genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral.

**Tabela 11** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos indivíduos controle e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste)

Genes	ΔΔCt CTRL 11	ΔΔCt CTRL 26	ΔΔCt CTRL 33	ΔΔCt CTRL 30	2exp-ΔΔCt CTRL 11	2exp-ΔΔCt CTRL 26	2exp-ΔΔCt CTRL 33	2exp-ΔΔCt CTRL 30	Genes	Média FC	DP	t Teste
AIM2	-0,13	NA	NA	NA	1,10	NA	NA	NA	AIM2	NA	NA	NA
APOBEC3G	-1,06	NA	NA	NA	2,08	NA	NA	NA	APOBEC3G	NA	NA	NA
ATG5	-0,55	NA	NA	NA	1,47	NA	NA	NA	ATG5	NA	NA	NA
AZI2	-1,12	NA	NA	NA	2,18	NA	NA	NA	AZI2	NA	NA	NA
CARD9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CARD9	NA	NA	NA
CASP1	0,23	NA	NA	NA	0,85	NA	NA	NA	CASP1	NA	NA	NA
CASP10	-0,83	NA	NA	NA	1,77	NA	NA	NA	CASP10	NA	NA	NA
CASP8	0,72	NA	NA	NA	0,61	NA	NA	NA	CASP8	NA	NA	NA
CCL3	-0,43	NA	NA	NA	1,35	NA	NA	NA	CCL3	NA	NA	NA
CCL5	-2,27	NA	NA	NA	4,83	NA	NA	NA	CCL5	NA	NA	NA
CD40	-1,95	-0,89	0,33	NA	3,86	1,85	0,79	NA	CD40	2,17	1,56	0,33
CD80	1,75	NA	NA	NA	0,30	NA	NA	NA	CD80	NA	NA	NA
CD86	1,22	NA	NA	NA	0,43	NA	NA	NA	CD86	NA	NA	NA
CHUK	0,22	NA	NA	NA	0,86	NA	NA	NA	CHUK	NA	NA	NA
CTSB	-0,94	NA	NA	NA	1,92	NA	NA	NA	CTSB	NA	NA	NA
CTSL1	-0,95	NA	NA	NA	1,94	NA	NA	NA	CTSL1	NA	NA	NA
CTSS	0,38	-1,27	0,29	2,77	0,77	2,40	0,82	0,15	CTSS	1,03	0,96	0,56
CXCL10	-1,62	NA	NA	NA	3,07	NA	NA	NA	CXCL10	NA	NA	NA
CXCL11	-2,69	NA	0,23	NA	6,43	NA	0,85	NA	CXCL11	NA	NA	NA
CXCL9	-2,00	NA	NA	NA	4,00	NA	NA	NA	CXCL9	NA	NA	NA
CYLD	-0,50	NA	NA	NA	1,42	NA	NA	NA	CYLD	NA	NA	NA
DAK	0,10	NA	NA	NA	0,94	NA	NA	NA	DAK	NA	NA	NA
DDX3X	0,23	NA	NA	NA	0,85	NA	NA	NA	DDX3X	NA	NA	NA
DDX58	NA	-0,77	-1,60	-0,28	NA	1,71	3,03	1,21	DDX58	1,98	0,94	0,15
DHX58	-1,16	NA	NA	3,03	2,23	NA	NA	0,12	DHX58	NA	NA	NA
FADD	-0,33	NA	NA	NA	1,26	NA	NA	NA	FADD	NA	NA	NA
FOS	0,55	-0,94	1,14	1,84	0,68	1,91	0,45	0,28	FOS	0,83	0,74	0,35
HSP90AA1	-1,59	NA	NA	NA	3,01	NA	NA	NA	HSP90AA1	NA	NA	NA

**Tabela 11** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos indivíduos controle e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste) (continuação)

C	ΔΔCt	ΔΔCt CTRL	ΔΔCt CTRL	ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt	C	M/ H- FC	DD	. To stee
Genes	CTRL 11	26	33	30	· 11	26	33	CTRL 30	Genes	Média FC	DP	t Teste
IFIH1	-0,62	NA	NA	NA	1,54	NA	NA	NA	IFIH1	NA	NA	NA
IFNA1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA1	NA	NA	NA
IFNA2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA2	NA	NA	NA
IFNAR1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNAR1	NA	NA	NA
IFNB1	-1,00	NA	NA	NA	2,00	NA	NA	NA	IFNB1	NA	NA	NA
IKBKB	-1,10	NA	NA	NA	2,15	NA	NA	NA	IKBKB	NA	NA	NA
IL12A	-1,29	NA	NA	NA	2,45	NA	NA	NA	IL12A	NA	NA	NA
IL12B	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IL12B	NA	NA	NA
IL15	-1,24	-0,58	NA	-0,49	2,36	1,49	NA	1,41	IL15	1,75	0,53	0,08
IL18	0,75	NA	NA	NA	0,59	NA	NA	NA	IL18	NA	NA	NA
IL1B	-0,26	NA	NA	NA	1,20	NA	NA	NA	IL1B	NA	NA	NA
IL6	1,45	NA	NA	NA	0,37	NA	NA	NA	IL6	NA	NA	NA
IL8	1,77	-1,02	2,39	1,85	0,29	2,02	0,19	0,28	IL8	0,70	0,89	0,20
IRAK1	-0,40	NA	1,96	NA	1,32	NA	0,26	NA	IRAK1	NA	NA	NA
IRF3	-0,92	-0,08	0,73	-0,09	1,89	1,06	0,60	1,06	IRF3	1,15	0,54	0,81
IRF5	-0,94	NA	1,34	NA	1,92	NA	0,40	NA	IRF5	NA	NA	NA
IRF7	-1,46	NA	NA	NA	2,75	NA	NA	NA	IRF7	NA	NA	NA
ISG15	-0,71	NA	NA	NA	1,63	NA	NA	NA	ISG15	NA	NA	NA
JUN	-0,15	0,04	1,20	NA	1,11	0,97	0,44	NA	JUN	0,84	0,36	0,48
MAP2K1	2,29	NA	NA	NA	0,20	NA	NA	NA	MAP2K1	NA	NA	NA
MAP2K3	-0,86	NA	NA	NA	1,81	NA	NA	NA	MAP2K3	NA	NA	NA
MAP3K1	1,07	NA	NA	NA	0,48	NA	NA	NA	MAP3K1	NA	NA	NA
MAP3K7	-0,76	NA	NA	NA	1,69	NA	NA	NA	MAP3K7	NA	NA	NA
MAPK1	0,02	0,00	NA	NA	0,99	1,00	NA	NA	MAPK1	NA	NA	NA
MAPK14	0,16	-0,86	NA	2,08	0,90	1,82	NA	0,24	MAPK14	0,98	0,79	0,65
МАРК3	-0,28	NA	NA	NA	1,21	NA	NA	NA	МАРК3	NA	NA	NA
МАРК8	-0,78	NA	NA	2,79	1,72	NA	NA	0,14	МАРК8	NA	NA	NA
MAVS	-1,51	NA	1,21	NA	2,84	NA	0,43	NA	MAVS	NA	NA	NA

**Tabela 11** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos indivíduos controle e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste) (conclusão)

C	ΔΔCt	ΔΔCt CTRL	ΔΔCt CTRL	ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt CTRL	2exp-ΔΔCt	2exp-ΔΔCt	C	M/di- PC	DD	1 T1-
Genes	CTRL 11	26	33	30	11	26	CTRL 33	CTRL 30	Genes	Média FC	DP	t Teste
MEFV	-0,05	NA	NA	NA	1,03	NA	NA	NA	MEFV	NA	NA	NA
MX1	-0,61	0,14	-0,85	-1,34	1,53	0,91	1,80	2,54	MX1	1,70	0,68	0,12
MYD88	-0,42	NA	NA	NA	1,34	NA	NA	NA	MYD88	NA	NA	NA
NFKB1	1,89	NA	NA	NA	0,27	NA	NA	NA	NFKB1	NA	NA	NA
NFKBIA	0,61	NA	NA	NA	0,66	NA	NA	NA	NFKBIA	NA	NA	NA
NLRP3	0,39	-0,19	1,40	1,66	0,76	1,14	0,38	0,32	NLRP3	0,65	0,38	0,16
NOD2	0,16	NA	NA	NA	0,89	NA	NA	NA	NOD2	NA	NA	NA
OAS2	-1,68	NA	NA	NA	3,20	NA	NA	NA	OAS2	NA	NA	NA
PIN1	-1,18	NA	NA	NA	2,26	NA	NA	NA	PIN1	NA	NA	NA
PSTPIP1	-0,13	-0,17	-0,55	NA	1,10	1,12	1,46	NA	PSTPIP1	1,23	0,20	0,17
PYCARD	-0,20	0,63	0,60	NA	1,15	0,64	0,66	NA	PYCARD	0,82	0,28	0,33
PYDC1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	PYDC1	NA	NA	NA
RELA	-1,79	-0,77	0,46	0,76	3,46	1,71	0,73	0,59	RELA	1,62	1,32	0,61
RIPK1	-0,88	NA	NA	NA	1,84	NA	NA	NA	RIPK1	NA	NA	NA
SPP1	-0,36	-1,55	1,74	NA	1,28	2,92	0,30	NA	SPP1	1,50	1,32	0,96
STAT1	0,28	NA	NA	NA	0,82	NA	NA	NA	STAT1	NA	NA	NA
SUGT1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	SUGT1	NA	NA	NA
TBK1	0,42	0,48	0,77	-0,15	0,75	0,72	0,59	1,11	TBK1	0,79	0,22	0,14
TICAM1	-0,41	NA	NA	NA	1,33	NA	NA	NA	TICAM1	NA	NA	NA
TLR3	-1,95	-0,19	NA	0,57	3,85	1,14	NA	0,67	TLR3	1,89	1,72	0,55
TLR7	-1,17	NA	NA	NA	2,25	NA	NA	NA	TLR7	NA	NA	NA
TLR8	1,19	NA	NA	1,28	0,44	NA	NA	0,41	TLR8	NA	NA	NA
TLR9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR9	NA	NA	NA
TNF	-0,35	NA	NA	NA	1,28	NA	NA	NA	TNF	NA	NA	NA
TRADD	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TRADD	NA	NA	NA
TRAF3	-0,79	-1,03	1,67	NA	1,73	2,04	0,31	NA	TRAF3	1,36	0,92	0,96
TRAF6	0,34	NA	NA	NA	0,79	NA	NA	NA	TRAF6	NA	NA	NA
TRIM25	1,97	0,06	0,24	-0,39	0,25	0,96	0,85	1,31	TRIM25	0,84	0,44	0,43

rt-PCR: PCR em tempo real; CT: Cycle threshold; CTRL: Indivíduos controle; FC: Fold change; DP: Desvio Padrão.

ΔΔCt: Delta Delta CT (Subtração: Delta CT com vírus – Delta CT sem vírus). Realizado de forma pareada.

2exp- $\Delta\Delta$ Ct: FC (2- $\Delta\Delta$ Ct).

NA: Não aplicável.Cor Rosa - Genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral.

**Tabela 12** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos pacientes com ICV e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste)

Genes	ΔΔCt ICV 2	ΔΔCt ICV 8	ΔΔCt ICV 9	<b>ΔΔCt ICV 10</b>	2exp-ΔΔCt ICV 2	2exp-ΔΔCt ICV 8	2exp-ΔΔCt ICV 9	2exp-ΔΔCt ICV 10	Genes	Média FC	DP	t Teste
AIM2	-3,09	0,22	-1,20	-2,70	8,49	0,86	2,30	6,48	AIM2	4,53	3,56	0,111
APOBEC3G	NA	NA	NA	-2,48	NA	NA	NA	5,56	APOBEC3G	NA	NA	NA
ATG5	NA	0,18	NA	-3,58	NA	0,89	NA	11,96	ATG5	NA	NA	NA
AZI2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AZI2	NA	NA	NA
CARD9	NA	0,65	NA	NA	NA	0,64	NA	NA	CARD9	NA	NA	NA
CASP1	NA	1,05	NA	NA	NA	0,48	NA	NA	CASP1	NA	NA	NA
CASP10	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CASP10	NA	NA	NA
CASP8	NA	0,86	NA	NA	NA	0,55	NA	NA	CASP8	NA	NA	NA
CCL3	NA	-1,80	NA	NA	NA	3,47	NA	NA	CCL3	NA	NA	NA
CCL5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CCL5	NA	NA	NA
CD40	NA	0,32	NA	NA	NA	0,80	NA	NA	CD40	NA	NA	NA
CD80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CD80	NA	NA	NA
CD86	NA	-0,96	NA	NA	NA	1,94	NA	NA	CD86	NA	NA	NA
CHUK	NA	2,68	NA	NA	NA	0,16	NA	NA	CHUK	NA	NA	NA
CTSB	NA	2,67	NA	NA	NA	0,16	NA	NA	CTSB	NA	NA	NA
CTSL1	NA	1,90	NA	NA	NA	0,27	NA	NA	CTSL1	NA	NA	NA
CTSS	-3,35	0,21	-2,17	-1,11	10,20	0,87	4,51	2,16	CTSS	4,43	4,13	0,124
CXCL10	-2,60	-0,30	NA	-1,97	6,07	1,23	NA	3,91	CXCL10	3,74	2,43	0,142
CXCL11	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CXCL11	NA	NA	NA
CXCL9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CXCL9	NA	NA	NA
CYLD	NA	0,17	NA	NA	NA	0,89	NA	NA	CYLD	NA	NA	NA
DAK	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	DAK	NA	NA	NA
DDX3X	NA	2,00	NA	NA	NA	0,25	NA	NA	DDX3X	NA	NA	NA
DDX58	-3,67	-0,29	-0,84	NA	12,71	1,22	1,79	NA	DDX58	5,24	6,48	0,266
DHX58	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	DHX58	NA	NA	NA
FADD	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	FADD	NA	NA	NA
FOS	-3,27	-0,29	-0,26	-0,57	9,66	1,22	1,20	1,49	FOS	3,39	4,18	0,228
HSP90AA1	NA	2,88	NA	NA	NA	0,14	NA	NA	HSP90AA1	NA	NA	NA

**Tabela 12** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos pacientes com ICV e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste) (continuação)

