



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS
MESTRADO PROFISSIONAL EM ANÁLISES CLÍNICAS

KARITA LORENA FRANÇA ALMEIDA

**IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS COMO PRINCIPAIS ATORES
NO CONTEXTO DA COVID-19: SUGESTÃO DE PROTOCOLO PARA
TRIAGEM DE IDP NA POPULAÇÃO**

BELÉM - PA
2021

KARITA LORENA FRANÇA ALMEIDA

**IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS COMO PRINCIPAIS ATORES
NO CONTEXTO DA COVID-19: SUGESTÃO DE PROTOCOLO PARA
TRIAGEM DE IDP NA POPULAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará – UFPA, como requisito parcial necessário para obtenção do título de mestre em Análises Clínicas.
Linha de Pesquisa: Bioquímica e Biologia molecular.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo José Melo dos Santos.

BELÉM - PA
2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

F814i França Almeida, Karita Lorena.
Imunodeficiências primárias como principais atores no contexto da COVID-19: sugestão de protocolo para triagem de IDP na população / Karita Lorena França Almeida. — 2021.
68 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Eduardo José Melo dos Santos
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em
Análises Clínicas, Belém, 2021.

1. Imunodeficiências primárias. 2. protocolo de triagem. 3.
COVID-19. I. Título.

CDD 574.88

KARITA LORENA FRANÇA ALMEIDA

**IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS COMO PRINCIPAIS ATORES
NO CONTEXTO DA COVID-19: SUGESTÃO DE PROTOCOLO PARA
TRIAGEM DE IDP NA POPULAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará – UFPA, como requisito parcial necessário para obtenção do título de mestre em Análises Clínicas.

Belém (PA), 23 de Fevereiro de 2021

Conceito: _____

Banca examinadora:

Eduardo José Melo dos Santos (ICB - UFPA)
(Orientador)

Maísa Silva de Sousa (Núcleo de Medicina Tropical - UFPA)
(Suplente)

Andrea Luciana Soares da Silva (ICB-UFPA)

Fabio Miyajima (UFC)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer imensa e especialmente ao Professor Dr. Eduardo Santos, meu orientador, por sua paciência, partilha de conhecimento, ajuda e apoio. Todos esses fatores foram fundamentais para que a jornada de escrever esse projeto fosse enriquecedora e possível.

À Professora Dr.^a Andrea Luciana, por sua leveza, incentivo, prontidão e ajuda sempre que necessário durante a minha estadia em um país que não o meu.

A todas as pessoas que fazem parte do LGHM, que me receberam da melhor maneira possível, me ajudaram compartilhando conhecimento e bons momentos e me fizeram sentir acolhida de imediato nesse espaço.

À Laura Vieira, coordenadora de Programas de Mobilidade Acadêmica Internacional na Pró-Reitoria de Relações Internacionais da Universidade Federal do Pará, com quem meu encontro foi inspirador, gratificante e fundamental para que a minha experiência no exterior acontecesse e que esteve sempre pronta a ajudar.

Agradeço ainda aos membros da banca, que foram generosos ao ponto de tirar um pouco do seu tempo para compartilhar seu conhecimento comigo, ajudando-me a melhorar esse projeto e a crescer como aluna e profissional.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para elaboração deste trabalho, o meu muito obrigada!

RESUMO

Desde de Dezembro de 2019, o mundo vem sofrendo as consequências de uma pandemia causada pela COVID-19, doença que tem como agente etiológico o SARS-CoV-2, um novo coronavírus que foi inicialmente identificado na cidade de Wuhan, província de Hubei, China. A COVID-19 possui uma grande variedade de sintomas e as pessoas por ela acometidas podem apresentar desde estados assintomático a estados graves, este último sendo atribuído a fatores de risco, como o comprometimento da resposta imune. Neste contexto, resposta imunes alteradas, como as causadas por imunodeficiências primárias (IDP), emergem como um potencial e importante fator no prognóstico da COVID-19 e o rastreamento preventivo de IDP na população pode ser uma ferramenta útil para a gestão da saúde pública, identificando um grupo vulnerável importante. Assim sendo, a partir de achados provenientes de um artigo realizado e aqui apresentado sobre o possível papel de IDP na predisposição à severidade em COVID-19, esse trabalho tem como resultado a proposta de um protocolo para a triagem em massa de IDP na população.

Palavras-chave: Imunodeficiências primárias, protocolo de triagem, COVID-19

ABSTRACT

Since December 2019 the world has been suffering the consequences of a pandemic caused by COVID-19, a disease whose etiologic agent is SARS-CoV-2, a new coronavirus that was initially identified in the city of Wuhan, Hubei province, China. COVID-19 has a wide variety of symptoms and people affected by it may present from asymptomatic to severe conditions. The severe form of the disease has been attributed to risk factors, such as impaired immune response. Thus, altered immune responses, such as those caused by primary immunodeficiencies (PID), emerge as a potential and important factor in the prognosis of COVID-19 and the preventive screening of PID in the population can be a useful tool for public health management regarding the identification of an important vulnerable group. Therefore, based on findings from an article carried out and presented here about the possible role of PID in the predisposition to severity in COVID-19, this work proposes a protocol for the mass screening of PID in the population.

Keywords: Primary immunodeficiencies, screening protocol, COVID-19

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	5
1. INTRODUÇÃO	9
1.1. CORONAVÍRUS	9
1.1.1. SARS-CoV-2	10
1.2. COVID-19.....	13
1.3. IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS	15
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS	23
3.1. GERAIS	23
3.2. ESPECÍFICOS	23
4. ARTIGO COMPLETO NO FORMATO DA REVISTA	24
5. APRESENTAÇÃO DO ARTIGO	47
6. RESULTADOS ADICIONAIS	48
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
8. REFERÊNCIAS	53
ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Enzima de conversão da angiotensina 2
CD4	<i>Cluster of differentiation 4</i>
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
CoVs	Coronavírus
CSG	<i>Coronavirus Study Group</i>
E	Proteína do envelope
EII	Erros inatos de imunidade
GWAS	<i>Genome-wide Association studies</i>
hiper-IgE	Hiperimunoglobulinemia E
hiper-IgM	Hiperimunoglobulinemia M
ICTV	<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>
IDP	Imunodeficiências primárias
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IUIS	<i>International Union of Immunological Societies</i>
JAK	Janus Quinase 2
M	Proteína da matriz
MBL	Lectina ligante de manose
MERS	Síndrome respiratória do Oriente Médio
MERS-CoV	<i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i>
N	Proteína do nucleocapsídeo
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORFs	Matrizes abertas de leitura
RDB	Domínio ligante do receptor
RdRp	Replicase de RNA

RNA	Ácido ribonucleico
S	Glicoproteína de pico
SARS	Síndrome respiratória aguda grave
SARS-CoV	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus</i>
SARS-CoV-2	<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2</i>
SCID	Imunodeficiência combinada severa
TMPPRS2	Serina Protease Transmembrana 2
UTRs	Regiões não codificantes
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
2019-nCoV	Novo coronavírus 2019
3D	Tridimensional
+ ssRNA	RNA de fita simples de sentido positivo
α -CoV	Alphacoronavírus
β -CoV	Betacoronavírus
γ -CoV	Gammacoronavírus
δ -Cov	Deltacoronavírus

1. INTRODUÇÃO

Desde dezembro de 2019, o mundo vem sofrendo as consequências de uma pandemia que está presente em quase todos os países do globo. Os primeiros casos da doença, que é causada por um coronavírus anteriormente desconhecido, foram relatados no final de dezembro, em uma província chinesa (LUDWIG & ZARBOCK, 2020). Desde então estes vêm crescendo exponencialmente e hoje, janeiro de 2021, pouco mais de um ano após o início das infecções, o número de casos confirmados da doença no mundo é de mais de 90 milhões, incluindo 2 milhões de mortes (WHO, 2021), o que tem incitado uma busca mundial por informações sobre esse novo patógeno, visando estratégias que minimizem os impactos da doença por ele causada e que, por fim, combatam a sua disseminação.