Genes	ΔΔCt ICV 2	ΔΔCt ICV 8	ΔΔCt ICV 9	<b>ΔΔCt ICV 10</b>	2exp-ΔΔCt ICV 2	2exp-ΔΔCt ICV 8	2exp-ΔΔCt ICV 9	2exp-ΔΔCt ICV 10	Genes	Média FC	DP	t Teste
IFIH1	-3,57	-1,02	-1,32	-2,03	11,84	2,02	2,50	4,09	IFIH1	5,11	4,57	0,040
IFNA1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA1	NA	NA	NA
IFNA2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA2	NA	NA	NA
IFNAR1	NA	-0,25	NA	NA	NA	1,19	NA	NA	IFNAR1	NA	NA	NA
IFNB1	NA	1,66	NA	NA	NA	0,32	NA	NA	IFNB1	NA	NA	NA
IKBKB	NA	1,66	NA	NA	NA	0,32	NA	NA	IKBKB	NA	NA	NA
IL12A	NA	0,91	NA	-2,89	NA	0,53	NA	7,39	IL12A	NA	NA	NA
IL12B	NA	0,88	NA	NA	NA	0,54	NA	NA	IL12B	NA	NA	NA
IL15	-3,48	0,85	-1,50	-2,74	11,17	0,56	2,83	6,70	IL15	5,31	4,66	0,167
IL18	NA	-0,67	NA	NA	NA	1,59	NA	NA	IL18	NA	NA	NA
IL1B	NA	0,75	NA	NA	NA	0,60	NA	NA	IL1B	NA	NA	NA
IL6	NA	-0,74	NA	NA	NA	1,68	NA	NA	IL6	NA	NA	NA
IL8	-2,39	1,21	0,76	1,19	5,23	0,43	0,59	0,44	IL8	1,67	2,37	0,839
IRAK1	NA	NA	NA	-1,25	NA	NA	NA	2,38	IRAK1	NA	NA	NA
IRF3	-3,22	0,94	-0,46	-2,51	9,34	0,52	1,37	5,69	IRF3	4,23	4,09	0,262
IRF5	-3,44	0,59	-0,76	NA	10,87	0,66	1,69	NA	IRF5	4,41	5,62	0,416
IRF7	NA	-2,69	NA	NA	NA	6,43	NA	NA	IRF7	NA	NA	NA
ISG15	NA	-0,66	NA	NA	NA	1,57	NA	NA	ISG15	NA	NA	NA
JUN	-3,95	NA	-0,79	-1,60	15,48	NA	1,73	3,02	JUN	6,74	7,59	0,156
MAP2K1	NA	0,17	NA	NA	NA	0,89	NA	NA	MAP2K1	NA	NA	NA
MAP2K3	NA	-1,30	NA	NA	NA	2,46	NA	NA	MAP2K3	NA	NA	NA
MAP3K1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAP3K1	NA	NA	NA
MAP3K7	NA	1,76	NA	NA	NA	0,29	NA	NA	MAP3K7	NA	NA	NA
MAPK1	-2,64	1,64	-1,11	-2,25	6,23	0,32	2,16	4,74	MAPK1	3,36	2,63	0,341
MAPK14	-2,97	-0,92	-0,45	-2,64	7,85	1,89	1,36	6,23	MAPK14	4,33	3,20	0,068
марк3	NA	0,09	NA	NA	NA	0,94	NA	NA	МАРК3	NA	NA	NA
МАРК8	-2,42	NA	NA	NA	5,34	NA	NA	NA	МАРК8	NA	NA	NA
MAVS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAVS	NA	NA	NA

**Tabela 12** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (Delta Delta CT's e FC's dos valores normalizados dos pacientes com ICV e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste (conclusão)

Genes	ΔΔCt ICV 2	ΔΔCt ICV 8	ΔΔCt ICV 9	<b>ΔΔCt ICV 10</b>	2exp-ΔΔCt ICV 2	2exp-ΔΔCt ICV 8	2exp-ΔΔCt ICV 9	2exp-ΔΔCt ICV 10	Genes	Média FC	DP	t Teste
MEFV	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MEFV	NA	NA	NA
MX1	-3,85	-1,48	-1,21	-2,07	14,46	2,80	2,31	4,20	MX1	5,94	5,73	0,036
MYD88	NA	-0,46	NA	NA	NA	1,38	NA	NA	MYD88	NA	NA	NA
NFKB1	NA	2,10	NA	NA	NA	0,23	NA	NA	NFKB1	NA	NA	NA
NFKBIA	NA	1,38	NA	NA	NA	0,38	NA	NA	NFKBIA	NA	NA	NA
NLRP3	-3,84	NA	-0,89	-1,63	14,36	NA	1,86	3,10	NLRP3	6,44	6,89	0,139
NOD2	NA	2,67	NA	NA	NA	0,16	NA	NA	NOD2	NA	NA	NA
OAS2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	OAS2	NA	NA	NA
PIN1	NA	1,92	NA	NA	NA	0,26	NA	NA	PIN1	NA	NA	NA
PSTPIP1	-3,05	-0,47	0,71	-2,52	8,27	1,39	0,61	5,73	PSTPIP1	4,00	3,63	0,227
PYCARD	-3,48	0,66	-0,36	-3,21	11,19	0,63	1,28	9,24	PYCARD	5,59	5,41	0,220
PYDC1	NA	1,84	NA	NA	NA	0,28	NA	NA	PYDC1	NA	NA	NA
RELA	-2,15	-1,97	-1,08	-3,31	4,44	3,93	2,11	9,94	RELA	5,11	3,38	0,019
RIPK1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	RIPK1	NA	NA	NA
SPP1	NA	-1,11	-1,84	-2,45	NA	2,15	3,58	5,46	SPP1	3,73	1,66	0,044
STAT1	NA	-2,26	NA	NA	NA	4,77	NA	NA	STAT1	NA	NA	NA
SUGT1	-3,27	0,89	-0,73	NA	9,67	0,54	1,66	NA	SUGT1	3,96	4,98	0,482
TBK1	-3,93	1,41	-0,83	-1,52	15,20	0,38	1,78	2,87	TBK1	5,06	6,84	0,350
TICAM1	-2,34	-0,31	-1,86	-2,80	5,06	1,24	3,62	6,98	TICAM1	4,22	2,42	0,044
TLR3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR3	NA	NA	NA
TLR7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR7	NA	NA	NA
TLR8	NA	0,19	NA	NA	NA	0,88	NA	NA	TLR8	NA	NA	NA
TLR9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR9	NA	NA	NA
TNF	NA	0,08	NA	NA	NA	0,94	NA	NA	TNF	NA	NA	NA
TRADD	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TRADD	NA	NA	NA
TRAF3	-2,49	-0,76	-1,64	-3,01	5,61	1,69	3,12	8,04	TRAF3	4,61	2,80	0,028
TRAF6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TRAF6	NA	NA	NA
TRIM25	-3,56	0,52	-0,98	-0,53	11,83	0,70	1,97	1,44	TRIM25	3,98	5,25	0,281

rt-PCR: PCR em tempo real; CT: Cycle threshold; ICV: Imunodeficiência Comum Variável; FC: Fold change; DP: Desvio Padrão.

 $\Delta\Delta Ct: Delta\ CT\ (Subtração:\ Delta\ CT\ com\ vírus - Delta\ CT\ sem\ vírus).\ Realizado\ de\ forma\ pareada.$ 

2exp-ΔΔCt: FC  $(2^{-\Delta\Delta Ct})$ .

NA: Não aplicável.

Cor Rosa - Genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral.

**Tabela 13** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (FC's dos valores normalizados, média dos FC's e desvio padrão dos contoles e pacientes com ICV sem rinossinusite viral, e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste da comparação dos grupos)

Genes	2exp-ΔΔCt CTRL 11	2exp-ΔΔCt CTRL 26	2exp-ΔΔCt CTRL 33	2exp-ΔΔCt CTRL 6	Média FC CTRL	DP CTRL	Genes	2exp-ΔΔCt ICV 2	2exp-ΔΔCt ICV 8	2exp-ΔΔCt ICV 9	2exp-ΔΔCt ICV 10	Média FC ICV	DP ICV	Genes	FC	DP	t Teste
AIM2	0,77	NA	NA	NA	NA	NA	AIM2	0,54	1,53	0,39	0,41	0,72	0,54	AIM2	NA	NA	NA
APOBEC3G	0,74	NA	NA	NA	NA	NA	APOBEC3G	NA	NA	NA	0,35	NA	NA	APOBEC3G	NA	NA	NA
ATG5	0,82	NA	NA	1,82	NA	NA	ATG5	0,75	0,93	NA	0,42	NA	NA	ATG5	NA	NA	NA
AZI2	0,37	NA	NA	NA	NA	NA	AZI2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AZI2	NA	NA	NA
CARD9	0,63	NA	NA	NA	NA	NA	CARD9	NA	1,43	NA	NA	NA	NA	CARD9	NA	NA	NA
CASP1	1,20	NA	NA	NA	NA	NA	CASP1	NA	2,66	NA	NA	NA	NA	CASP1	NA	NA	NA
CASP10	0,56	NA	NA	NA	NA	NA	CASP10	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CASP10	NA	NA	NA
CASP8	0,99	NA	NA	NA	NA	NA	CASP8	NA	1,30	NA	NA	NA	NA	CASP8	NA	NA	NA
CCL3	1,12	NA	NA	NA	NA	NA	CCL3	NA	0,44	NA	NA	NA	NA	CCL3	NA	NA	NA
CCL5	0,36	NA	NA	NA	NA	NA	CCL5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CCL5	NA	NA	NA
CD40	0,37	0,69	1,09	NA	NA	NA	CD40	NA	0,68	NA	NA	NA	NA	CD40	NA	NA	NA
CD80	1,34	NA	NA	NA	NA	NA	CD80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CD80	NA	NA	NA
CD86	1,04	NA	NA	NA	NA	NA	CD86	NA	0,54	NA	NA	NA	NA	CD86	NA	NA	NA
СНИК	1,04	NA	NA	NA	NA	NA	CHUK	NA	3,81	NA	NA	NA	NA	СНИК	NA	NA	NA
CTSB	0,52	NA	NA	0,61	NA	NA	CTSB	NA	2,09	NA	NA	NA	NA	CTSB	NA	NA	NA
CTSL1	0,47	NA	NA	1,49	NA	NA	CTSL1	NA	1,80	NA	NA	NA	NA	CTSL1	NA	NA	NA
CTSS	1,24	0,65	0,74	2,59	1,31	0,90	CTSS	0,43	1,41	0,45	0,54	0,71	0,47	CTSS	0,54	0,53	0,21
CXCL10	0,52	NA	NA	NA	NA	NA	CXCL10	0,37	0,79	NA	0,28	NA	NA	CXCL10	NA	NA	NA
CXCL11	0,23	NA	1,28	NA	NA	NA	CXCL11	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CXCL11	NA	NA	NA
CXCL9	0,27	NA	NA	NA	NA	NA	CXCL9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CXCL9	NA	NA	NA
CYLD	0,59	NA	NA	NA	NA	NA	CYLD	NA	1,18	NA	NA	NA	NA	CYLD	NA	NA	NA
DAK	0,90	NA	NA	NA	NA	NA	DAK	NA	NA	NA	NA	NA	NA	DAK	NA	NA	NA
DDX3X	0,76	NA	NA	1,58	NA	NA	DDX3X	NA	4,11	NA	NA	NA	NA	DDX3X	NA	NA	NA
DDX58	1,43	0,52	0,78	0,69	0,85	0,40	DDX58	0,37	1,30	0,40	NA	0,69	0,53	DDX58	0,81	1,34	0,48
DHX58	0,44	NA	NA	4,29	NA	NA	DHX58	NA	NA	NA	NA	NA	NA	DHX58	NA	NA	NA
FADD	0,61	NA	NA	NA	NA	NA	FADD	NA	NA	NA	NA	NA	NA	FADD	NA	NA	NA
FOS	1,54	1,53	1,03	1,45	1,39	0,24	FOS	0,60	0,74	0,61	0,56	0,63	0,08	FOS	0,45	0,31	0,0004
HSP90AA1	0,43	NA	NA	0,72	NA	NA	HSP90AA1	NA	2,49	NA	NA	NA	NA	HSP90AA1	NA	NA	NA

**Tabela 13** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (FC's dos valores normalizados, média dos FC's e desvio padrão dos contoles e pacientes com ICV sem rinossinusite viral, e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste da comparação dos grupos) (continuação)

Genes	2exp-ΔΔCt CTRL 11	2exp-ΔΔCt CTRL 26	2exp-ΔΔCt CTRL 33	2exp-ΔΔCt CTRL 6	Média FC CTRL	DP CTRL	Genes	2exp-ΔΔCt ICV 2	2exp-ΔΔCt ICV 8	2exp-ΔΔCt ICV 9	2exp-ΔΔCt ICV 10	Média FC ICV	DP ICV	Genes	FC	DP	t Teste
IFIH1	0,70	NA	NA	NA	NA	NA	IFIH1	0,38	1,06	0,53	0,33	0,57	0,34	IFIH1	NA	NA	NA
IFNA1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA1	NA	NA	NA
IFNA2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNA2	NA	NA	NA
IFNAR1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	IFNAR1	NA	1,09	NA	NA	NA	NA	IFNAR1	NA	NA	NA
IFNB1	0,40	NA	NA	1,84	NA	NA	IFNB1	NA	1,40	NA	NA	NA	NA	IFNB1	NA	NA	NA
IKBKB	0,56	NA	NA	NA	NA	NA	IKBKB	NA	2,18	NA	NA	NA	NA	IKBKB	NA	NA	NA
IL12A	0,51	NA	NA	NA	NA	NA	IL12A	NA	1,14	NA	0,60	NA	NA	IL12A	NA	NA	NA
IL12B	0,47	NA	NA	1,43	NA	NA	IL12B	NA	1,31	NA	NA	NA	NA	IL12B	NA	NA	NA
IL15	0,57	0,87	NA	0,75	0,73	0,15	IL15	0,40	1,15	0,47	0,38	0,60	0,37	IL15	0,82	2,47	0,4
IL18	0,73	NA	NA	NA	NA	NA	IL18	NA	1,05	NA	NA	NA	NA	IL18	NA	NA	NA
IL1B	2,04	NA	NA	0,50	NA	NA	IL1B	NA	1,83	NA	NA	NA	NA	IL1B	NA	NA	NA
IL6	1,69	NA	NA	NA	NA	NA	IL6	NA	0,63	NA	NA	NA	NA	IL6	NA	NA	NA
IL8	1,51	1,17	1,42	2,22	1,58	0,45	IL8	0,69	1,64	1,00	1,16	1,12	0,40	IL8	0,71	0,88	0,16
IRAK1	0,70	NA	2,44	NA	NA	NA	IRAK1	NA	NA	NA	0,40	NA	NA	IRAK1	NA	NA	NA
IRF3	0,62	0,72	2,61	1,05	1,25	0,92	IRF3	0,47	1,36	0,41	0,45	0,67	0,46	IRF3	0,54	0,50	0,2
IRF5	0,68	NA	1,80	NA	NA	NA	IRF5	0,25	1,19	0,62	NA	NA	NA	IRF5	NA	NA	NA
IRF7	0,66	NA	NA	NA	NA	NA	IRF7	NA	0,45	NA	NA	NA	NA	IRF7	NA	NA	NA
ISG15	1,05	NA	NA	NA	NA	NA	ISG15	NA	1,36	NA	NA	NA	NA	ISG15	NA	NA	NA
JUN	0,73	1,01	2,39	NA	1,38	0,89	JUN	0,30	NA	0,64	0,69	0,54	0,21	JUN	0,39	0,24	0,12
MAP2K1	2,89	NA	NA	NA	NA	NA	MAP2K1	NA	0,93	NA	NA	NA	NA	MAP2K1	NA	NA	NA
MAP2K3	0,71	NA	NA	1,20	NA	NA	MAP2K3	NA	0,62	NA	NA	NA	NA	MAP2K3	NA	NA	NA
MAP3K1	0,96	NA	NA	NA	NA	NA	MAP3K1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAP3K1	NA	NA	NA
MAP3K7	0,54	NA	NA	0,88	NA	NA	MAP3K7	NA	1,27	NA	NA	NA	NA	MAP3K7	NA	NA	NA
MAPK1	1,05	1,48	NA	NA	NA	NA	MAPK1	0,65	1,79	0,43	0,60	0,87	0,62	MAPK1	NA	NA	NA
MAPK14	1,07	0,94	NA	1,61	1,20	0,36	MAPK14	0,54	0,76	0,63	0,50	0,61	0,12	MAPK14	0,51	0,33	0,01
МАРК3	0,99	NA	NA	1,13	NA	NA	MAPK3	NA	0,94	NA	NA	NA	NA	MAPK3	NA	NA	NA
МАРК8	0,88	NA	NA	2,98	NA	NA	MAPK8	0,57	NA	NA	0,36	NA	NA	MAPK8	NA	NA	NA
MAVS	0,53	NA	1,57	NA	NA	NA	MAVS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAVS	NA	NA	NA