1.1. CORONAVÍRUS

Coronavírus (CoVs) são um grupo de vírus envelopados, com genoma não fragmentado constituído por RNA de fita simples e de sentido positivo (+ ssRNA) (FUNG & LIU, 2019). O seu tamanho varia de 60 nm a 140 nm de diâmetro e sua superfície é pontilhada por partículas virais (vírions) em forma de coroa, característica da qual provém o seu nome (GIWA & DESAI, 2020). Possuem uma ampla gama de hospedeiros, incluindo aves, espécies selvagens, mamíferos domésticos e humanos (HELMY *et al.* 2020).

Além de gerar certo impacto econômico, uma vez que infectam e causam doença a uma variedade de vertebrados economicamente importantes, como porcos e galinhas (FUNG & LIU, 2019), são também considerados uma das principais causas de infecções respiratórias virais em todo o mundo, geralmente conhecidos por causar doenças leves do trato respiratório superior (GIWA & DESAI, 2020).

Até mais da metade de 2019 apenas seis coronavírus eram conhecidos por infectar hospedeiros humanos (FUNG & LIU, 2019), sendo que dois desses, SARS-CoV (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus*) [Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave] e MERS-CoV (*Middle East respiratory syndrome coronavirus*) [Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio] são considerados altamente patogênicos e foram causadores de dois surtos em grande escala nas últimas duas décadas: 1) Síndrome respiratória aguda grave (SARS) em 2002 e 2003 em Guangdong, província da China e 2) Síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2012 em países dessa região (LAUXMANN, SANTUCCI & AUTRÁN-GÓMEZ, 2020). No entanto, em dezembro de 2019 infecções causadas em

humanos por um novo coronavírus foram reportadas a partir da triagem genômica de amostras clínicas de pacientes com pneumonia viral em Wuhan, na Província de Hubei, China. Provisoriamente denominado novo coronavírus 2019 (2019-nCoV), os pacientes por ele infectados foram considerados epidemiologicamente ligado ao mercado de frutos do mar de Huanan, onde vários animais estavam a venda. Este vírus foi posteriormente nomeado pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) [Comitê Internacional de Taxonomia Viral] como “*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2*” (Coronavírus 2 relacionado à síndrome respiratória aguda grave) ou SARS-CoV-2 (SOFI, HAMID & BHAT, 2020), devido à sua semelhança com o vírus SARS-CoV, e a doença causada por ele foi nomeada *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) [Doença do Coronavírus 2019] pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2020).

1.1.1. SARS-CoV-2

a) Classificação:

SARS-CoV-2 faz parte da ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae* e subfamília *Orthocoronavirinae*. Com base em critérios genéticos e antigênicos, os membros da subfamília *Orthocoronavirinae* foram subdivididos em quatro gêneros: *Alphacoronavirus* (α -CoV), *Betacoronavirus* (β -CoV), *Gammacoronavirus* (γ -CoV) e *Deltacoronavirus* (δ -CoV). SARS-CoV-2 pertence ao gênero *Betacoronavirus* (HARAPAN *et al.*, 2020), do qual também fazem parte SARS-CoV e MERS-CoV (Figura 1). Estudos de filogenia e taxonomia realizados pelo *Coronavirus Study Group* (CSG) [Grupo de Estudo Coronavírus] do ICTV permitiram o reconhecimento deste vírus como sendo um irmão do SARS-CoV e por isso o grupo o denominou SARS-CoV-2 (LAUXMANN, SANTUCCI & AUTRÁN-GÓMEZ, 2020).

Devido à baixa capacidade de revisão da Replicase de RNA (RdRp), os vírus de RNA possuem alto poder de mutação em seu material genético (LIU, KUO & SHIH, 2020). Assim como os demais membros da família *Coronaviridae*, os betacoronavírus exibem alta especificidade de espécie, mas sutis mudanças genéticas podem alterar significativamente seu tropismo de tecido, gama de hospedeiros e patogenicidade (HARAPAN *et al.*, 2020). Um trabalho realizado através de sequenciamento de nova geração demonstrou que o material genético do SARS-CoV-2, apesar de apresentar alguma semelhança com o material genético do SARS-CoV (79% de similaridade), apresenta 88% de homologia com dois coronavírus derivados de morcegos (MALIK, 2020), o que sugere que o novo coronavírus tenha origem

nesses animais, uma vez que todos os coronavírus humanos têm origens animais, sendo esses os seus hospedeiros naturais (LIU, KUO & SHIH, 2020).

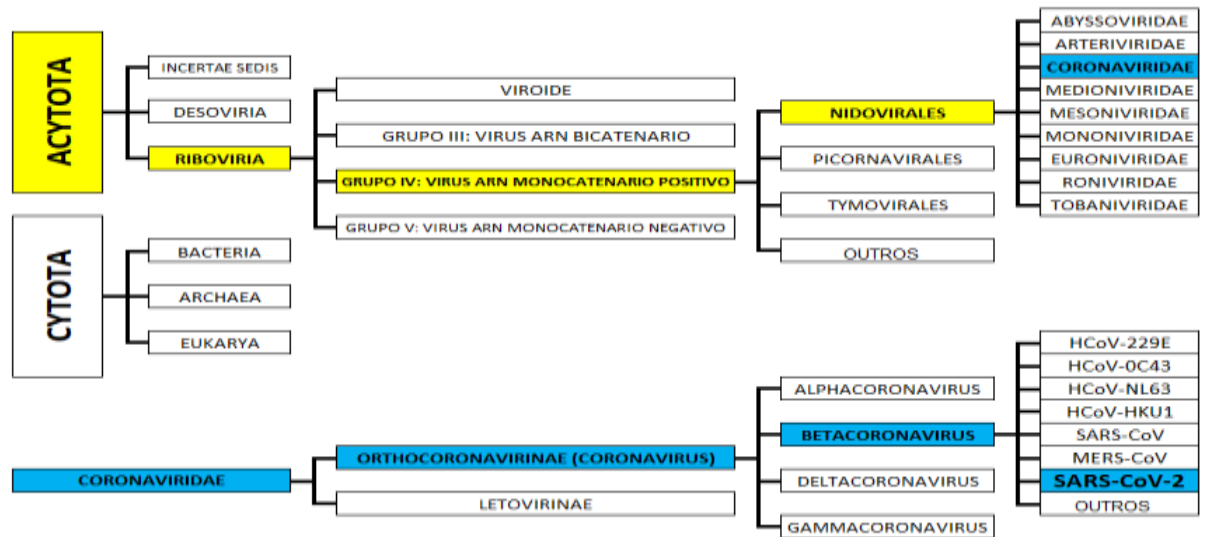


Figura 1. Classificação taxonômica do SARS-CoV-2. Fonte: Adaptado de wikimedia commons.