**Tabela 13** – Análise por rt-PCR dos 84 genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral (FC's dos valores normalizados, média dos FC's e desvio padrão dos contoles e pacientes com ICV sem rinossinusite viral, e cálculo das médias dos FC's, desvio padrão e t Teste da comparação dos grupos) (conclusão)

Genes	2exp-ΔΔCt CTRL 11	2exp-ΔΔCt CTRL 26	2exp-ΔΔCt CTRL 33	2exp-ΔΔCt CTRL 6	Média FC CTRL	DP CTRL	Genes	2exp-ΔΔCt ICV 2	2exp-ΔΔCt ICV 8	2exp-ΔΔCt ICV 9	2exp-ΔΔCt ICV 10	Média FC ICV	DP ICV	Genes	FC	DP	t Teste
MEFV	0,85	NA	NA	NA	NA	NA	MEFV	NA	NA	NA	0,51	NA	NA	MEFV	NA	NA	NA
MX1	0,81	0,93	1,18	0,42	0,84	0,32	MX1	0,35	0,52	0,58	0,51	0,49	0,10	MX1	0,59	0,30	0,1
MYD88	0,85	NA	NA	0,25	NA	NA	MYD88	NA	0,88	NA	NA	NA	NA	MYD88	NA	NA	NA
NFKB1	2,17	NA	NA	0,49	NA	NA	NFKB1	NA	2,87	NA	NA	NA	NA	NFKB1	NA	NA	NA
NFKBIA	0,83	NA	NA	2,22	NA	NA	NFKBIA	NA	3,40	NA	NA	NA	NA	NFKBIA	NA	NA	NA
NLRP3	0,90	0,93	1,41	2,18	1,36	0,60	NLRP3	0,35	NA	0,50	0,88	0,58	0,27	NLRP3	0,42	0,45	0,048
NOD2	0,63	NA	NA	1,15	NA	NA	NOD2	NA	4,19	NA	NA	NA	NA	NOD2	NA	NA	NA
OAS2	0,44	NA	NA	NA	NA	NA	OAS2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	OAS2	NA	NA	NA
PIN1	0,82	NA	NA	0,75	NA	NA	PIN1	NA	1,76	NA	NA	NA	NA	PIN1	NA	NA	NA
PSTPIP1	0,70	1,08	0,70	NA	0,83	0,22	PSTPIP1	0,80	0,57	0,81	0,62	0,70	0,12	PSTPIP1	0,85	0,56	0,4
PYCARD	0,97	1,19	1,47	NA	1,21	0,25	PYCARD	0,39	1,68	0,66	0,30	0,76	0,63	PYCARD	0,62	2,52	0,2
PYDC1	0,54	NA	NA	NA	NA	NA	PYDC1	NA	1,66	NA	NA	NA	NA	PYDC1	NA	NA	NA
RELA	0,68	0,77	0,90	0,85	0,80	0,10	RELA	0,66	0,55	0,54	0,42	0,54	0,10	RELA	0,68	1,02	0,01
RIPK1	0,59	NA	NA	NA	NA	NA	RIPK1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	RIPK1	NA	NA	NA
SPP1	1,15	0,77	1,55	NA	1,15	0,39	SPP1	NA	0,53	0,37	0,40	0,43	0,08	SPP1	0,37	0,21	0,01
STAT1	1,95	NA	NA	0,38	NA	NA	STAT1	NA	0,33	NA	NA	NA	NA	STAT1	NA	NA	NA
SUGT1	0,48	NA	NA	NA	NA	NA	SUGT1	0,32	1,45	0,56	NA	NA	NA	SUGT1	NA	NA	NA
TBK1	0,84	1,10	2,06	1,09	1,27	0,54	TBK1	0,49	1,24	0,48	0,52	0,68	0,37	TBK1	0,54	0,69	0,07
TICAM1	0,94	NA	NA	1,46	NA	NA	TICAM1	0,61	0,88	0,25	0,51	0,56	0,26	TICAM1	NA	NA	NA
TLR3	0,34	1,10	NA	1,40	NA	NA	TLR3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR3	NA	NA	NA
TLR7	0,47	NA	NA	NA	NA	NA	TLR7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR7	NA	NA	NA
TLR8	1,41	NA	NA	1,55	NA	NA	TLR8	NA	1,26	NA	0,57	NA	NA	TLR8	NA	NA	NA
TLR9	0,92	NA	NA	NA	NA	NA	TLR9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TLR9	NA	NA	NA
TNF	0,97	NA	NA	0,72	NA	NA	TNF	NA	1,60	NA	NA	NA	NA	TNF	NA	NA	NA
TRADD	0,58	NA	NA	0,92	NA	NA	TRADD	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TRADD	NA	NA	NA
TRAF3	0,83	0,76	1,64	NA	1,08	0,49	TRAF3	0,53	0,88	0,33	0,49	0,56	0,23	TRAF3	0,52	0,48	0,09
TRAF6	0,94	NA	NA	NA	NA	NA	TRAF6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	TRAF6	NA	NA	NA
TRIM25	3,37	1,12	1,13	0,41	1,51	1,29	TRIM25	0,51	1,19	0,44	0,84	0,74	0,35	TRIM25	0,49	0,27	0,33

rt-PCR: PCR em tempo real; CT: Cycle threshold; ICV: Imunodeficiência Comum Variável; CTRL: Indivíduos controle; FC: Fold change; DP: Desvio Padrão.

2exp- $\Delta\Delta$ Ct: FC (2- $\Delta\Delta$ Ct).

Cálculo do FC: Média FC ICV / Média FC CTRL. Cálculo do DP: Média DP ICV / Média DP CTRL.

NA: Não aplicável.

Cor Rosa - Genes relacionados à imunidade inata e adaptativa antiviral.

**Tabela 14** – Comparativo geral dos *Fold Changes* gênicos entre os grupos estudados, separados por via de sinalização.

		Comparat	tivo Geral		
ICV (+) V	's ICV neg	CTRL (+) V		ICV neg Vs	CTRL neg
Genes	FC	Genes	FC	Genes	FC
	Sinaliz	<mark>zação por recept</mark> o	res semelhantes	a Toll	
CD40	NA	CD40	2,17	CD40	NA
CTSS	4,43	CTSS	1,03	CTSS	0,54
CXCL10	3,74	CXCL10	NA	CXCL10	NA
FOS	3,39	FOS	0,83	FOS	0,45
IL-15	5,31	IL-15	1,75	IL-15	0,82
IRF3	4,23	IRF3	1,15	IRF3	0,54
IRF5	4,41	IRF5	NA	IRF5	NA
JUN	6,74	JUN	0,84	JUN	NA
MAPK1	3,36	MAPK1	NA	MAPK1	NA
MAPK14	4,33	MAPK14	0,98	MAPK14	0,51
RELA	5,11	RELA	1,62	RELA	0,68
SPP1	3,73	SPP1	1,5	SPP1	0,41
TBK1	5,06	TBK1	0,79	TBK1	0,57
TICAM1	4,22	TICAM1	NA	TICAM1	NA
TLR3	NA	TLR3	1,89	TLR3	NA
TRAF3	4,61	TRAF3	1,36	TRAF3	0,52
	Sinaliz	ação por recepto	res semelhantes	a NOD	
AIM2	4,53	AIM2	NA	AIM2	NA
NLRP3	6,44	NLRP3	0,65	NLRP3	0,42
PSTPIP1	4	PSTPIP1	1,23	PSTPIP1	0,85
PYCARD	5,59	PYCARD	0,82	PYCARD	0,62
SUGT1	3,96	SUGT1	NA	SUGT1	NA
	Sinaliz	ação por recepto	res semelhates a	RIG-1	
CXCL10	3,74	CXCL10	NA	CXCL10	NA
DDX58	5,24	DDX58	1,98	DDX58	0,81
IFIH1	5,11	IFIHI	NA	IFIHI	NA
IL-8	1,67	IL-8	0,7	IL-8	0,71
IRF3	4,23	IRF3	1,15	IRF3	0,54
MAPK14	4,33	MAPK14	0,98	MAPK14	0,51
RELA	5,11	RELA	1,62	RELA	0,68
TBK1	5,06	TBK1	0,79	TBK1	0,54
TRAF3	4,61	TRAF3	1,36	TRAF3	0,52
TRIM25	3,98	TRIM25	0,84	TRIM25	0,49
		lização a resposta			
IL-15	5,31	IL-15	1,75	IL-15	0,82
MX1	5,94	MX1	1,7	MX1	0,59
TLR 3	NA	TLR3	1,89	TLR 3	NA

ICV: Imunodeficiência Comum Variável; CTRL: Indivíduo controle; (+): Positivo para rinossinusite viral; Neg: Negativo para rinossinusiteviral; FC: Fold Change.

Rosa: up regulado; Verde: down regulado;

Sem preenchimento:  $0,67 \le FC \le a 1,5$ .

Negrito:  $p \le 0.05$ . NA: Não aplicável

8. Referências

- 1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia Celular e Molecular. Elsevier; 2008. p. 564.
- 2. Lim MS, Elenitoba-Johnson KSJ. The molecular pathology of primary immunodeficiencies. Journal of Molecular Diagnostics. 2004;6(2):59-83.
- 3. Cooper MA, Pommering TL, Koranyi K. Primary immunodeficiencies. American Family Physician. 2003;68(10):2001-8.
- 4. Boyle JM, Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. Journal of Clinical Immunology. 2007;27(5):497-502.
- 5. Gathmann B, Grimbacher B, Beaute J, Dudoit Y, Mahlaoui N, Fischer A, et al. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008. Clinical and Experimental Immunology. 2009;157:3-11.
- 6. Carneiro-Sampaio M, Moraes-Vasconcelos D, Kokron CM, Jacob CMA, Toledo-Barros M, Dorna MB, et al. Primary Immunodeficiency Diseases in Different Age Groups: A Report on 1,008 Cases from a Single Brazilian Reference Center. Journal of Clinical Immunology. 2013;33(4):716-24.
- 7. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. Front Immunol. 2014;5:162.
- 8. Ameratunga R, Woon ST, Gillis D, Koopmans W, Steele R. New diagnostic criteria for common variable immune deficiency (CVID), which may assist with decisions to treat with intravenous or subcutaneous immunoglobulin. Clinical and Experimental Immunology. 2013;174(2):203-11.
- 9. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Clinical Immunology. 1999;93(3):190-7.
- 10. Primary Immunodeficiency Diseases Report of an IUIS Scientific Committee. Clinical and Experimental Immunology. 1999;118:1-28.
- 11. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: Clinical and immunological features of 248 patients. Clinical Immunology. 1999;92(1):34-48.
- 12. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. Blood. 2008;112(2):277-86.
- 13. Yong PFK, Salzer U, Grimbacher B. The role of costimulation in antibody deficiencies: ICOS and common variable immunodeficiency. Immunological Reviews. 2009;229:101-13.
- 14. Takahashi N, Matsumoto K, Saito H, Nanki T, Miyasaka N, Kobata T, et al. Impaired CD4 and CD8 Effector Function and Decreased Memory T Cell Populations in ICOS-Deficient Patients. Journal of Immunology. 2009;182(9):5515-27.
- 15. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, Glocker E, Warnatz K, Drager R, et al. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. Nature Immunology. 2003;4(3):261-8.

- 16. Salzer U, Chapel HM, Webster ADB, Pan-Hammarstrom Q, Schmitt-Graeff A, Schlesier M, et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. Nature Genetics. 2005;37(8):820-8.
- 17. Salzer U, Bacchelli C, Buckridge S, Pan-Hammarstrom Q, Jennings S, Lougaris V, et al. Relevance of biallelic versus monoallelic TNFRSF13B mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing TNFRSF13B variants in antibody deficiency syndromes. Blood. 2009;113(9):1967-76.
- 18. Warnatz K, Salzer U, Rizzi M, Fischer B, Gutenberger S, Boehm J, et al. B-cell activating factor receptor deficiency is associated with an adult-onset antibody deficiency syndrome in humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009;106(33):13945-50.
- 19. Kanegane H, Agematsu K, Futatani T, Sira MM, Suga K, Sekiguchi T, et al. Novel mutations in a Japanese patient with CD19 deficiency. Genes and Immunity. 2007;8(8):663-70.
- 20. van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, Castano D, van Noesel CJM, van Tol MJD, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. New England Journal of Medicine. 2006;354(18):1901-12.
- 21. Sekine H, Ferreira RC, Pan-Hammarstrom Q, Graham RR, Ziemba B, de Vries SS, et al. Role for Msh5 in the regulation of Ig class switch recombination. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007;104(17):7193-8.
- 22. van Zelm MC, Smet J, Adams B, Mascart F, Schandene L, Janssen F, et al. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency. Journal of Clinical Investigation. 2010;120(4):1265-74.
- 23. Thiel J, Kimmig L, Salzer U, Grudzien M, Lebrecht D, Hagena T, et al. Genetic CD21 deficiency is associated with hypogammaglobulinemia. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2012;129(3):801-U299.
- 24. Cunningham-Rundles C, Radigan L, Knight AK, Zhang L, Bauer L, Nakazawa A. TLR9 activation is defective in common variable immune deficiency. J Immunol. 2006;176(3):1978-87.
- 25. North ME, Spickett GP, Allsop J, Webster ADB, Farrant J. Defective-DNA synthesis by t-cells in acquired common-variable hypogammaglobulinemia on stimulation with mitogens. Clinical and Experimental Immunology. 1989;76(1):19-23.
- 26. Pastorelli G, Roncarolo MG, Touraine JL, Peronne G, Tovo PA, Devries JE. Peripheral-blood lymphocytes of patients with common variable immunodeficiency (CVI) produce reduced levels of interleukin-4, interleukin-2 and interferon-gamma, but proliferate normally upon activation by mitogens. Clinical and Experimental Immunology. 1989;78(3):334-40.
- 27. Sneller MC, Strober W. Abnormalities of lymphokine gene-expression in patients with common variable immunodeficiency. Journal of Immunology. 1990;144(10):3762-9.
- 28. Rump JA, Jahreis A, Schlesier M, Drager R, Melchers I, Peter HH. Possible role of il-2 deficiency for hypogammaglobulinemia in patients with common variable immunodeficiency. Clinical and Experimental Immunology. 1992;89(2):204-10.

- 29. Farrington M, Grosmaire LS, Nonoyama S, Fischer SH, Hollenbaugh D, Ledbetter JA, et al. CD40 ligand expression is defective in a subset of patients with common variable immunodeficiency. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1994;91(3):1099-103.
- 30. Fischer MB, Ma MH, Goerg S, Zhou XN, Xia JR, Finco O, et al. Regulation of the B cell response to T-dependent antigens by classical pathway complement. Journal of Immunology. 1996;157(2):549-56.
- 31. Zhang JG, Morgan L, Spickett GP. L-selectin in patients with common variable immunodeficiency (CVID): A comparative study with normal individuals. Clinical and Experimental Immunology. 1996;104(2):275-9.
- 32. Pozzi N, Gaetaniello L, Martire B, De mattia D, Balestrieri B, Cosentini E, et al. Defective surface expression of attractin on T cells in patients with common variable immunodeficiency (CVID). Clinical and Experimental Immunology. 2001;123(1):99-104.
- 33. Thon V, Eggenbauer H, Wolf HM, Fischer MB, Litzman J, Lokaj J, et al. Antigen presentation by common variable immunodeficiency (CVID) B cells and monocytes is unimpaired. Clinical and Experimental Immunology. 1997;108(1):1-8.
- 34. Boncristiano M, Majolini MB, D'Elios MM, Pacini S, Valensin S, Ulivieri C, et al. Defective recruitment and activation of ZAP-70 in common variable immunodeficiency patients with T cell defects. European Journal of Immunology. 2000;30(9):2632-8.
- 35. Saiki O, Ralph P, Cunninghamrundles C, Good RA. 3-distinct stages of B-cell defects in common varied immunodeficiency. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences. 1982;79(19):6008-12.
- 36. Eisenstein EM, Strober W, inventorsEvidence for a generalized signaling abnormality in B cells from patients with common variable immunodeficiency patent A-B. 1995 1995.
- 37. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, et al. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. Blood. 2008;111(1):77-85.
- 38. Levy Y, Gupta N, Le Deist F, Garcia C, Fischer A, Weill JC, et al. Defect in IgV gene somatic hypermutation in common variable immuno-deficiency syndrome. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1998;95(22):13135-40.
- 39. Denz A, Eibel H, Illges H, Kienzle G, Schlesier M, Peter HH. Impaired up-regulation of CD86 in B cells of "type A" common variable immunodeficiency patients. European Journal of Immunology. 2000;30(4):1069-77.
- 40. Groth C, Drager R, Warnatz K, Wolff-Vorbeck G, Schmidt S, Eibel H, et al. Impaired upregulation of CD70 and CD86 in naive (CD27(-)) B cells from patients with common variable immunodeficiency (CVID). Clinical and Experimental Immunology. 2002;129(1):133-9.
- 41. Brouet JC, Chedeville A, Fermand JP, Royer B. Study of the B cell memory compartment in common variable immunodeficiency. European Journal of Immunology. 2000;30(9):2516-20.
- 42. Jacquot S, Macon-Lemaitre L, Paris E, Kobata T, Tanaka Y, Morimoto C, et al. B cell coreceptors regulating T cell-dependent antibody production in common variable immunodeficiency: CD27

pathway defects identify subsets of severely immuno-compromised patients. International Immunology. 2001;13(7):871-6.

- 43. Warnatz K, Denz A, Drager R, Braun M, Groth C, Wolff-Vorbeck G, et al. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+)IgM(-)IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. Blood. 2002;99(5):1544-51.
- 44. Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Galicier L, Lepelletier Y, Webster D, et al. Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells. Blood. 2004;104(8):2441-3.
- 45. Cunningham-Rundles C. The many faces of common variable immunodeficiency. Hematology-American Society Hematology Education Program. 2012:301-5.
- 46. Fokkens W, Lund V, Mullol J, European Position Paper R. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. Rhinology. 2007:1-+.
- 47. Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA, Lanza DC, Marple BF, Nicklas RA, et al. Rhinosinusitis: Establishing definitions for clinical research and patient care. Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2004;131(6):S1-S62.
- 48. Rosenfeld RM, Andes D, Bhattacharyya N, Cheung D, Eisenberg S, Ganiats TG, et al. Clinical practice guideline: Adult sinusitis. Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2007;137(3):S1-S31.
- 49. Scadding GK, Durham SR, Mirakian R, Jones NS, Drake-Lee AB, Ryan D, et al. BSACI guidelines for the management of rhinosinusitis and nasal polyposis. Clinical and Experimental Allergy. 2008;38(2):260-75.
- 50. Osguthorpe JD, Hadley JA. Rhinosinusitis Current concepts in evaluation and management. Medical Clinics of North America. 1999;83(1):27-+.
- 51. Brook I. Microbiology and antimicrobial management of sinusitis. Journal of Laryngology and Otology. 2005;119(4):251-8.
- 52. Subauste MC, Jacoby DB, Richards SM, Proud D. Infection of a human respiratory epithelial-cell line with rhinovirus induction of cytokine release and modulation of susceptibility to infection by cytokine exposure. Journal of Clinical Investigation. 1995;96(1):549-57.
- 53. Brook I, Gooch WM, Jenkins SG, Pichichero ME, Reiner SA, Sher L, et al. Medical management of acute bacterial sinusitis Recommendations of a Clinical Advisory Committee on Pediatric and Adult Sinusitis. Annals of Otology Rhinology and Laryngology. 2000;109(5):2-20.
- 54. Pavia AT. Viral Infections of the Lower Respiratory Tract: Old Viruses, New Viruses, and the Role of Diagnosis. Clinical Infectious Diseases. 2011;52:S284-S9.
- 55. Wald ER, Guerra N, Byers C. Upper respiratory-tract infections in young-children duration of and frequency of complications. Pediatrics. 1991;87(2):129-33.
- 56. Brook I, Friedman EM. Intra-cranical complications of sinusitis in children a sequela of periapical abscess. Annals of Otology Rhinology and Laryngology. 1982;91(1):41-3.

- 57. Murdoch DR, Jennings LC, Bhat N, Anderson TP. Emerging Advances in Rapid Diagnostics of Respiratory Infections. Infectious Disease Clinics of North America. 2010;24(3):791-+.
- 58. Henrickson KJ. Advances in the laboratory diagnosis of viral respiratory disease. Pediatric Infectious Disease Journal. 2004;23(1):S6-S10.
- 59. Yan Y, Zhang S, Tang Y-W. Molecular Assays for the Detection and Characterization of Respiratory Viruses. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;32(4):512-26.
- 60. Lindblom A, Bhadri V, Soederhall S, Ohrmalm L, Wong M, Norbeck O, et al. Respiratory viruses, a common microbiological finding in neutropenic children with fever. Journal of Clinical Virology. 2010;47(3):234-7.
- 61. Utokaparch S, Marchant D, Gosselink JV, McDonough JE, Thomas EE, Hogg JC, et al. The Relationship Between Respiratory Viral Loads and Diagnosis in Children Presenting to a Pediatric Hospital Emergency Department. Pediatric Infectious Disease Journal. 2011;30(2):E18-E23.
- 62. Pitkaranta A, Arruda E, Malmberg H, Hayden FG. Detection of rhinovirus in sinus brushings of patients with acute community-acquired sinusitis by reverse transcription-PCR. Journal of Clinical Microbiology. 1997;35(7):1791-3.
- 63. Buehring I, Friedrich B, Schaaf J, Schmidt H, Ahrens P, Zielen S. Chronic sinusitis refractory to standard management in patients with humoral immunodeficiencies. Clinical and Experimental Immunology. 1997;109(3):468-72.
- 64. Kainulainen L, Suonpaa J, Nikoskelainen J, Svedstrom E, Vuorinen T, Meurman O, et al. Bacteria and viruses in maxillary sinuses of patients with primary hypogammaglobulinemia. Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery. 2007;133(6):597-602.
- 65. Kainulainen L, Vuorinen T, Rantakokko-Jalava K, Osterback R, Ruuskanen O. Recurrent and persistent respiratory tract viral infections in patients with primary hypogammaglobulinemia. J Allergy Clin Immunol. 2010;126(1):120-6.
- 66. Peltola V, Waris M, Kainulainen L, Kero J, Ruuskanen O. Virus shedding after human rhinovirus infection in children, adults and patients with hypogammaglobulinaemia. Clin Microbiol Infect. 2013;19(7):E322-7.
- 67. Wertz GW, Moudy RM. Antigenic and genetic variation in human respiratory syncytial virus. Pediatric Infectious Disease Journal. 2004;23(1):S19-S23.
- 68. Ogra PL. Respiratory syncytial virus: the virus, the disease and the immune response. Paediatr Respir Rev. 2004;5 Suppl A:S119-26.
- 69. Chavez-Bueno S, Mejias A, Jafri HS, Ramilo O. Respiratory syncytial virus: Old challenges and new approaches. Pediatric Annals. 2005;34(1):62-+.
- 70. Langley GF, Anderson LJ. Epidemiology and Prevention of Respiratory Syncytial Virus Infections Among Infants and Young Children. Pediatric Infectious Disease Journal. 2011;30(6):510-7.

- 71. Peret TCT, Hall CB, Hammond GW, Piedra PA, Storch GA, Sullender WM, et al. Circulation patterns of group A and B human respiratory syncytial virus genotypes in 5 communities in North America. Journal of Infectious Diseases. 2000;181(6):1891-6.
- 72. SIVEP-Gripe. Informe Epidemiológico Influenza: Monitoramento até a semana epidemiológica 24 de 2016.: Ministério da Saúde do Brasil; 2016. p. 1-10.
- van den Hoogen BG, de Jong J, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RAM, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. Nature Medicine. 2001;7(6):719-24.
- 74. Hermos CR, Vargas SO, McAdam AJ. Human Metapneumovirus. Clinics in Laboratory Medicine. 2010;30(1):131-+.
- 75. Kroll JL, Weinberg A. Human Metapneumovirus. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;32(4):447-53.
- 76. Henrickson KJ. Parainfluenza viruses. Clinical Microbiology Reviews. 2003;16(2):242-+.
- 77. Weinberg GA. Parainfluenza viruses An underappreciated cause of pediatric respiratory morbidity. Pediatric Infectious Disease Journal. 2006;25(5):447-8.
- 78. Palese P. Influenza: old and new threats. Nature Medicine. 2004;10(12):S82-S7.
- 79. Tong S, Zhu X, Li Y, Shi M, Zhang J, Bourgeois M, et al. New world bats harbor diverse influenza A viruses. PLoS Pathog. 2013;9(10):e1003657.
- 80. Medina RA, Garcia-Sastre A. Influenza A viruses: new research developments. Nature Reviews Microbiology. 2011;9(8):590-603.
- 81. Clark NM, Lynch JP, III. Influenza: Epidemiology, Clinical Features, Therapy, and Prevention. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;32(4):373-92.
- 82. CDC Centers of Disease Control and Prevention. The 2009 H1N1 Pandemic. 2009.
- 83. Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, Garten RJ, et al. Emergence of a Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus in Humans Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. New England Journal of Medicine. 2009;360(25):2605-15.
- 84. LaRussa P. Pandemic Novel 2009 H1N1 Influenza: What Have We Learned? Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;32(4):393-9.
- 85. Eisenberg KW, Szilagyi PG, Fairbrother G, Griffin MR, Staat M, Shone LP, et al. Vaccine Effectiveness Against Laboratory-Confirmed Influenza in Children 6 to 59 Months of Age During the 2003-2004 and 2004-2005 Influenza Seasons. Pediatrics. 2008;122(5):911-9.
- 86. Smith JG, Wiethoff CM, Stewart PL, Nemerow GR. Adenovirus. Cell Entry by Non-Enveloped Viruses. 2010;343:195-224.

- 87. Russell WC. Adenoviruses: update on structure and function. Journal of General Virology. 2009;90:1-20.
- 88. Moura PO, Roberto AF, Hein N, Baldacci E, Vieira SE, Ejzenberg B, et al. Molecular epidemiology of human adenovirus isolated from children hospitalized with acute respiratory infection in Sao Paulo, Brazil. Journal of Medical Virology. 2007;79(2):174-81.
- 89. Garnett CT, Talekar G, Mahr JA, Huang W, Zhang Y, Ornelles DA, et al. Latent Species C Adenoviruses in Human Tonsil Tissues. Journal of Virology. 2009;83(6):2417-28.
- 90. Kalu SU, Loeffelholz M, Beck E, Patel JA, Revai K, Fan J, et al. Persistence of Adenovirus Nucleic Acids in Nasopharyngeal Secretions A Diagnostic Conundrum. Pediatric Infectious Disease Journal. 2010;29(8):746-50.
- 91. Roy S, Calcedo R, Medina-Jaszek A, Keough M, Peng H, Wilson JM. Adenoviruses in Lymphocytes of the Human Gastro-Intestinal Tract. Plos One. 2011;6(9).
- 92. Lynch JP, III, Fishbein M, Echavarria M. Adenovirus. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;32(4):494-511.
- 93. Nichol KL, D'Heilly S, Ehlinger E. Colds and influenza-like illnesses in university students: Impact on health, academic and work performance, and health care use. Clinical Infectious Diseases. 2005;40(9):1263-70.
- 94. Roelen CAM, Koopmans PC, Notenbomer A, Groothoff JW. Job satisfaction and short sickness absence due to the common cold. Work-a Journal of Prevention Assessment & Rehabilitation. 2011;39(3):305-13.
- 95. Bertino JS. Cost burden of viral respiratory infections: Issues for formulary decision makers. American Journal of Medicine. 2002;112:42S-9S.
- 96. Fendrick AM, Monto AS, Nightengale B, Sarnes M. The economic burden of non-influenzarelated viral respiratory tract infection in the United States. Archives of Internal Medicine. 2003;163(4):487-94.
- 97. Palmenberg AC, Rathe JA, Liggett SB. Analysis of the complete genome sequences of human rhinovirus. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2010;125(6):1190-9.
- 98. Lamson D, Renwick N, Kapoor V, Liu Z, Palacios G, Ju J, et al. MassTag polymerase-chain-reaction detection of respiratory pathogens, including a new rhinovirus genotype, that caused influenza-like illness in New York State during 2004-2005. Journal of Infectious Diseases. 2006;194(10):1398-402.
- 99. Bochkov YA, Gern JE. Clinical and molecular features of human rhinovirus C. Microbes and Infection. 2012;14(6):485-94.
- 100. Simmonds P, McIntyre C, Savolainen-Kopra C, Tapparel C, Mackay IM, Hovi T. Proposals for the classification of human rhinovirus species C into genotypically assigned types. Journal of General Virology. 2010;91:2409-19.
- 101. Hendley JO, Gwaltney JM. Mechanisms of transmission of rhinovirus infections. Epidemiologic Reviews. 1988;10:242-58.