b) Estrutura:

O SARS-CoV-2 apresenta-se como uma partícula esférica de aproximadamente 120 nm de diâmetro (LIU, KUO & SHIH, 2020) e com um genoma de 29.903 nucleotídeos (número de acesso no GenBank: MN908947), tornando-o o segundo maior genoma de RNA conhecido. Nele estão presentes duas regiões não codificantes (UTRs) nos terminais 5' e 3' e 11 *Open-reading Frames* (ORFs) [Matrizes abertas de leitura] que codificam 27 proteínas estruturais e acessórias. A primeira ORF (ORF1 / ab), que constitui cerca de dois terços do genoma do vírus, codifica 16 proteínas não estruturais, enquanto o terço restante do genoma codifica 4 proteínas estruturais e pelo menos 6 proteínas acessórias. As proteínas estruturais são: (1) a glicoproteína de pico (S), que se projeta através do envelope viral permeando toda a superfície celular formando os picos em forma de “coroa” característicos dos coronavírus, a qual está envolvida na ligação ao receptor do hospedeiro por meio do domínio ligante do receptor (RDB), determinação da gama de hospedeiros do vírus e no intermédio da fusão vírus-membrana celular; (2) a proteína de matriz (M), que medeia o transporte de nutrientes através da transmembrana, liberação de partículas virais e formação de envelope; (3) a proteína do envelope (E), que facilita a montagem e liberação do vírus, além de desempenhar outras funções; e (4) a proteína do nucleocapsídeo (N), que interfere com a resposta imune

inata do hospedeiro (Figura 2), enquanto as proteínas acessórias são ORFs 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8a, 8b e 9b, as quais não têm os seus papéis bem definidos (LAUXMANN, SANTUCCI & AUTRÁN-GÓMEZ, 2020; HELMY *et al.*, 2020; OUZOUNIS, 2020; FEHR & PERLMAN, 2015).

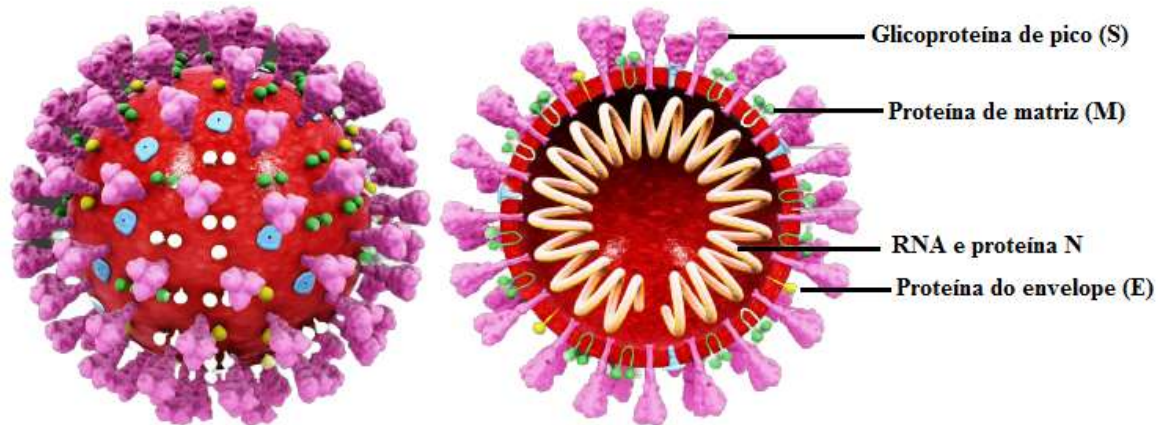


Figura 2. Estrutura em 3D do SARS-CoV-2, com destaque para suas proteínas estruturais. Fonte: Adaptado de *Scientific Animations Inc.*

c) Mecanismo de ação:

A ligação dos vírions à célula hospedeira é desencadeada por interações entre a Proteína S e seu receptor, a Enzima de conversão da angiotensina 2 (ACE2), uma metalopeptidase presente na membrana de muitas células, incluindo pneumócitos tipo I e II, enterócitos do intestino delgado, células do túbulo proximal renal, células endoteliais de artérias e veias, músculo liso arterial, entre outros tecidos (GARCÍA, 2020). Ao se ligar ao receptor, o vírus deve ter acesso ao citosol da célula hospedeira. Esse mecanismo ocorre através da clivagem proteolítica dependente de ácido da proteína S e é mediado por uma serina protease transmembrana do tipo 2 localizada na célula hospedeira, TMPRSS2, o que permite a fusão das membranas viral e celular. (SOFI, HAMID & BHAT, 2020). Uma vez dentro da célula hospedeira, o RNA viral é liberado, a partir do qual ocorre a tradução de poliproteínas. A replicação e transcrição do genoma viral ocorre através da clivagem de proteínas e montagem do complexo replicase-transcriptase. O RNA viral é replicado e as

proteínas estruturais são sintetizadas, montado e embalado na célula hospedeira, após o que partículas virais são liberadas (HUANG *et al.* 2020).

d) Fisiopatologia:

Os mecanismos fisiopatológicos exatos referentes à doença causada pelo SARS-CoV-2 não estão propriamente esclarecidos (LAUXMANN, SANTUCCI & AUTRÁN-GÓMEZ, 2020). Sabe-se, no entanto, que o SARS-CoV infecta principalmente as células epiteliais do pulmão e que a adesão do vírus à célula hospedeira e sua replicação acabam por desencadear danos no epitélio vascular e alveolar, através de intensa apoptose e/ou piroptose das células infectadas (de ALMEIDA *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 pode ainda invadir macrófagos e células dendríticas, ação que progride para uma infecção abortiva. No entanto, acredita-se que a infecção desses tipos celulares pode ser necessária para a ativação de citocinas pró-inflamatórias que podem levar à doença (SOFI, HAMID & BHAT, 2020), uma vez que altas concentrações de citocinas e mediadores pró-inflamatórios foram detectados no soro de pacientes que desenvolveram a forma mais grave da COVID-19 (de ALMEIDA *et al.*, 2020).

1.2. COVID-19

A doença causada por SARS-CoV-2 foi declarada uma pandemia pela OMS em março de 2020 (LUDWIG & ZARBOCK, 2020), a primeira causada por um coronavírus na história (LIU, KUO & SHIH, 2020). Ela possui uma grande variedade de sintomas e as pessoas por ela acometidas podem apresentar desde estados assintomático a estados graves. Entre os sintomas mais comuns estão febre, tosse seca, dispneia, dor no peito, fadiga e mialgia. Os sintomas menos comuns incluem dor de cabeça, tontura, dor abdominal, diarreia, náusea e vômito (HARAPAN *et al.*, 2020).

Com base em dados de hospitalização, estima-se que o período de incubação do SARS-CoV-2 varie de 5,1 a 14 dias (SOFI, HAMID & BHAT, 2020). A sua transmissão pode ocorrer tanto por meios diretos, através do contato com gotículas contaminadas e com pessoas infectadas, quanto por contato indireto, por meio de objetos e superfícies contaminadas e contágio aéreo (LOTF, HAMBLIN & REZAEI, 2020). As rotas de transmissão comuns incluem: 1) Exposição direta a tosse, espirro e inalação de gotículas dentro de uma faixa de cerca de 1,8 metros; e 2) Transmissão por meio de contato com membranas mucosas oral,

nasal e ocular (LAUXMANN, SANTUCCI & AUTRÁN-GÓMEZ, 2020). Além disso, a presença de SARS-CoV-2 também fora detectada em amostras de fezes, trato gastrointestinal, saliva e urina dos pacientes infectados, levantando a possibilidade de que haja outras vias de transmissão do vírus (BALOCH *et al.*, 2020).

Por esse motivo, medidas foram tomadas a nível internacional a fim de reduzir a transmissão viral social através da implementação de estratégias de “distanciamento físico”, uso de máscaras de pano para proteger a boca e nariz quando se está em público, entre outras (LAUXMANN, SANTUCCI & AUTRÁN-GÓMEZ, 2020). Seguir essas instruções é ainda a maneira mais eficaz de combate à COVID-19, uma vez que até o momento não há medicamentos antivirais específicos aprovados para combate da infecção por SARS-CoV-2. Há, no entanto, diversas vacinas sendo desenvolvidas e testadas no mundo todo (KOIRALA *et al.*, 2020) e algumas destas já se mostraram eficazes e já estão sendo utilizadas na imunização da população contra o SARS-CoV-2 (KNOL & WONODI, 2020).

Estudos revelam que cerca de 80% dos pacientes acometidos pela COVID-19 apresentam a forma mais branda da mesma; 15% desenvolvem a sua forma grave e os 5% restantes evoluem para uma condição crítica com síndrome do desconforto respiratório agudo seguida de comprometimento de múltiplos órgãos (DELLALIBERA-JOVILIANO *et al.*, 2020).

Alguns fatores de risco, como idade avançada e pré-existência de morbidades tais quais doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes e doenças respiratórias crônicas estão relacionados ao desenvolvimento de severidade da COVID-19 (HELMY *et al.*, 2020). Além disso, fatores do hospedeiro, como o comprometimento da resposta imune, têm sido relatados como importantes na progressão da doença desde o início da pandemia por diversos estudos (PACES *et al.*, 2020; GARCÍA, 2020; JESENAK *et al.*, 2020).

Não se sabe ao certo como um estado imunossupressivo pode afetar a resposta à doença causada pelo novo coronavírus (MINOTTI *et al.*, 2020), mas acredita-se que pacientes que apresentam distúrbios imunológicos, como aqueles que são portadores de imunodeficiências primárias (IDP) podem estar em maior risco de desenvolver uma forma mais grave da COVID-19, uma vez que diversos casos de óbitos foram relatados nessa população (MATSURA *et al.*, 2020).

1.3. IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS

Imunodeficiências primárias consistem em um grupo de doenças congênitas causadas por defeitos genéticos que afetam um ou mais componentes do sistema imunológico e que se manifestam como suscetibilidade aumentada a doenças infecciosas, autoimunidade, doenças autoinflamatórias, alergia e/ou malignidade (LEWANDOWICZ-USZYŃSKA *et al.*, 2020).

São classificadas de acordo com a anormalidade imunológica resultante, que pode variar de formas potencialmente benignas, como a deficiência de IgA, até distúrbios graves, como a imunodeficiência combinada severa (SCID) (ABOLHASSANI *et al.*, 2020).

De acordo com o último relatório da *International Union of Immunological Societies* (IUIS) [União Internacional de Sociedades Imunológicas], as IDP englobam hoje 404 doenças diferentes, causadas por 430 defeitos genéticos, que são, em sua maioria, mutações monogênicas da linha germinativa resultando em perda de expressão, perda de função ou ganho de função da proteína codificada (TANGYE *et al.*, 2020). Embora a maioria das IDP seja causadas por mutações em genes únicos, a penetrância variável dessas mutações resulta em diversos fenótipos e gravidade, o que torna o reconhecimento e diagnóstico diferencial difícil (ERJAEI *et al.*, 2019).

IDP eram tradicionalmente consideradas como doenças raras e acreditava-se que afetavam aproximadamente de 1/10.000 a 1/50.000 da população mundial. No entanto, tem sido geralmente aceito que são subdiagnosticadas e subnotificadas (ABOLHASSANI *et al.*, 2020) e, com a descoberta de novos erros inatos de imunidade e definição melhorada de fenótipos clínicos, estima-se hoje que a prevalência coletiva dessas condições seja de pelo menos 1/1000 - 1/5000 (TANGYE *et al.*, 2020). É importante ressaltar que esses números são muito maiores entre populações com altas taxas de consanguinidade ou entre populações geneticamente isoladas (NOTARANGELO, 2010).

Um recente estudo realizado com base em relatórios de registro e casos diagnosticados estimou que o número de pacientes identificados como portadores de algum tipo de IDP no mundo todo é de 104614. No entanto, o mesmo considerou que há um significativo número de possíveis pacientes que não foi incluído nesse resultado (ABOLHASSANI *et al.*, 2020). A distribuição mundial desses casos encontra-se na figura 3.

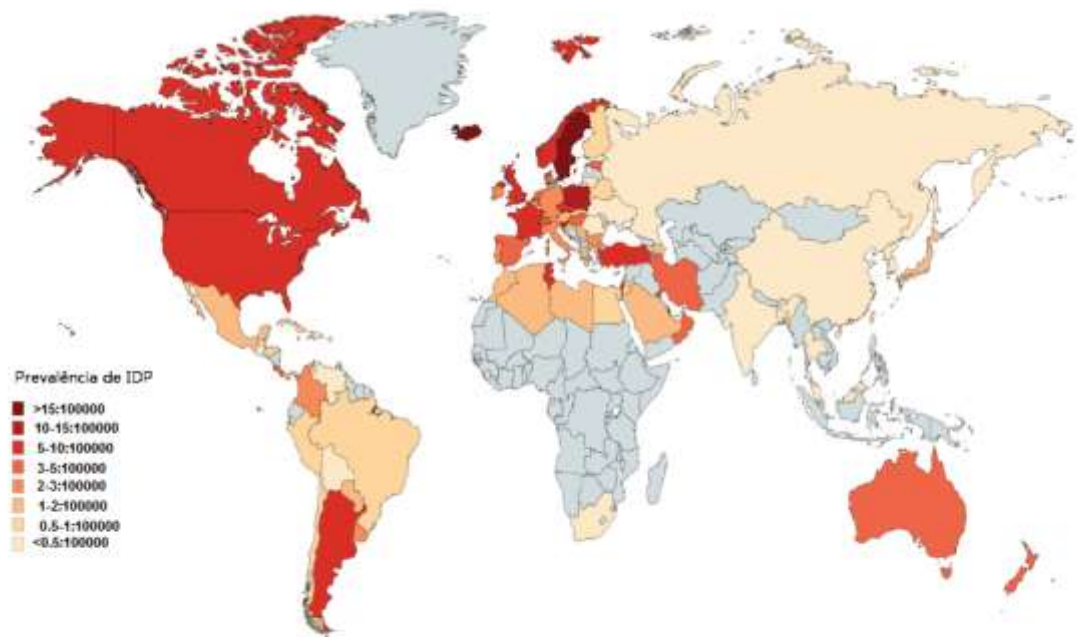


Figura 3. Distribuição de casos de imunodeficiência primária no mundo com base no número de pacientes relatados por 100.000 indivíduos (Países na cor cinza não apresentaram registros ou relatório publicado). Fonte: Adaptado de Abolhassani *et al.*, 2020.