- 102. Jennings LC, Dick EC. Transmission and control of rhinovirus colds. European Journal of Epidemiology. 1987;3(4):327-35.
- 103. Gwaltney JM, Moskalski PB, Hendley JW. HAND-TO-HAND TRANSMISSION OF RHINOVIRUS COLDS. Annals of Internal Medicine. 1978;88(4):463-7.
- 104. Winther B, Hayden FG, Hendley JO. Picornavirus infections in children diagnosed by RT-PCR during longitudinal surveillance with weekly sampling: Association with symptomatic illness and effect of season. Journal of Medical Virology. 2006;78(5):644-50.
- 105. Miller EK, Lu X, Erdman DD, Poehling KA, Zhu Y, Griffin MR, et al. Rhinovirus-associated hospitalizations in young children. Journal of Infectious Diseases. 2007;195(6):773-81.
- 106. Vesa S, Kleemola M, Blomqvist S, Takala A, Kilpi T, Hovi T. Epidemiology of documented viral respiratory infections and acute otitis media in a cohort of children followed from two to twenty-four months of age. Pediatric Infectious Disease Journal. 2001;20(6):574-81.
- 107. Hamre D, Procknow JJ. A NEW VIRUS ISOLATED FROM HUMAN RESPIRATORY TRACT. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. 1966;121(1):190-&.
- 108. Kaye HS, Ong SB, Dowdle WR. Detection of coronavirus 229e antibody by indirect hemagglutination. Applied Microbiology. 1972;24(5):703-7.
- 109. Tyrrell DAJ, Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. British Medical Journal. 1965;1(5448):1467-&.
- 110. Tyrrell DA, Bynoe ML. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. Lancet. 1966;1(7428):76-&.
- 111. McIntosh K. Coronaviruses in the limelight. Journal of Infectious Diseases. 2005;191(4):489-91.
- 112. Lu R, Yu X, Wang W, Duan X, Zhang L, Zhou W, et al. Characterization of Human Coronavirus Etiology in Chinese Adults with Acute Upper Respiratory Tract Infection by Real-Time RT-PCR Assays. Plos One. 2012;7(6).
- 113. Walsh EE, Shin JH, Falsey AR. Clinical Impact of Human Coronaviruses 229E and OC43 Infection in Diverse Adult Populations. Journal of Infectious Diseases. 2013;208(10):1634-42.
- 114. Pene F, Merlat A, Vabret A, Rozenberg F, Buzyn AS, Dreyfus F, et al. Coronavirus 229E-related pneumonia in immunocompromised patients. Clinical Infectious Diseases. 2003;37(7):929-32.
- 115. Woo PCY, Lau SKP, Tsoi HW, Huang Y, Poon RWS, Chu CM, et al. Clinical and molecular epidemiological features of coronavirus HKU1-associated community-acquired pneumonia. Journal of Infectious Diseases. 2005;192(11):1898-907.
- 116. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. Clinical Infectious Diseases. 2003;36(8):985-9.
- 117. Lau SKP, Woo PCY, Yip CCY, Tse H, Tsoi HW, Cheng VCC, et al. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. Journal of Clinical Microbiology. 2006;44(6):2063-71.

- 118. Gorse GJ, O'Connor TZ, Hall SL, Vitale JN, Nichol KL. Human Coronavirus and Acute Respiratory Illness in Older Adults with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Journal of Infectious Diseases. 2009;199(6):847-57.
- 119. van der Hoek L, Sure K, Ihorst G, Stang A, Pyrc K, Jebbink MF, et al. Croup is associated with the novel coronavirus NL63. Plos Medicine. 2005;2(8):764-70.
- 120. Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. Journal of Clinical Microbiology. 2010;48(8):2940-7.
- 121. Gerna G, Campanini G, Rovida F, Percivalle E, Sarasini A, Marchi A, et al. Genetic variability of human coronavirus OC43-, 229E-, and NL63-like strains and their association with lower respiratory tract infections of hospitalized infants and immunocompromised patients. Journal of Medical Virology. 2006;78(7):938-49.
- 122. Cabeca TK, Granato C, Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. Influenza and Other Respiratory Viruses. 2013;7(6):1040-7
- 123. Lepiller Q, Barth H, Lefebvre F, Herbrecht R, Lutz P, Kessler R, et al. High Incidence but Low Burden of Coronaviruses and Preferential Associations between Respiratory Viruses. Journal of Clinical Microbiology. 2013;51(9):3039-46.
- 124. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005;102(36):12891-6.
- 125. Gurda BL, Parent KN, Bladek H, Sinkovits RS, DiMattia MA, Rence C, et al. Human Bocavirus Capsid Structure: Insights into the Structural Repertoire of the Parvoviridae. Journal of Virology. 2010;84(12):5880-9.
- 126. Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP, Givney RC, Ratcliff RM. A Novel Bocavirus Associated with Acute Gastroenteritis in Australian Children. Plos Pathogens. 2009;5(4).
- 127. Kapoor A, Simmonds P, Slikas E, Li L, Bodhidatta L, Sethabutr O, et al. Human Bocaviruses Are Highly Diverse, Dispersed, Recombination Prone, and Prevalent in Enteric Infections. Journal of Infectious Diseases. 2010;201(11):1633-43.
- 128. Chen AY, Cheng F, Lou S, Luo Y, Liu Z, Delwart E, et al. Characterization of the gene expression profile of human bocavirus. Virology. 2010;403(2):145-54.
- 129. Christensen A, Nordbo SA, Krokstad S, Rognlien AGW, Dollner H. Human bocavirus in children: Mono-detection, high viral load and viraemia are associated with respiratory tract infection. Journal of Clinical Virology. 2010;49(3):158-62.
- 130. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HGM, Lehtinen P, Osterback R, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children. Clinical Infectious Diseases. 2007;44(7):904-10.
- 131. Chieochansin T, Kapoor A, Delwart E, Poovorawan Y, Simmonds P. Absence of Detectable Replication of Human Bocavirus Species 2 in Respiratory Tract. Emerging Infectious Diseases. 2009;15(9):1503-5.

- 132. Martin ET, Fairchok MP, Kuypers J, Magaret A, Zerr DM, Wald A, et al. Frequent and Prolonged Shedding of Bocavirus in Young Children Attending Daycare. Journal of Infectious Diseases. 2010;201(11):1625-32.
- 133. Lehtoranta L, Soderlund-Venermo M, Nokso-Koivisto J, Toivola H, Blomgren K, Hatakka K, et al. Human bocavirus in the nasopharynx of otitis-prone children. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 2012;76(2):206-11.
- 134. Jartti T, Hedman K, Jartti L, Ruuskanen O, Allander T, Soderlund-Venermo M. Human bocavirusu-the first 5 years. Reviews in Medical Virology. 2012;22(1):46-64.
- 135. Kahn JS, Kesebir D, Cotmore SF, D'Abramo A, Jr., Cosby C, Weibel C, et al. Seroepidemiology of human bocavirus defined using recombinant virus-like particles. Journal of Infectious Diseases. 2008;198(1):41-50.
- 136. Meriluoto M, Hedman L, Tanner L, Simell V, Makinen M, Simell S, et al. Association of Human Bocavirus 1 Infection with Respiratory Disease in Childhood Follow-up Study, Finland. Emerging Infectious Diseases. 2012;18(2):264-71.
- 137. Soderlund-Venermo M, Lahtinen A, Jartti T, Hedman L, Kemppainen K, Lehtinen P, et al. Clinical Assessment and Improved Diagnosis of Bocavirus-induced Wheezing in Children, Finland. Emerging Infectious Diseases. 2009;15(9):1423-30.
- 138. Kantola K, Hedman L, Allander T, Jartti T, Lehtinen P, Ruuskanen O, et al. Serodiagnosis of human bocavirus infection. Clinical Infectious Diseases. 2008;46(4):540-6.
- 139. Karalar L, Lindner J, Schimanski S, Kertai M, Segerer H, Modrow S. Prevalence and clinical aspects of human bocavirus infection in children. Clinical Microbiology and Infection. 2010;16(6):633-9.
- 140. Hedman L, Soderlund-Venermo M, Jartti T, Ruuskanen O, Hedman K. Dating of human bocavirus infection with protein-denaturing IgG-avidity assays-Secondary immune activations are ubiquitous in immunocompetent adults. Journal of Clinical Virology. 2010;48(1):44-8.
- 141. Jartti T, Soderlund-Venermo M, Allander T, Vuorinen T, Hedman K, Ruuskanen O. No efficacy of prednisolone in acute wheezing associated with human bocavirus infection. Pediatric Infectious Disease Journal. 2011;30(6):521-3.
- 142. Shapiro GG, Rachelefsky GS. Mechanisms, diagnosis, and treatment of sinusitis in children and adults introduction and definition of sinusitis. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1992;90(3):417-8.
- 143. Englund JA, Piedra PA, Jewell A, Patel K, Baxter BB, Whimbey E. Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections in immunocompromised adults. Journal of Clinical Microbiology. 1996;34(7):1649-53.
- 144. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. Nat Protoc. 2008;3(6):1101-8.
- 145. Noell BC, Dawson KL, Seethamraju H. Effect of hypogammaglobulinemia on the incidence of community-acquired respiratory viral infections after lung transplantation. Transplant Proc. 2013;45(6):2371-4.

- 146. Reis AD, Domingues Fink MC, Machado CM, Paz JdP, Jr., Oliveira RR, Tateno AF, et al. Comparison of direct immunofluorescence, conventional cell culture and polymerase chain reaction techniques for detecting respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates from infants. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo. 2008;50(1):37-40.
- 147. Li L, Chen Q-Y, Li Y-Y, Wang Y-F, Yang Z-F, Zhong N-S. Comparison among nasopharyngeal swab, nasal wash, and oropharyngeal swab for respiratory virus detection in adults with acute pharyngitis. Bmc Infectious Diseases. 2013;13.
- 148. Munywoki PK, Hamid F, Mutunga M, Welch S, Cane P, Nokes DJ. Improved Detection of Respiratory Viruses in Pediatric Outpatients with Acute Respiratory Illness by Real-Time PCR Using Nasopharyngeal Flocked Swabs. Journal of Clinical Microbiology. 2011;49(9):3365-7.
- 149. Covalciuc KA, Webb KH, Carlson CA. Comparison of four clinical specimen types for detection of influenza A and B viruses by optical immunoassay (FLU OIA test) and cell culture methods. Journal of Clinical Microbiology. 1999;37(12):3971-4.
- 150. Holgate ST. Epithelium dysfunction in asthma. J Allergy Clin Immunol. 2007;120(6):1233-44; quiz 45-6.
- 151. Schleimer RP, Kato A, Kern R, Kuperman D, Avila PC. Epithelium: at the interface of innate and adaptive immune responses. J Allergy Clin Immunol. 2007;120(6):1279-84.
- 152. Bals R, Hiemstra PS. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. Eur Respir J. 2004;23(2):327-33.
- 153. Kawai T, Akira S. TLR signaling. Cell Death Differ. 2006;13(5):816-25.
- 154. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. Cell. 2010;140(6):805-20.
- 155. Tengroth L, Millrud CR, Kvarnhammar AM, Kumlien Georén S, Latif L, Cardell LO. Functional effects of Toll-like receptor (TLR)3, 7, 9, RIG-I and MDA-5 stimulation in nasal epithelial cells. PLoS One. 2014;9(6):e98239.
- 156. Sukkar MB, Xie S, Khorasani NM, Kon OM, Stanbridge R, Issa R, et al. Toll-like receptor 2, 3, and 4 expression and function in human airway smooth muscle. J Allergy Clin Immunol. 2006;118(3):641-8.
- 157. Janssens S, Beyaert R. Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. Clin Microbiol Rev. 2003;16(4):637-46.
- 158. Abreu MT, Arditi M. Innate immunity and toll-like receptors: clinical implications of basic science research. J Pediatr. 2004;144(4):421-9.
- 159. Fransson M, Benson M, Erjefält JS, Jansson L, Uddman R, Björnsson S, et al. Expression of Toll-like receptor 9 in nose, peripheral blood and bone marrow during symptomatic allergic rhinitis. Respir Res. 2007;8:17.
- 160. Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. Immunol Lett. 2003;85(2):85-95.

- 161. Takahasi K, Kumeta H, Tsuduki N, Narita R, Shigemoto T, Hirai R, et al. Solution structures of cytosolic RNA sensor MDA5 and LGP2 C-terminal domains: identification of the RNA recognition loop in RIG-I-like receptors. J Biol Chem. 2009;284(26):17465-74.
- 162. Li X, Ranjith-Kumar CT, Brooks MT, Dharmaiah S, Herr AB, Kao C, et al. The RIG-I-like receptor LGP2 recognizes the termini of double-stranded RNA. J Biol Chem. 2009;284(20):13881-91.
- 163. Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, Shinobu N, Imaizumi T, Miyagishi M, et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. Nat Immunol. 2004;5(7):730-7.
- 164. Wilkins C, Gale M. Recognition of viruses by cytoplasmic sensors. Curr Opin Immunol. 2010;22(1):41-7.
- 165. Kato H, Takeuchi O, Sato S, Yoneyama M, Yamamoto M, Matsui K, et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. Nature. 2006;441(7089):101-5.
- 166. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). FASEB J. 1990;4(11):2860-7.
- 167. Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, Weinblatt M, Loetscher M, et al. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. J Clin Invest. 1998;101(4):746-54.
- 168. Tieu DD, Kern RC, Schleimer RP. Alterations in epithelial barrier function and host defense responses in chronic rhinosinusitis. J Allergy Clin Immunol. 2009;124(1):37-42.
- 169. Bochkov YA, Gern JE. Rhinoviruses and Their Receptors: Implications for Allergic Disease. Curr Allergy Asthma Rep. 2016;16(4):30.
- 170. Canonica GW, Compalati E. Minimal persistent inflammation in allergic rhinitis: implications for current treatment strategies. Clin Exp Immunol. 2009;158(3):260-71.
- 171. Tomassini JE, Graham D, DeWitt CM, Lineberger DW, Rodkey JA, Colonno RJ. cDNA cloning reveals that the major group rhinovirus receptor on HeLa cells is intercellular adhesion molecule 1. Proc Natl Acad Sci U S A. 1989;86(13):4907-11.
- 172. Staunton DE, Merluzzi VJ, Rothlein R, Barton R, Marlin SD, Springer TA. A cell adhesion molecule, ICAM-1, is the major surface receptor for rhinoviruses. Cell. 1989;56(5):849-53.
- 173. Greve JM, Davis G, Meyer AM, Forte CP, Yost SC, Marlor CW, et al. The major human rhinovirus receptor is ICAM-1. Cell. 1989;56(5):839-47.
- 174. Bella J, Rossmann MG. Review: rhinoviruses and their ICAM receptors. J Struct Biol. 1999;128(1):69-74.
- 175. Levy DE, Marié IJ, Durbin JE. Induction and function of type I and III interferon in response to viral infection. Curr Opin Virol. 2011;1(6):476-86.
- 176. Hermant P, Michiels T. Interferon- $\lambda$  in the context of viral infections: production, response and therapeutic implications. J Innate Immun. 2014;6(5):563-74.