O banco de dados da *Latin American Society for Immunodeficiencies* (LASID) [Sociedade Latino Americana de Imunodeficiências] conta, atualmente, com o registro de 8506, dos quais 1920 foram registrados no Brasil (Figura 4).

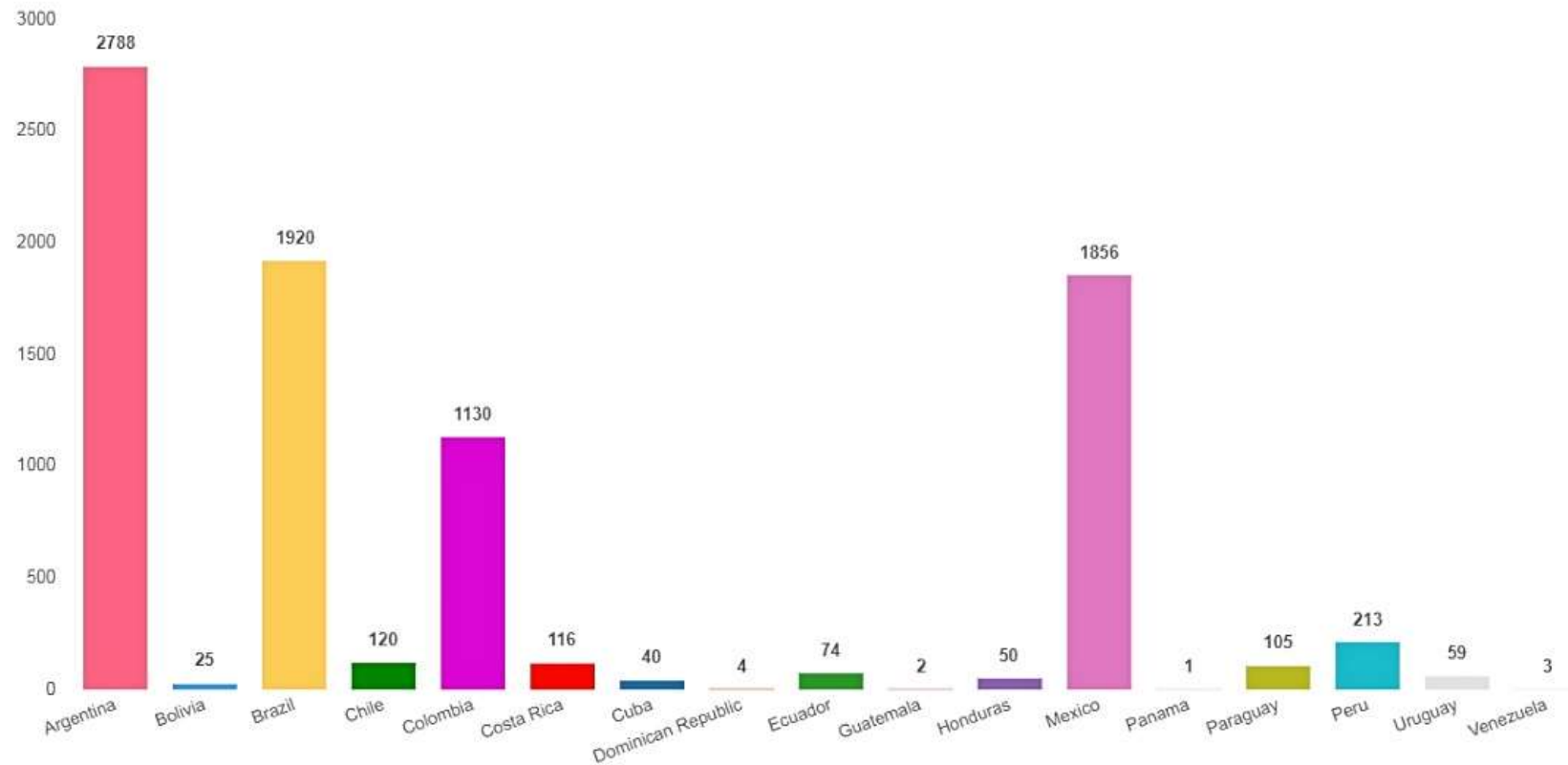


Figura 4. Número total de registros de casos de IDP no banco de dados da *Latin American Society for Immunodeficiencies (LASID)* por país. Fonte: *Latin American Society for Immunodeficiencies (LASID)*. Disponível em: <https://lasidregistry.org/view/statistics/general/2021-02>.

As IDP foram classificadas em 9 categorias pela Organização Mundial da Saúde/*International Union of Immunological Societies* [União Internacional de Sociedades Imunológicas]. São elas: Imunodeficiências que afetam a imunidade celular e humoral (Imunodeficiências combinadas), Imunodeficiências combinadas com características associadas ou sindrômicas, Deficiências Predominante de Anticorpos, Desordens de Desregulação Imune, Desordens Autoinflamatórias, Defeitos na imunidade intrínseca e inata, Defeitos Congênitos de Fagócitos, Deficiências do Sistema do Complemento e Fenocópias de IDP (Figura 5) (SOBH & BONILLA, 2016).

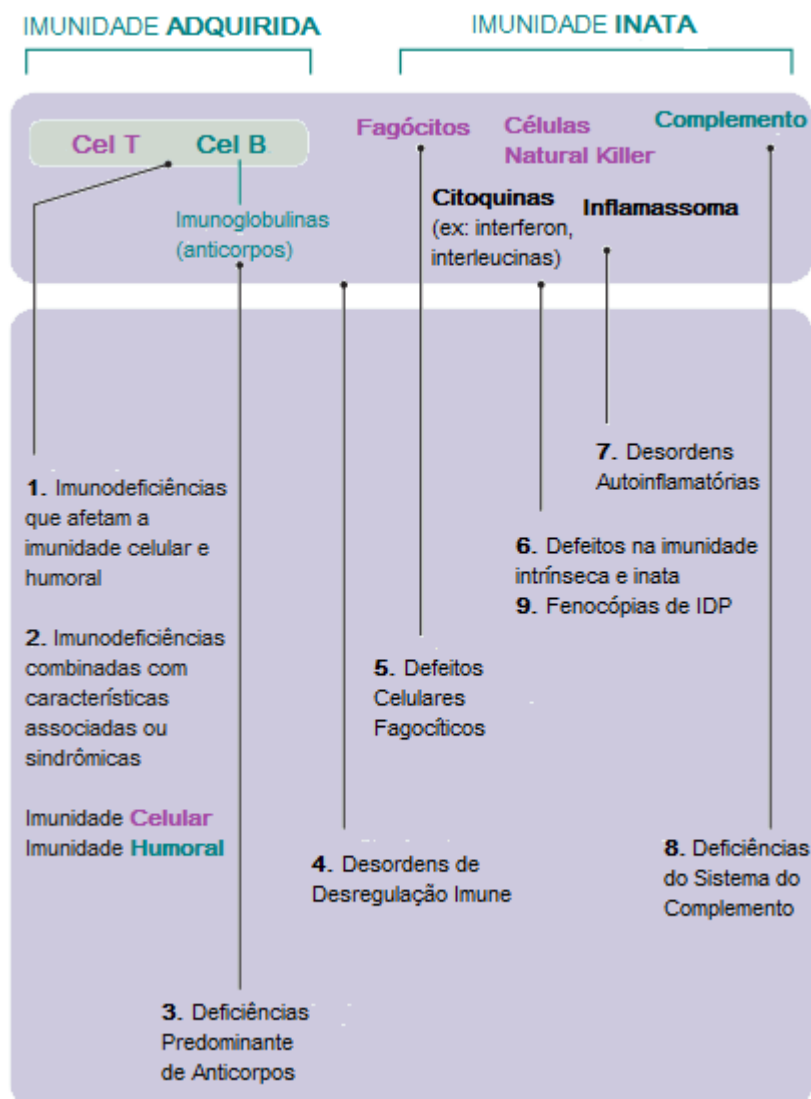


Figura 5. Os 9 grupos dentro dos quais as IDP são classificadas de acordo com os componentes do sistema imune que sofrem alteração. **Fonte:** Adaptado de *International Patient Organisation for Primary Immunodeficiencies* (IPOPI), 2016. Disponível em: https://ipopi.org/wp-content/uploads/2017/07/WEB_IPOPI_Classification.pdf