- 177. Lin WJ, Zheng X, Lin CC, Tsao J, Zhu X, Cody JJ, et al. Posttranscriptional control of type I interferon genes by KSRP in the innate immune response against viral infection. Mol Cell Biol. 2011;31(16):3196-207.
- 178. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. Am J Rhinol. 2008;22(6):549-59.
- 179. Gwaltney JM. Acute community-acquired sinusitis. Clin Infect Dis. 1996;23(6):1209-23; quiz 24-5.
- 180. Pedersen M, Sakakura Y, Winther B, Brofeldt S, Mygind N. Nasal mucociliary transport, number of ciliated cells, and beating pattern in naturally acquired common colds. Eur J Respir Dis Suppl. 1983;128 (Pt 1):355-65.
- 181. Chen IY, Ichinohe T. Response of host inflammasomes to viral infection. Trends Microbiol. 2015;23(1):55-63.
- 182. Ichinohe T. Respective roles of TLR, RIG-I and NLRP3 in influenza virus infection and immunity: impact on vaccine design. Expert Rev Vaccines. 2010;9(11):1315-24.
- 183. Ichinohe T, Yamazaki T, Koshiba T, Yanagi Y. Mitochondrial protein mitofusin 2 is required for NLRP3 inflammasome activation after RNA virus infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(44):17963-8.
- 184. Koshiba T, Yasukawa K, Yanagi Y, Kawabata S. Mitochondrial membrane potential is required for MAVS-mediated antiviral signaling. Sci Signal. 2011;4(158):ra7.
- 185. Yoshizumi T, Ichinohe T, Sasaki O, Otera H, Kawabata S, Mihara K, et al. Influenza A virus protein PB1-F2 translocates into mitochondria via Tom40 channels and impairs innate immunity. Nat Commun. 2014;5:4713.
- 186. Gack MU, Albrecht RA, Urano T, Inn KS, Huang IC, Carnero E, et al. Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. Cell Host Microbe. 2009;5(5):439-49.
- 187. Hale BG, Randall RE, Ortín J, Jackson D. The multifunctional NS1 protein of influenza A viruses. J Gen Virol. 2008;89(Pt 10):2359-76.
- 188. Mibayashi M, Martínez-Sobrido L, Loo YM, Cárdenas WB, Gale M, García-Sastre A. Inhibition of retinoic acid-inducible gene I-mediated induction of beta interferon by the NS1 protein of influenza A virus. J Virol. 2007;81(2):514-24.
- 189. Min JY, Krug RM. The primary function of RNA binding by the influenza A virus NS1 protein in infected cells: Inhibiting the 2'-5' oligo (A) synthetase/RNase L pathway. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(18):7100-5.
- 190. Rajsbaum R, Albrecht RA, Wang MK, Maharaj NP, Versteeg GA, Nistal-Villán E, et al. Species-specific inhibition of RIG-I ubiquitination and IFN induction by the influenza A virus NS1 protein. PLoS Pathog. 2012;8(11):e1003059.

- 191. Stasakova J, Ferko B, Kittel C, Sereinig S, Romanova J, Katinger H, et al. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1beta and 18. J Gen Virol. 2005;86(Pt 1):185-95.
- 192. Moriyama M, Chen IY, Kawaguchi A, Koshiba T, Nagata K, Takeyama H, et al. The RNA- and TRIM25-Binding Domains of Influenza Virus NS1 Protein Are Essential for Suppression of NLRP3 Inflammasome-Mediated Interleukin-1β Secretion. J Virol. 2016;90(8):4105-14.
- 193. Malmo J, Moe N, Krokstad S, Ryan L, Loevenich S, Johnsen IB, et al. Cytokine Profiles in Human Metapneumovirus Infected Children: Identification of Genes Involved in the Antiviral Response and Pathogenesis. PLoS One. 2016;11(5):e0155484.
- 194. Bürckstümmer T, Baumann C, Blüml S, Dixit E, Dürnberger G, Jahn H, et al. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. Nat Immunol. 2009;10(3):266-72.
- 195. Fernandes-Alnemri T, Yu JW, Datta P, Wu J, Alnemri ES. AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. Nature. 2009;458(7237):509-13.
- 196. Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, Bauernfeind F, Horvath G, Caffrey DR, et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. Nature. 2009;458(7237):514-8.
- 197. Hamilos DL. Host-microbial interactions in patients with chronic rhinosinusitis. J Allergy Clin Immunol. 2014;133(3):640-53.e4.
- 198. Fransson M, Adner M, Erjefält J, Jansson L, Uddman R, Cardell LO. Up-regulation of Toll-like receptors 2, 3 and 4 in allergic rhinitis. Respir Res. 2005;6:100.
- 199. Torres D, Dieudonné A, Ryffel B, Vilain E, Si-Tahar M, Pichavant M, et al. Double-stranded RNA exacerbates pulmonary allergic reaction through TLR3: implication of airway epithelium and dendritic cells. J Immunol. 2010;185(1):451-9.
- 200. Leonard EJ, Yoshimura T. Neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1 [interleukin-8]). Am J Respir Cell Mol Biol. 1990;2(6):479-86.
- 201. Kim JH, Kim YS, Cho GS, Kim NH, Gong CH, Lee BJ, et al. Human Rhinovirus-induced Proinflammatory Cytokine and Interferon- $\beta$  Responses in Nasal Epithelial Cells From Chronic Rhinosinusitis Patients. Allergy Asthma Immunol Res. 2015;7(5):489-96.
- 202. Gough DJ, Messina NL, Hii L, Gould JA, Sabapathy K, Robertson AP, et al. Functional crosstalk between type I and II interferon through the regulated expression of STAT1. PLoS Biol. 2010;8(4):e1000361.
- 203. Kawai T, Takahashi K, Sato S, Coban C, Kumar H, Kato H, et al. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. Nat Immunol. 2005;6(10):981-8.
- 204. Meylan E, Curran J, Hofmann K, Moradpour D, Binder M, Bartenschlager R, et al. Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. Nature. 2005;437(7062):1167-72.

- 205. Seth RB, Sun L, Ea CK, Chen ZJ. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3. Cell. 2005;122(5):669-82.
- 206. Xu LG, Wang YY, Han KJ, Li LY, Zhai Z, Shu HB. VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-beta signaling. Mol Cell. 2005;19(6):727-40.
- 207. Goubau D, Deddouche S, Reis e Sousa C. Cytosolic sensing of viruses. Immunity. 2013;38(5):855-69.
- 208. Ramos HJ, Gale M. RIG-I like receptors and their signaling crosstalk in the regulation of antiviral immunity. Curr Opin Virol. 2011;1(3):167-76.
- 209. Matsumoto F, Saitoh S, Fukui R, Kobayashi T, Tanimura N, Konno K, et al. Cathepsins are required for Toll-like receptor 9 responses. Biochem Biophys Res Commun. 2008;367(3):693-9.
- 210. Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S, et al. Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. Science. 2000;287(5454):860-4.
- 211. Shinohara ML, Jansson M, Hwang ES, Werneck MB, Glimcher LH, Cantor H. T-bet-dependent expression of osteopontin contributes to T cell polarization. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(47):17101-6.
- 212. Miyazaki T, Ono M, Qu WM, Zhang MC, Mori S, Nakatsuru S, et al. Implication of allelic polymorphism of osteopontin in the development of lupus nephritis in MRL/lpr mice. Eur J Immunol. 2005;35(5):1510-20.
- 213. Nau GJ, Liaw L, Chupp GL, Berman JS, Hogan BL, Young RA. Attenuated host resistance against Mycobacterium bovis BCG infection in mice lacking osteopontin. Infect Immun. 1999;67(8):4223-30.
- 214. Sibalic V, Fan X, Loffing J, Wüthrich RP. Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis. Nephrol Dial Transplant. 1997;12(7):1344-53.
- 215. Yu XQ, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Giachelli CM, Atkins RC, Johnson RJ, et al. A functional role for osteopontin in experimental crescentic glomerulonephritis in the rat. Proc Assoc Am Physicians. 1998;110(1):50-64.
- 216. Hudkins KL, Giachelli CM, Eitner F, Couser WG, Johnson RJ, Alpers CE. Osteopontin expression in human crescentic glomerulonephritis. Kidney Int. 2000;57(1):105-16.
- 217. Steinman L, Martin R, Bernard C, Conlon P, Oksenberg JR. Multiple sclerosis: deeper understanding of its pathogenesis reveals new targets for therapy. Annu Rev Neurosci. 2002;25:491-505.
- 218. Comabella M, Pericot I, Goertsches R, Nos C, Castillo M, Blas Navarro J, et al. Plasma osteopontin levels in multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 2005;158(1-2):231-9.
- 219. Shinohara ML, Lu L, Bu J, Werneck MB, Kobayashi KS, Glimcher LH, et al. Osteopontin expression is essential for interferon-alpha production by plasmacytoid dendritic cells. Nat Immunol. 2006;7(5):498-506.

- 220. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. Nat Immunol. 2004;5(10):987-95.
- 221. Karin M, Greten FR. NF-kappaB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. Nat Rev Immunol. 2005;5(10):749-59.
- 222. Shaulian E, Karin M. AP-1 as a regulator of cell life and death. Nat Cell Biol. 2002;4(5):E131-6.
- 223. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. Nat Rev Immunol. 2004;4(7):499-511.
- 224. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. Int Immunol. 2005;17(1):1-14.
- 225. Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B, Kono DH. Type I interferons (alpha/beta) in immunity and autoimmunity. Annu Rev Immunol. 2005;23:307-36.
- 226. Yamamoto M, Sato S, Mori K, Hoshino K, Takeuchi O, Takeda K, et al. Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor signaling. J Immunol. 2002;169(12):6668-72.
- 227. Sharma S, tenOever BR, Grandvaux N, Zhou GP, Lin R, Hiscott J. Triggering the interferon antiviral response through an IKK-related pathway. Science. 2003;300(5622):1148-51.
- 228. Fitzgerald KA, McWhirter SM, Faia KL, Rowe DC, Latz E, Golenbock DT, et al. IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. Nat Immunol. 2003;4(5):491-6.
- 229. Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. Nat Immunol. 2004;5(12):1219-26.
- 230. Liu YJ. IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. Annu Rev Immunol. 2005;23:275-306.
- 231. Coccia EM, Severa M, Giacomini E, Monneron D, Remoli ME, Julkunen I, et al. Viral infection and Toll-like receptor agonists induce a differential expression of type I and lambda interferons in human plasmacytoid and monocyte-derived dendritic cells. Eur J Immunol. 2004;34(3):796-805.
- 232. Dai J, Megjugorac NJ, Amrute SB, Fitzgerald-Bocarsly P. Regulation of IFN regulatory factor-7 and IFN-alpha production by enveloped virus and lipopolysaccharide in human plasmacytoid dendritic cells. J Immunol. 2004;173(3):1535-48.
- 233. Hemmi H, Takeuchi O, Sato S, Yamamoto M, Kaisho T, Sanjo H, et al. The roles of two IkappaB kinase-related kinases in lipopolysaccharide and double stranded RNA signaling and viral infection. J Exp Med. 2004;199(12):1641-50.
- 234. Lin R, Yang L, Arguello M, Penafuerte C, Hiscott J. A CRM1-dependent nuclear export pathway is involved in the regulation of IRF-5 subcellular localization. J Biol Chem. 2005;280(4):3088-95.
- 235. Schoenemeyer A, Barnes BJ, Mancl ME, Latz E, Goutagny N, Pitha PM, et al. The interferon regulatory factor, IRF5, is a central mediator of toll-like receptor 7 signaling. J Biol Chem. 2005;280(17):17005-12.

- 236. Luster AD, Ravetch JV. Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). J Exp Med. 1987;166(4):1084-97.
- 237. Asensio VC, Maier J, Milner R, Boztug K, Kincaid C, Moulard M, et al. Interferon-independent, human immunodeficiency virus type 1 gp120-mediated induction of CXCL10/IP-10 gene expression by astrocytes in vivo and in vitro. J Virol. 2001;75(15):7067-77.
- 238. Qi XF, Kim DH, Yoon YS, Jin D, Huang XZ, Li JH, et al. Essential involvement of cross-talk between IFN-gamma and TNF-alpha in CXCL10 production in human THP-1 monocytes. J Cell Physiol. 2009;220(3):690-7.
- 239. Schütze S, Potthoff K, Machleidt T, Berkovic D, Wiegmann K, Krönke M. TNF activates NF-kappa B by phosphatidylcholine-specific phospholipase C-induced "acidic" sphingomyelin breakdown. Cell. 1992;71(5):765-76.
- 240. Nick JA, Young SK, Brown KK, Avdi NJ, Arndt PG, Suratt BT, et al. Role of p38 mitogenactivated protein kinase in a murine model of pulmonary inflammation. J Immunol. 2000;164(4):2151-9.
- 241. Welliver TP, Garofalo RP, Hosakote Y, Hintz KH, Avendano L, Sanchez K, et al. Severe human lower respiratory tract illness caused by respiratory syncytial virus and influenza virus is characterized by the absence of pulmonary cytotoxic lymphocyte responses. J Infect Dis. 2007;195(8):1126-36.
- 242. Lee N, Wong CK, Hui DSC, Lee SKW, Wong RYK, Ngai KLK, et al. Role of human Toll-like receptors in naturally occurring influenza A infections. Influenza and Other Respiratory Viruses. 2013;7(5):666-75.
- 243. Moro MR, Bonville CA, Suryadevara M, Cummings E, Faddoul D, Kobayaa H, et al. Clinical Features, Adenovirus Types, and Local Production of Inflammatory Mediators in Adenovirus Infections. Pediatric Infectious Disease Journal. 2009;28(5):376-80.
- 244. von Wussow P, Jakschies D, Hochkeppel HK, Fibich C, Penner L, Deicher H. The human intracellular Mx-homologous protein is specifically induced by type I interferons. Eur J Immunol. 1990;20(9):2015-9.
- 245. Simon A, Fäh J, Haller O, Staeheli P. Interferon-regulated Mx genes are not responsive to interleukin-1, tumor necrosis factor, and other cytokines. J Virol. 1991;65(2):968-71.
- 246. Ronni T, Matikainen S, Lehtonen A, Palvimo J, Dellis J, Van Eylen F, et al. The proximal interferon-stimulated response elements are essential for interferon responsiveness: a promoter analysis of the antiviral MxA gene. J Interferon Cytokine Res. 1998;18(9):773-81.
- 247. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, et al. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. Nat Immunol. 2003;4(1):69-77.
- 248. Holzinger D, Jorns C, Stertz S, Boisson-Dupuis S, Thimme R, Weidmann M, et al. Induction of MxA gene expression by influenza A virus requires type I or type III interferon signaling. J Virol. 2007;81(14):7776-85.
- 249. Haller O, Kochs G. Human MxA protein: an interferon-induced dynamin-like GTPase with broad antiviral activity. J Interferon Cytokine Res. 2011;31(1):79-87.

- 250. Ronni T, Melén K, Malygin A, Julkunen I. Control of IFN-inducible MxA gene expression in human cells. J Immunol. 1993;150(5):1715-26.
- 251. Maria NI, Brkic Z, Waris M, van Helden-Meeuwsen CG, Heezen K, van de Merwe JP, et al. MxA as a clinically applicable biomarker for identifying systemic interferon type I in primary Sjogren's syndrome. Ann Rheum Dis. 2014;73(6):1052-9.
- 252. Toivonen L, Schuez-Havupalo L, Rulli M, Ilonen J, Pelkonen J, Melen K, et al. Blood MxA protein as a marker for respiratory virus infections in young children. J Clin Virol. 2015;62:8-13.
- 253. Mattei F, Schiavoni G, Belardelli F, Tough DF. IL-15 is expressed by dendritic cells in response to type I IFN, double-stranded RNA, or lipopolysaccharide and promotes dendritic cell activation. J Immunol. 2001;167(3):1179-87.
- 254. Hansen ML, Woetmann A, Krejsgaard T, Kopp KL, Søkilde R, Litman T, et al. IFN-α primes T-and NK-cells for IL-15-mediated signaling and cytotoxicity. Mol Immunol. 2011;48(15-16):2087-93.
- 255. Leavy O. Maturation and function of NK cells. Nat Rev Immunol. 2012;12(3):150.
- 256. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. Annu Rev Immunol. 1999;17:189-220.
- 257. Barría MI, Garrido JL, Stein C, Scher E, Ge Y, Engel SM, et al. Localized mucosal response to intranasal live attenuated influenza vaccine in adults. J Infect Dis. 2013;207(1):115-24.
- 258. Okabayashi T, Kojima T, Masaki T, Yokota S, Imaizumi T, Tsutsumi H, et al. Type-III interferon, not type-I, is the predominant interferon induced by respiratory viruses in nasal epithelial cells. Virus Res. 2011;160(1-2):360-6.
- 259. Scagnolari C, Midulla F, Pierangeli A, Moretti C, Bonci E, Berardi R, et al. Gene expression of nucleic acid-sensing pattern recognition receptors in children hospitalized for respiratory syncytial virus-associated acute bronchiolitis. Clin Vaccine Immunol. 2009;16(6):816-23.
- 260. Sheeran P, Jafri H, Carubelli C, Saavedra J, Johnson C, Krisher K, et al. Elevated cytokine concentrations in the nasopharyngeal and tracheal secretions of children with respiratory syncytial virus disease. Pediatric Infectious Disease Journal. 1999;18(2):115-22.
- 261. Lewis TC, Henderson TA, Carpenter AR, Ramirez IA, McHenry CL, Goldsmith AM, et al. Nasal cytokine responses to natural colds in asthmatic children. Clinical and Experimental Allergy. 2012;42(12):1734-44.
- Bian J-R, Nie W, Zang Y-S, Fang Z, Xiu Q-Y, Xu X-X. Clinical aspects and cytokine response in adults with seasonal influenza infection. International Journal of Clinical and Experimental Medicine. 2014;7(12):5593-602.
- 263. Heikkinen T, Järvinen A. The common cold. Lancet. 2003;361(9351):51-9.

## GLOSSÁRIO GÊNICO

**AIM2** (*Absent in melanoma 2*) - Papel na reversão tumorigênica e pode controlar proliferação celular. IFNγ induz a expressão de AIM2. AIM2 também faz parte do inflamassoma e contribui na defesa contra DNA bacteriano e viral.

**APOBEC3G** (*Apolipoprotein B mRNA editing enzyme*, *catalytic polipeptide-like 3G*) - Inibidor específico da infectividade pelo HIV.

**ATG5** (*autophagy related 5*) – Envolvido em muitos processos celulares, incluindo formação de vesícula autofágica, controle mitochondrial após dano oxidative, regulação negative da resposta imune inata antiviral, desenvolvimento e proliferação de linfócitos, apresentação do antígeno MHC II, diferenciação de adipócitos, e apoptose.

**AZI2** (*5-azacytidine induced 2*) - Contribui para a ativação do NFκB, pela ativação de quinases relacionadas ao IκK.

CARD9 (Caspase recruitment domain Family, member 9) - Envolvido nas vias que levam a ativação das caspases ou do NFκB. Essa proteína pode ser um componente do inflamassoma, complexo proteico que possue um papel na ativação de caspases pró inflamatórias. Essa proteína atua como uma molécula adaptadora que regula negativamente a ativação do NFκB, na secreção de CASP1 dependente de IL-1β, e apoptose.

CASP1 (Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase) - Também chamada de IL-1βC (convertase de interleucina-1 beta). Desempenha um papel central na fase de execução da apoptose celular. Caspases existem como proenzimas inativas. Esse gene foi identificado pela sua habilidade de quebra proteolítica e ativar o precurssor inativo da IL-1 (citocina envolvida em processos como inflamação, choque séptico, e cicatrização de feridas). Esse gene tem se mostrado como sendo indutor de apoptose celular.

**CASP10** (*Caspase 10*, *apoptosis-related cysteine peptidase*) - Essa proteína quebra e ativa caspases 3 e 7, e é processada pela CASP8.

CASP8 (Caspase 8, apoptosis-related cysteine peptidase) - Essa proteína está envolvida na morte celular programada induzida por Fas e vários estímulos apoptóticos. O domínio de morte efetor N-terminal FADD like dessa proteína sugere que ela pode interagir com proteína FADD que interage com Fas.

CCL3 (*Chemokine*, *C-C motif*, *ligand 3*) - Codifica a proteína MIP1α (proteína macrofágica infamatória 1 alfa). Polimorfismos podem estar associados com resistência e suscetibilidade a infecção pelo HIV.

CCL5 (*Chemokine*, *C-C motif*, *ligand 5*) - Também conhecida como RANTES. Essa quimiocina é responsável pela quimiotaxia de monócitos, células T de memória e eosinófilos. Causa a liberação de histamina dos basófilos e ativa os eosinófilos. É um dos principais fatores supressores do HIV produzido pelas células CD8.

**CD40** (*CD40 molecule*) - Membro da superfamília dos receptores do TNF (TNFRSF5). Faz a mudança de classe de imunoglobulinas dependente de células T, desenvolvimento de células B de memória, e formação do centro germinativo. Mutações geram hiper IgM do tipo 3 com herança AR.

**CD80** (*CD80 molecule*) - Receptor de membrana que é ativado pela ligação do CD28 ou CTLA-4. A proteína ativa induz proliferação de células T e produção de citocinas. Pode atuar como receptor para adenovírus do subgrupo B.

**CD86** (*CD86 molecule*) - Expressa por células apresentadoras de antígenos e é o ligante para duas proteínas na superfície das células T (CD28 e CTLA-4). Ligação ao CD28 é um sinal co-estimulatório para a ativação de células T. Ligação ao CTLA-4 regula negativamente a ativação de células T e diminui a resposta imune.

**CHUK** (*Conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase*) - Codifica uma proteína quinase. A proteína codificada, componente de um complexo de proteínas ativadas por

citocinas que é uma inibidora do fator de transcrição essencial do complexo NFκB, fosforila pontos que iniciam a degradação do inibidor, dessa forma ativando o fator de transcrição.

**CTSB** (*Cathepsin B*) - Também conhecida como proteína secretase precursora de amiloide. Está envolvida no processo proteolítico da proteína precurssora de amiloide. Uma grande variedade de doenças resulta em níveis elevados de catepsina B, que provoca vários processos patológicos incluindo a morte celular, inflamação e produção de péptidos tóxicos.

**CTSL** (*Cathepsin L1*) - Proteinase cisteína lisossomal que possui seu principal papel no catabolismo de proteína intracelular. Seus substratos incluem colágeno e elastina, assim como inibidor da protease alfa-1, principal elemento controlador da atividade da elastase neutrofílica.

CTSS (*Cathepsin S*) - Participa da degradação de proteínas antigênicas, gerando peptídeos para apresentação pelas moléculas do MHC de classe II. A proteína codificada pode funcionar como a elastase através de uma ampla gama de pH nos macrófagos alveolares. CTSS é expressa por células apresentadoras de antígenos, incluindo macrófagos, linfócitos B e células dendríticas.

**CXCL10** (*Chemokine*, *C-X-C motif*, *ligand 10*) - Também conhecida como IP-10. Gene antimicrobiano que se liga ao receptor CXCR3 e gera os seguintes efeitos: estimulação de monócitos, migração de células NK células T e modulação da expressão das moléculas de adesão.

CXCL11 (*Chemokine*, *C-X-C motif*, *ligand 11*) - Induz resposta quimiotática em células T ativadas. Fortemente induzida pela IFNy.

**CXCL8** (*Interleukin 8*) - Também conhecido como IL-8, essa quimiocina é uma das principais mediadoras da resposta inflamatória. Secretada por vários tipos de células. Funciona como quimiotática, e também como um potente fator angiogênico. Acredita-se ter um papel na patogênese da bronquiolite.

**CXCL9** (*Chemokine*, *C-X-C motif, ligand 9*) - Também conhecida como MIG, está envolvida no tráfego de células T, que é induzido por IFNγ. CXCL9 é estreitamente relacionada com CXCL10 e CXCL11, cujos genes estão localizados próximo do gene de CXCL9 no cromossomo 4. CXCL9, CXCL10 e CXCL11 desempenham suas quimiotáticas pela interação com o receptor de quimiocina CXCR3.

**CYLD** (*Cylindromatosis – turban tumor syndrome*) - Esse gene codifica uma proteína citoplasmática com três domínios conservados de proteína-glicina (CAP-GLY) associados ao citoesqueleto que funciona como uma enzima deubiquitinadora.

**DAK** (*Dihydroxyacetone kinase 2 homolog*) - Também conhecido como TKFC. O produto desse gene fosforila dihidroxiacetona, e também catalisa a formação da 4',5'-fosfato riboflavina da FAD.

**DDX3X** (*DEAD*, *Asp-Glu-Ala-Asp*, *box polypeptide 3, X-linked*) - Essa proteína tem sido relatada por exibir um nível elevado de atividade de ATPase independente de RNA, e ao contrário da maioria das helicases DEAD-box, a atividade ATPase é tida como sendo estimulada por RNA e DNA. Possui funções no citoplasma e no núcleo. Funções nucleares incluem a regulação da transcrição, montagem do mRNP, *splicing* do pré-mRNA e exportação de mRNA. No citoplasma, está envolvida na transdução, sinalização celular, e na replicação viral.

**DDX58** (*DEAD*, *Asp-Glu-Ala-Asp*, *box polypeptide 58*) - Também chamado de RIG-1 (gene indutível pelo ácido retinóico-1). Envolvido no reconhecimento de RNA viral com dupla fita e na regulação da resposta imune.

**DHX58** (*DEXH*, *Asp-Glu-X-His*, *box polypeptide 58*) – Codifica uma proteína chamada LGP2 (*Laboratory of Genetics and Physiology 2*). Essa proteína tem se mostrado ser mais relevante na imunidade inata antiviral. LGP2 produz resposta efetiva antiviral contra muitos virus que são reconhecidos por RIG-1 (DDX58) e MDA-5 (IFIH1).

FADD (Fas, TNFRSF6, associated via death domain) - Molécula adaptadora que interage com vários receptores de superfície celular e medeia sinais de apoptose celular. Pode ser recrutada pelo TNFRSF6/FasR, TNFR, TNFRSF25, e TNFSF/TRAIL-R, e assim ele participa da sinalização de morte iniciada por esses receptores. Interação dessa proteína com os receptores desmascara o domínio efetor N-terminal dessa proteína, que permite o recrutamento da CASP8, e dessa forma ativar a cascata protease cisteína. Camundongos knockout sugerem que FADD tem importância no desenvolvimento de células T precoces.

FOS (FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog) - A família do gene Fos consiste em 4 membros: FOS, FOSB, FOSL1 e FOSL2. Esses genes codificam proteínas de leucina em zíper que podem se dimerizar com proteínas da família JUN, assim forma o fator de transcrição do complexo AP-1. As proteínas Fos têm sido implicadas como reguladores da proliferação celular, diferenciação e transformação. Em alguns casos, expressão do gene Fos tem sido associada com morte celular apoptótica.

**HSP90AA1** (*Heat shock protein 90kDa alpha, cytosolic, class A member 1*) - As proteínas codificadas auxiliam no adequado enrolamento de proteínas alvo específicas pelo uso da atividade de ATPase que é modulada por co-chaperonas.

**IFIH1** (*Interferon induced with helicase C domain 1*) - Também chamado de MDA-5 (proteína 5 associada a diferenciação de melanoma). É receptor semelhante a RIG-1 que atua como receptor de reconhecimento de padrão e reconhece RNA com dupla fita viral. Proteína com "DEAD Box" que tem função aumentada em resposta ao IFNβ e a um composto ativador da proteína quinase C, mezereina.

**IFNα1** (*Interferon, alpha 1*) - Interferon do tipo I produzido por macrófagos e possui atividade antiviral.

**IFNα2** (*Interferon, alpha 2*) - Interferon do tipo I produzida em resposta a infecões virais. Reduz sintomas e duração de um resfriado comum.

**IFNαR1** (*Interferon – alpha*, *beta and ômega – receptor 1*) - Receptor de IFN α e β. Ligação a esse receptor estimula a proteína Janus quinase, que fosforila várias proteínas como STAT1 e STAT2.

**IFNβ1** (*Interferon*, *beta 1*) – A proteína codificada poresse gene peretence a classe do interferon tipo I, que são importantes para a defesa contra infecções virais. Em adição, interferon tipo I estão envolvidos na diferenciação cellular e defesa contra tumors.

**IκBK**β (*Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhacer in B-cells, kinase beta*) - Fosforila o inibidor do inibidor/NFκB, causando dissociação do inibidor e ativação do NFκB. É encontrada em um comlexo de proteínas.

**IL-1β** (*Interleukin 1, beta*) - Citocina produzida por macrófagos ativados como uma pró-proteína, que é proteoliticamente processada para sua forma ativa pela CASP1. Importante mediador da resposta inflamatória, e está envolvida em uma variedade de atividades celulares, incluindo proliferação celular, diferenciação e apoptose.

**IL-12A** (*Interleukin 12A*) – Atua na indução de IFNγ independente de células T e é importante para a diferenciação de células Th1 e Th2.

**IL-12B** (*Interleukin 12B*) - Atua em células T e NK. Expressa por macrófagos ativados que serve como indutor essencial para o desenvolvimento de células Th1. Importante para manutenção de um número suficiente de células Th1 de memória/efetoras para mediar proteção a longo prazo contra patógenos intracelulares.

**IL-15** (*Interleukin 15*) - Regula a ativação e proliferação de células T e NK. Induz a ativação de JAK quinases, assim como a fosforilação e ativação dos ativadores de transcrição STAT3, STAT5 e STAT6.

**IL-18** (*Interleukin 18*) - Citocina pró-inflamatória que aumenta a atividade NK em células esplênicas, e estimula a produção de IFNγ em células T helper tipo I.

**IL-6** (*Interleukin 6*) - Citocina que funciona na inflamação e na maturação das células B. Tem demonstrado ser um pirógeno endógeno capaz de induzir febre em pessoas com doenças autoimunes ou infecções. Produzida primariamente nos locais de inflamação aguda e crônica, onde é secretada no soro e induz resposta inflamatória transcricional através do IL-6R.

**IRAK1** (*Interleukin-1 receptor-associated kinase 1*) - Receptor de IL-1 associado a quinase 1, uma de duas quinases serina/treonina que se tornam associados com IL-1R após estimulo. Esse gene é parcialmente responsável pelo aumento da regulação induzida pelo IL-1 do fator de transcrição do NFκB.