As imunodeficiências que afetam as imunidades celular e humoral causam defeitos imunológicos combinados que afetam ambos os tipos de imunidade adquirida; já as imunodeficiências combinadas com características associadas ou sindrômicas afetam as células T e B, causando anormalidades das mesmas, algumas das quais podem ser muito graves; as deficiências predominante de anticorpos afetam a produção dessas moléculas colocando os seus portadores em risco de desenvolver infecções e doenças autoimunes; a categoria das desordens de desregulação imune é grande e diversa e nela estão alocadas as IDP causadas por anormalidades genéticas que afetam os mecanismos que controlam o sistema imunológico; os defeitos celulares fagocíticos podem afetar o número, função ou ambos destas células, que incluem neutrófilos e macrófagos, os quais são células imunológicas que engolem e matam microorganismos invasores, sendo, portanto, componentes importantes do sistema imunológico inato; os defeitos na imunidade intrínseca e inata, por afetarem componentes importantes do sistema de defesa dos portadores desse tipo de IDP, colocam os pacientes em risco de infecções graves por microorganismos específicos, incluindo micobactérias, vírus e fungos; os distúrbios autoinflamatórios são doenças que resultam da inflamação causada principalmente pela estimulação anormal do sistema imunológico inato; a categoria deficiências do sistema do complemento compreende as IDP que afetam um grupo de proteínas que ajudam os fagócitos a encontrar, identificar e engolir microorganismos e que podem matar diretamente as próprias bactérias e vírus; as fenocópias de IDP são condições que não resultam de mutações genéticas herdadas, mas são adquiridas durante a vida. Eles são causados por mutações genéticas "somáticas" ou por autoanticorpos (IPOP, 2016).

As deficiências de anticorpos são os tipos de IDP mais comumente diagnosticadas (CONDINO-NETO & ESPINOSA-ROSALES, 2018), sendo a deficiência de IgA a mais prevalente. A deficiência dessa imunoglobulina - que é o anticorpo mais produzido no corpo e funciona na vanguarda do mecanismo de defesa biológica em infecções que afetam os tecidos da mucosa, como a gripe - foi fortemente correlacionada às taxas de infecção por COVID-19 (NAITO *et al.*, 2020). Além disso, foi constatado que infecções virais respiratórias tendem a ser mais significativas em pacientes com deficiências imunológicas de células T (RUFFNER *et al.*, 2017) .

De acordo com a Associação Brasileira de Alergia e Imunologia, em conjunto com o Grupo Brasileiro de Imunodeficiências e a *Jeffrey Modell Foundation* Brasil (2020), de uma maneira geral, pacientes com diagnóstico de alguma imunodeficiência primária apresentam o

mesmo risco que todas as pessoas para se infectar pelo coronavírus SARS-CoV-2, mas apresentam riscos diferentes para ter a doença respiratória grave causada por esse vírus, dependendo do tipo de defeito do sistema imunológico apresentado. Diante disso, é possível dividir os portadores de IDP em três grupos de risco para a COVID-19: extremamente vulneráveis, moderadamente vulneráveis e de baixo risco (Figura 5).

Quadro 1 - Estratificação de risco para COVID-19 em pacientes com imunodeficiências primárias (IDP) ou erros inatos da imunidade (EII) e imunodeficiências secundárias

Condição clínica	GRUPO 1 Extremamente vulnerável	GRUPO 2 Risco moderado	GRUPO 3 Risco semelhante ao da população em geral
Imunodeficiências primárias	<p>Imunodeficiências combinadas de células T e B</p> <p>Linfopenia CD4 no contexto de qualquer EII</p> <p>Qualquer EII necessitando uso de antibioticoprofilaxia ou imunoglobulina com comorbidades*</p> <p>Qualquer EII necessitando uso de antibioticoprofilaxia ou imunoglobulina E em uso de mais de 5 mg de prednisona ao dia ou imunossupressores** ou anticorpos monoclonais*** ou inibidores da JAK# por mais de 4 semanas</p> <p>Desordens associadas a hemofagocitose linfocítica</p>	<p>Imunodeficiência comum variável</p> <p>Agamaglobulinemia congênita</p> <p>Doença granulomatosa crônica</p> <p>Outras IDP em uso de imunoglobulina ou antibioticoprofilaxia que não preencham critérios do grupo 1</p> <p>Defeitos do sistema do Complemento (exceto de MBL)</p>	<p>Outros defeitos primários na produção de anticorpos sem alteração pulmonar e sem necessidade de uso de imunoglobulina ou antibióticos profiláticos</p> <p>Deficiência de MBL</p> <p>Deficiência seletiva de IgA</p>

Figura 6. Quadro contendo os três grupos de risco para a COVID-19 em pacientes com imunodeficiências primárias (IDP) de acordo com a Associação Brasileira de Alergia e Imunologia, Grupo Brasileiro de Imunodeficiências e Jeffrey Modell Foundation Brasil. Fonte: Adaptado de Associação Brasileira de Alergia e Imunologia, Grupo Brasileiro de Imunodeficiências e Jeffrey Modell Foundation Brasil, 2020. Disponível em: https://asbai.org.br/wp-content/uploads/2020/04/2020-04-03-_DOC_ASBAI_BRAGID_JMFB_2.pdf.

Pacientes com algum tipo de imunocomprometimento, como é o caso de portadores de IDP, têm maior suscetibilidade a infecções evitáveis por vacinas. Assim, a vacinação é um fator crítico problema nesta população.

Diante dessas considerações e do contexto pandêmico em que a sociedade mundial se encontra, ressalta-se a importância da identificação de um relevante grupo vulnerável no contexto da COVID-19.

2. JUSTIFICATIVA

A pandemia causada pelo novo coronavírus tem se mostrado um dos maiores desafios sanitários em escala global deste século (WERNECK & CARVALHO, 2020), devido às altas taxas de infecção e mortalidade que apresenta. No entanto, a mortalidade que resulta do desenvolvimento de formas severas da COVID-19 varia entre diferentes grupos, o que se atribui a diversos fatores, entre eles, fatores do hospedeiro (SOUZA *et al.*, 2020).

De acordo com a WHO (2021), pacientes portadores de condições que afetam seu sistema imunológico se enquadram no grupo de alto risco, o que significa que possuem maior chance de desenvolver formas críticas da COVID-19 e, conseqüentemente, uma maior probabilidade de necessitar de hospitalização ou tratamento intensivo e de vir a óbito em decorrência da doença. Esses pacientes apresentam ainda uma maior suscetibilidade a desenvolver reações adversas e respostas inadequadas a vacinas (SOBH & BONILLA, 2016).