**IRF3** (*Interferon regulatory factor 3*) - Ativa as trancrições de IFN  $\alpha$  e  $\beta$ . IRF3 desempenha um papel importante na resposta do sistema imune contra infecções virais.

**IRF5** (*Interferon regulatory factor 5*) – Paricipa da ativação de IFN mediada por vírus, e modulação do crescimento celular, diferenciação, apoptose, e atividade do sistema imune.

**IRF7** (*Interferon regulatory factor 7*) - Ativação da transcrição de genes celulares induzidos por vírus, incluindo genes do IFNβ.

**ISG15** (*ISG15* ubiquitin-like modifier) - Ativado após ativação por IFN  $\alpha$  e  $\beta$ . Importante na quimiotaxia de neutrófilos, sinalização célula-célula, atividade antiviral durante infecções virais.

**JUN** (*Jun proto-oncogene*) - Esse é o gene da transformação do vírus do sarcoma aviário 17. Codifica uma proteína que é altamente similar à proteína viral, que interage diretamente com sequências alvo específicas de DNA para regular a expressão gênica. Juntamente com FOS, faz parte do complexo AP-1.

MAP2K1 (*Mitogen-activated protein kinase kinase 1*) - Membro da família de proteína quinases de dupla especificidade, que atua como uma proteína quinase quinase ativada por mitógeno. MAP quinases, também conhecidas como quinases reguladas por

sinais extracelulares, atuam como um ponto de integração para múltiplos sinais bioquímicos. Essa proteína quinase estimula a atividade enzimática das MAP quinases após uma grande variedade de sinais intra e extra celulares. Essa quinase está envolvida em muitos processos celulares como proliferação, diferenciação, regulação da transcrição e desenvolvimento.

MAP2K3 (*Mitogen-activated protein kinase kinase 3*) - Essa quinase é ativada por estresse ambiental e mitogênicos, e participa da cascata de sinalização mediada por MAP quinase. É fosforilada e assim ativa MAPK14/p38-MAPK. Essa quinase pode ser ativada por insulina, e é necessária para a expressão do transportador de glicose. Expressão do oncogene RAS é tido por resultar no acúmulo da forma ativa dessa quinase, que assim leva a ação constitutiva de MAPK14, e confere transformação oncogênica de células primárias. A inibição dessa quinase está envolvida na patogênese da *Yersinia pseudotuberculosis*.

**MAP3K1** (*Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1*) - Quinase serina/treonina e é parte de algumas cascatas de transdução de sinais, incluindo as cascatas ERK e JNK quinase assim como a via o NFκB. É ativada por autofosforilação e requer magnésio como um co-fator, fosforilando outras proteínas.

MAP3K7 (*Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7*) - Regulação da transcrição e apoptose. Em resposta ao IL-1, essa proteína forma um complexo quinase incluindo TRAF6, MAP3K7P1/TAB1 e MAP3K7P2/TAB2; esse complexo é necessário para a tivação do NFκB. Essa quinase também pode ativar MAPK8/JNK, MAP2K4/MKK4, e assim possui um papel de resposta celular ao estresse ambiental.

MAPK1 (*Mitogen-activated protein kinase 1*) - MAP quinases, também conhecidas como ERKs (quinases reguladoras de sinal extracelular) atuam como ponto de integração para múltiplos sinais bioquímicos e são envolvidos em uma grande variedade de processos celulares como proliferação, diferenciação, regulação da transcrição e desenvolvimento. A ativação dessa quinase requer sua fosforilação por outras quinases. Após ativação, essa quinase se transloca para o núcleo de células estimuladas, onde

fosforila alvos nucleares. Um estudo também sugere que essa proteína haja como um repressor transcricional independente da atividade das quinases.

MAPK14 (*Mitogen-activated protein kinase 14*) - Essa quinase é ativada por vários estresses ambientais e citocinas pró-inflamatórias. A ativação requer sua fosforilação por MAP quinase quinases, ou sua autofosforilação iniciada pela sua interação com a proteína MAP3K7IP1/TAB1. Os substratos dessa quinase incluem regulação da transcrição do ATF2, MEF2C e MAX, regulação do ciclo celular do CDC25B, e supressão tumoral do *p*53, que sugere um papel dessa quinase na transcrição relacionada ao estresse e regulação do ciclo celular, assim como a resposta genotóxica ao estresse.

**MAPK3** (*Mitogen-activated protein kinase 3*) - Essa quinase é ativada por outras quinases, resultando em sua translocação para o núcleo, onde irá fosforilar alvos nucleares.

**MAPK8** (*Mitogen-activated protein kinase 8*) - Essa quinase é ativada por vários estímulos celulares, e fatores de transcrição alvo específicos, e assim medeia expressão gênica imediata precoce em resposta ao estímulo celular. A ativação dessa quinase pelo TNFα e tida como necessária para a apoptose induzida pelo TNFα. Essa quinase também está envolvida na apoptose induzida pela radiação UV.

**MAVS** (*Mitochondrial antiviral signaling protein*) - Proteína intermediária necessária nas vias de sinalização vírus induzida por IFNβ. É necessária para a ativação dos fatores de transcrição que regulam a expressão do IFNβ e contribuem para a imunidade antiviral.

**MEFV** (*Mediterranean fever*) - Esse gene codifica uma proteína chamada pirina que é um importante modulador da imunidade inata.

**MX1** (*Myxovirus*, *influenza vírus*, *resistance 1*) - Também chamado de MxA. MX1 é induzido por IFNs tipo I e tipo II e antagoniza o processo de replicação de vários vírus RNA e DNA.

MYD88 (*Myeloid differentiation primary response gene*, 88) - Proteína adaptadora citosólica que desempenha um papel central na resposta imune inata e adaptativa. Essa proteína funciona como um transdutor de sinal essencial nas vias de sinalização da IL-1 e TLR. Essas vias regulam a ativação de numerosos genes pró-inflamatórios. Pacientes com defeitos nesses genes possuem uma suscetibilidade aumentada a infecções por bactérias piogênicas.

NFκB1 (Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhacer in B-cells 1) - O NFκB é um regulador de transcrição que é ativado por vários estímulos intra e extracelulares, tais como as citocinas, os radicais livres, irradiação ultravioleta, e produtos bacterianos ou virais. O NFκB Ativado transloca-se para o núcleo e estimula a expressão de genes envolvidos em uma grande variedade de funções biológicas. Ativação inapropriada de NFκB tem sido associada a um número de doenças inflamatórias, enquanto a inibição persistente de NFκB leva ao desenvolvimento de células imunitárias inadequadas ou crescimento celular retardado.

NFκBIα (Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhacer in B-cells inhibitor, alpha) - Esse gene codifica um membro da família do inibidor do NFκB, que contém múltiplos domínios anquirina repetidos. A proteína codificada interage com dímeros REL para inibir o complexo NFκB/REL que está envolvido na resposta inflamatória.

NLRP3 (*NLR Family, pyrin domain containing 3*) - Interage com a proteína *speck-like* associada a apoptose PYCARD/ASC, que contém um domínio do recrutamento da caspase, e é um membro do complexo do inflamassomo NALP3. Esse complexo funciona como um ativador da sinalização de NFκB, e desempenha um papel na regulação da inflamação, da resposta imune, e apoptose.

NOD2 (*Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2*) - Primariamente expresso em leucócitos de sangue periférico. Desempenha um papel na resposta imune a bactérias lipopolisacarídicas intracelulares pelo reconhecimento do dipeptídeo muramil derivado delas e ativando o NFκB.

OAS2 (2'-5'-oligoadenylate synthetase 2) - Codifica proteínas essenciais envolvidas na resposta imune inata contra infecções virais. É induzido por IFNs e ativa RNAse latentes que resultam em degradação do RNA viral e inibição da replicação viral.

PIN1 (*Peptidylpropyl cis/trans isomerase*, *NIMA-interacting 1*) - A regulação conformacional catalizada por essa PPIase tem um impacto profundo em proteínas chaves envolvidas na regulação do crescimento celular, resposta ao estresse genotóxico e outros estresses, a resposta imune, indução e manutenção da pluripotencia, desenvolvimento de células germinativas, diferenciação neuronal e sobrevivência.

**PSTPIP1** (*Proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 1*) - A proteína codificada se liga a cauda citoplasmática do CD2, um efetor da ativação de células T e adesão, afetando negativamente a ativação de células T iniciadas por CD2. A proteína codificada parece ser um regulador do citoesqueleto de actina. Além disso é um regulador negativo do NLRP3 inflamassomo (vide PAPA síndrome).

**PYCARD** (*PYD* and *CARD* domain containing) - Proteína adaptadora que é composta de dois domínios de interação proteína-proteína: um domínio PYD e um domínio CARD. Esses domínios são membros da superfamília do domínio de morte com 6 hélices que medeiam a montagem de grandes complexos de sinalização das vias de sinalização inflamatórias e apoptóticas via ativação das caspases. Em células normais, essa proteína está localizada no citoplasma; todavia, em células apoptóticas, ela forma agregados semelhantes a bolas próximas da periferia do núcleo.

**PYDC1** (*PYD*, *pyrin domain*, *containing 1*) – Predominantemente expresso em monócitos, macrófagos e granulócitos. Associa-se com PYCARD/ASC e modula sua habilidade de colaborar com MEFV/pirina e NLRP3/criopirina na ativação do NFκB e pró-caspase 1.

**RELA** (*V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A*) - NFκB é um fator de transcrição envolvido em vários processos biológicos. Localizado no citoplasma na forma inativa por inibidores específicos. Após degradação do inibidor, o NFκB se move

para o núcleo e ativa a transcrição de genes específicos. O NFκB é composto de NFκB1 ou NFκB2 associado a REL, RELA ou RELB.

RIPK1 (*Receptor*, *TNFRSF*, *interacting serine-threonine kinase 1*) – Enzima que é codificada pelo gene RIPK1. Essa enzima exerce função em uma variedade de vias celulares incluindo a via do NFκB e a morte celular programada.

**SPP1** (*Secreted phosphoprotein 1*) - A proteína codificada por esse gene está envolvida na ligação dos osteoclastos a matriz óssea mineralizada. Esta proteína também é uma citocina que aumenta a expressão do IFNγ e IL-12.

STAT1 (Signal transducer and activator of transcription 1) - Em resposta a citocinas e fatores de crescimento, membros da família STAT são fosforilados pelas quinases associadas a receptores, e então formam homo ou heterodimeros que translocam ao núcleo celular onde eles podem atuar como ativadores de transcrição. Essa proteína pode ser ativada por vários ligantes incluindo IFNα, IFNγ, EGF, PDGF e IL-6. Essa proteína medeia a expressão de uma variedade de genes, que é pensado como sendo importante para a viabilidade celular em resposta a diferentes estímulos celulares e patógenos.

**SUGT1** (*SGT1*, *Suppressor of G2 allele os SKP1*) - Proteína envolvida na função do cinetocóro e necessária para as transições G1/S e G2/M.

**TBK1** (*TANK-binding kinase 1*) - O complexo de proteínas do NFκB é inibido pelo IκB, que inativa o NFκB, aprisionando-o no citoplasma. Fosforilação dos resíduos de serina nas proteínas IκB pelas quinases IκB as marca para a destruição pela via da ubiquitinação, permitindo a ativação e translocação nuclear do NFκB. A proteína codificada por esse gene é similar as quinases IκB e pode mediar a ativação do NFκB em resposta a certos fatores de crescimento.

**TICAM1** (*Toll-like receptor adaptor molecule 1*) - Proteína adaptadora que contem o domínio TIR, que é um domínio de sinalização intracelular que medeia interações proteína-proteína entre os TLRs e componentes de transdução de sinais. Envolvido na

imunidade inata contra patógenos invasores. Interage especificamente com o TLR3, e essa associação medeia a indução de IFNβ por dsRNA através da ativação do NFκB durante uma resposta imune antiviral.

**TLR3** (*Toll-like receptor 3*) — Atua no reconhecimento de patógenos e ativação da imunidade inata. Restrito as células dendríticas. Reconhece dsRNA associados a infecções virais e induz a ativação de NFκB e a produção de IFNs do tipo 1.

**TLR7** (*Toll-like receptor 7*) - Esse gene é predominantemente expresso no pulmão, placenta, e baço, e possui uma proximidade com o TLR8, no cromossomo X. TLR7 tem mostrado ter um papel significante na patogênese de doenças autoimunes, como o Lúpus Eritematoso Sistêmico, assim como na regulação da imunidade antiviral.

**TLR8** (*Toll-like receptor 8*) - Esse gene é predominantemente expresso no pulmão e leucócitos do sangue periférico, e possui uma proximidade com o TLR7, no cromossomo X. TLR8 é um receptor endossomal que reconhece ssRNA como os vírus Influenza, Sendai e Coxsackie B. TLR8 se liga ao RNA viral e recruta MYD88 que leva a ativação do fator de transcrição NFκB e a uma resposta antiviral.

**TLR9** (*Toll-like receptor 9*) - Esse gene é preferencialmente expresso em tecidos ricos em células imunes como: o baço, linfonodos, medula óssea e leucócitos do sangue periférico. Esse receptor medeia resposta celular a dinucleotideos CpG não metilados do DNA bacteriano para montar uma resposta imune inata.

**TNF** (*Tumor necrosis factor*) - Citocina multifunctional pró-inflamatória principalmente secretada por macrófagos. Envolvida na regulação de um amplo espectro de processos biológicos incluindo proliferação celular, diferenciação, apoptose, metabolismo lipídico, e coagulação.

**TRADD** (*TNFRSF1A-associated via death domain*) - Molécula adaptadora que contem um domínio de morte que interage com TNFRSF1A/TNFR1 e medeia a sinalização da morte celular programada e ativação do NFκB.

TRAF3 (*TNF receptor-associated factor 3*) - Proteínas TRAF se associam e medeiam a transdução de sinal de membros do receptor do TNF (TNFR). Participa da transdução de sinal do CD40. Tida como sendo componente crítico do complexo de sinalização do receptor da linfotaxina-β, que induz a ativação do NFκB e morte celular iniciada pela ligação da linfotoxina-β.

TRAF6 (*TNF receptor-associated factor 6*) - Medeia a sinalização dos membros do TNFR assim como os da família Toll/IL-1. Sinais de receptores como os do CD40, TNFSF11/RANCE e IL-1 tem se mostrado como sendo mediadas por essa proteína. Também interage com várias proteínas quinases incluindo IRAK1/IRAK, SRC e PKC-ζ, que provê uma ligação entre vias distintas de sinalização. Funciona como um transdutor de sinal na via do NFκB que ativa IκK em resposta a citocinas próinflamatórias. Também interage com TGF-βR e é necessária para a ativação das quinases p38 e JNK.

**TRIM25** (*Tripartite motif containing 25*) - Localiza-se no citoplasma. A presença de ligações potenciais de DNA e domínios de transativação-dimerização sugere que essa proteína possa atuar como um fator de transcrição, similar a outros vários membros da família TRIM. Possui expressão aumentada em resposta ao estrógeno.