Para identificar esses grupos vulneráveis, os fatores de risco para a progressão a formas graves e fatais da doença devem ser encontrados. Além disso, a identificação de fatores de risco pode ser importante na orientação do diagnóstico, terapia, controle de doença e contribuir para a investigação dos processos fisiopatológicos da COVID-19, a partir do qual possíveis estratégias de tratamento podem ser desenvolvidas (WOLF *et al.*, 2020).

Recentemente, as taxas de mortalidade de COVID-19 entre pacientes portadores de IDP foram descritas como sendo 10 vezes mais altas do que entre a população em geral (DELAVARI *et al.*, 2020) e a deficiência de IgA, a IDP mais prevalente, foi fortemente correlacionada às taxas de infecção por COVID-19. Ademais, várias regiões identificadas como estando relacionadas à severidade em COVID-19 através de estudos de WES (*Whole Exome Sequencing*) e GWAS (*Genome-wide Association studies*) possuem genes relacionados à IDP.

Assim sendo, a inclusão de triagem preventiva em massa da população visando a detecção de IDP, a partir de um protocolo direcionado, surge como uma ferramenta útil para a gestão da saúde pública no contexto da COVID-19, identificando um grupo vulnerável importante, uma vez que as IDP emergem como um potencial e importante fator no prognóstico da COVID-19.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAIS

- Demonstrar a relevância de imunodeficiências primárias no prognóstico da COVID-19 e sugerir um protocolo de triagem em massa da população visando a detecção de IDP.

3.2. ESPECÍFICOS

- Identificar os genes que, de acordo com a literatura, estão comumente envolvidos no desenvolvimento de IDP e na progressão da doença grave em COVID-19;
- Adaptar um protocolo de triagem de IDP pré-existente para que seja aplicado no contexto da COVID-19, visando a detecção de um grupo vulnerável a desenvolver a forma mais grave da doença e reações adversas a alguns tipos de vacina anti-COVID-19.

4. ARTIGO COMPLETO NO FORMATO DA REVISTA

Título: Primary immunodeficiencies: major players in the context of COVID-19

Autores: Karita Lorena França Almeida, Bruno Conde Costa da Silva , Jakub Kisel, Fabíola Brasil Barbosa Rodrigues, Eduardo José Melo dos Santos

Status: Não Submetido

Revista: Medical Hypotheses

ISSN: 0306-9877

Fator de Impacto: 1.375 (Qualis B2)

Primary immunodeficiencies: major players in the context of COVID-19

Karita L. F. Almeida ^{a,b}, Bruno C. C. Silva ^a, Jakub Kisel ^d, Fabíola B. Barbosa ^{a,c}, Eduardo J. M. Santos ^{a,b,c *}

^a Laboratory of Genetics of Complex Diseases, Federal University of Pará, Brazil

^b Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas, Federal University of Pará, Brazil

^c Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Federal University of Pará, Brazil

^d Department of Mathematics and Computer Science, University of Southern Denmark, Denmark

To whom correspondence should be addressed:

Prof. Eduardo José Melo dos Santos
Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia.
Campus Universitario do Guama, Rua Augusto Correa s/n
Guamá
66075970 - Belém, PA - Brasil - Caixa-postal: 8615
Telefone: (91) 32017933
E-mail: ejmsantos@yahoo.com

Abstract/Summary

COVID-19, the disease caused by SARS-CoV-2 infection has a wide range of symptoms which can go from asymptomatic to severe state. It is known today that the immune system plays an important role in the disease progression and that patients presenting with immune disorders may be at a higher risk of developing a more serious form of the disease. Thus, we propose that Primary immunodeficiency disorders (PID) are major players in COVID-19 prognosis. Previous GWAS and WES studies have shown that several of the PID genes related are also associated with critical illness in COVID-19. We surveyed these genes for their respective putative loss-of-function variants and retrieved their worldwide frequencies. We found out that the variant of the IFNAR2 gene rs773890486 and the OAS3 gene mutation rs61942233 have specially high frequencies in Europeans, which might be related to the higher case fatality rate of COVID-19 in this population when compared to the case fatality rate in East Asians and Africans. Hence, preventive screening of PID in the population could be a useful tool for public health management, identifying an important vulnerable group.

INTRODUCTION

The Corona Virus Disease of 2019 (COVID-19) was initially described as a severe respiratory distress syndrome caused by the Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection [1]. However, it is known today that the spectrum of symptoms of the disease is wide, ranging from asymptomatic to severe state [2] involving inflammatory and thromboembolic manifestations, along with a number of systemic pathogenic mechanisms [3].

The main host proteins involved in the virus infectivity are angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), which is the virus receptor, and transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2), involved in the viral spike protein S cleavage, which activates viral internalization [4]. Additionally, ADAM metallopeptidase domain 17 (ADAM17) also plays a key role in ACE2 cleavage and virus entry in cells [3].

The severity of COVID-19 has been associated with several comorbidities and other host factors [5, 6]. One of them is immune response impairment, which has been identified as important since the beginning of the pandemic by several studies [7, 8, 9, 10].

In this context, altered immune responses as those caused by aging in SARS-CoV-2 infection [11] and the predisposition to exhaustion of T-cells in COVID-19 [12] may play an important role in the disease progression.

Although it is still unclear how the response to virus infection is affected by an immunosuppressive status [13], patients presenting with immune disorders may be at a higher risk of developing a more serious form of the disease, like those with Primary immunodeficiencies (PID), where cases of death by coronavirus have been reported [14, 15, 16].

THE HYPOTHESIS

In agreement with previous studies that suggest more aggravate viral infections in PID [20], we hypothesize that Primary Immunodeficiencies (PID) constitute a major risk factor for COVID-19 severity.

Primary immunodeficiency constitutes a heterogeneous group of more than 350 rare diseases resulting from the impairment of different components of the immune system caused by inborn genetic errors, which leads to predisposition to increased frequency and severity of infection, autoimmune and autoinflammatory disorders, and malignancy [17]. They are mainly monogenic and there are at least 308 genes recognized involved in their etiology according to ORPHANET database (<https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>), an international registry for genetic rare diseases [18], but additional genes have been reported in panels like PanelApp [19].

FUNDAMENTALS OF THE HYPOTHESIS

The first direct evidences of the role of PID in COVID-19 prognosis originated from case series studies. The two largest studies of this kind reported that i) four male individuals from two unrelated families who presented with severe COVID-19 carried pathogenic mutations at gene *TLR7* [21], reported as a PID related gene at PanelApp; ii) seven patients with primary antibody deficiencies, from which five were common variable immune deficiencies (CVIDS) and two agammaglobulinemia. CVIDS patients displayed severe COVID-19 symptoms but agammaglobulinemia patients presented with milder symptoms. The differences in clinical presentation were attributed to the immunoglobulin substitutive therapy the agammaglobulinemia patients were submitted to [22].

Furthermore, a meta-analytical study correlated COVID-19 worldwide incidences with IgA selective deficiency prevalence [23], the most frequent PID which reaches prevalence as high as 1% in some countries.

More recently the COVID-19 mortality rates among PID have been described to be 10-folds higher than among the general population [24].

Additional genetic evidences, originated from whole exome sequencing (WES), identified 24 functional variants at eight genes: *TLR3*, *UNC93B1*, *TICAM1*, *TBK1*, *IRF7*, *IFNAR2*, *IRF3* e *IFNAR1* in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia [25] being the first six reported at ORPHANET PID gene list and the last two at PanelApp PID gene set. Moreover, the gene *ADAM17*, described as related to SARS-CoV-2 infectivity and modulation of inflammatory response [26, 27, 28], is also reported as a PID related gene in ORPHANET.

Genome Wide Association Studies (GWAS) were able to identify some chromosomic regions associated with COVID-19 severity [29, 30]. In special, two of these regions contain PID related genes: 19p13.3, where the genes *C3*, *CD70*, *CFD*, *ELANE* and *TCF3* are located; and 3p21.31 that contains the gene *TREX1*. Notably, the region 3p21.31 was reported in both GWAS studies mentioned above. *TREX1* function impairment is associated with distinct activation of the IFN-stimulated genes and increase in the release of proinflammatory cytokines (IL-6) and chemokines (CXCL10 and CCL5) [31].

Several regions and genes which were found to be related to COVID-19 severity or susceptibility by GWAS and WES studies are also associated with PID etiology, as summarized in Table 1.

It is noteworthy that the worldwide prevalence of PID is heterogeneous. Although exact data is scarce - besides data on selective IgA deficiency, extrapolations suggest that about 1-2% of the world's population is affected by one of the known PID [32]. Among groups of

selected patients though, such as those hospitalized with severe infections in the Pediatric Intensive Care Unit, PID incidence can reach up to 10% [33].

Hence, PID emerges as a potential major player in COVID-19 prognosis and preventive screening of PIDs in the population could be a useful tool for public health management, identifying an important vulnerable group.

CONSEQUENCES OF THE HYPOTHESIS AND DISCUSSION

PID carriers emerge clearly as a putative COVID-19 poor prognosis group and besides the predisposition to more severe disease, their response to vaccines could be compromised for multiple reasons: first, the efficacy would be lower for some PID carriers with antibody production disorder [34]. Second, the safety would be affected by the predisposition to allergy, which is one of the major adverse reactions to vaccines of PID carriers with altered immunoglobulin production [35]. Furthermore, the use of some COVID-19 vaccines, like those that use potentially pathogenic vectors or attenuated SARS-CoV-2 virus would not be advisable in those patients due to their immune response deficiency.

Hence, it would be important to include mass surveys for PID in public health management of COVID-19.

The first step for PID diagnosis is a clinical screening. After excluding background diseases like diabetes, HIV infection, some types of cancer and use of immunosuppressing therapies [36], anamneses for the ten warning signals for PID in adulthood and childhood should be carried out (Table 2) [17]. The presence of two or more of these warning signals is suggestive of PID and additional laboratorial investigations should be considered.

Despite the limitations in detecting some types of PID [37], one study showed that the overall significance of having at least two of the 10 PID warning signs led to a sensitivity of

94% and approximately 64% of specificity. When adopting a more rigorous criteria of at least tree warning signs the sensitivity decreased to 77%, but the specificity rose up to 86% [38].

Since about 50% of the PID involves impairment of the antibody or immunoglobulin levels [32], laboratorial dosage of total serum immunoglobulin level like IgG, IgA and IgM becomes a valuable complement for PID diagnosis. A parallel evaluation of alterations in blood cells count in order to detect cell mediated immunity defects is also relevant for an initial approach. [39]. Additional laboratorial tests are valuable, but the final diagnostic of PID relies on the identification of genetic mutations on key PID genes by WES [40] or genotyping panels [41, 42].

In face of the COVID-19 pandemics, a large-scale screening of PID based on clinical anamneses and the ten warning signs, along with immunoglobulins dosage and blood cell counts would be relevant on identifying vulnerable population groups. Furthermore, a panel of PID pathogenic mutations based on their worldwide frequencies could be relevant for evaluation of suspicious cases.

In order to investigate the relevance of the ten warning signals we surveyed the presence of two or more of them among symptomatic COVID-19 patients (360 individuals) and healthy individuals (475) that did not report any COVID-19 infection. Among COVID-19 patients 4,17% reported to have at least two warning signs for PID while only 1,9% of the healthy individuals reported two or more warning signals for PID. Considering a more rigorous criterion, 2,5% of the COVID-19 group displayed three or more warning signal, which was very contrasting with the non-COVID-19 group, where only 0,4% reported three or more warning signals. Fisher exact test for these differences were significant and the odds ratios were higher than 2, suggesting that a simple clinical survey could be useful for mass screening for COVID-19 development.

We surveyed the non-MHC PID genes present in COVID-19 related regions mentioned in Table 1 for their respective putative loss-of-function (pLOF) variants in the Genome Aggregation Database v2.1.1 (gnomAD; <https://gnomad.broadinstitute.org/>) [43] and retrieved their worldwide frequencies. The sum of the frequencies of all pLOF variants reported in each gene is presented in Figure 1A. In our analysis, we excluded the variants that contained any flags that signaled their annotation was dubious or had a low level of confidence. Considering the genes with the most frequent mutations it was possible to present a geographic scenario highlighting the most likely PID genes to be addressed to PID diagnostic.

IFNAR2 showed the highest frequency of pLOF mutations worldwide (Figure 1.). The study performed by Pairo-Castineira *et al* (2020) showed that this gene together with *OAS* genes is crucial for the innate antiviral defenses early in COVID-19, an important biological mechanism in the development of the severity of the disease.

IFNAR2 plays a key role in Susceptibility to Hepatitis B Virus [44]. Besides that, an inborn mutation in *IFNAR2* was also related to Immunodeficiency 45. The homozygous truncating mutation was found in a 13-month-old male who developed severe and fatal encephalitis after routine measles/mumps/rubella vaccination [45]

The *OAS* genes consist of a cluster of the *OAS1*, *OAS2*, and *OAS3* genes [46]. Some isoforms of the *OAS1* gene and *OAS3* gene showed an antiviral role against Dengue virus [47]. The *OAS3* gene was also reported to have an antiviral role against Chikungunya virus [48]. Interestingly, the *OAS3* showed a high frequency of pLOF alleles worldwide and its variant rs61942233 is present in 0,011 of the world's population.

IFRNA2 most frequent variant, rs773890486, showed to be 0,002 frequent in the whole world. Notably, both mentioned variants are more frequent in Europeans than Africans and East Asians (Figure 1B), which might be a contributor factor to higher mortality rates in Europe than in other ethnic groups like Africans and East-Asians [49].

On the other hand, some studies claim that patients with some type of immunosuppression seem to have often a milder COVID-19 course when compared to the general population and immune defects may work as protective factor towards SARS-CoV-2 infection [15]. Thus, further studies considering a larger spectrum of PID related genes and their variants, together with their distribution over the population groups that display highest numbers of critical illness in COVID-19 should be carried out in order to corroborate our hypothesis.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The present work was supported by Federal University of Pará, Clinical Analysis Post-Graduation Program, Biology of Infectious and Parasitary Post-Graduation Program and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (CNPq) grant number CNPQ 401235/2020-3. Federal University of Pará provided also logistics for the completion of this study.

REFERENCES

- [1] Becker RC. COVID-19 Update: Covid-19-Associated Coagulopathy. *J Thromb Thrombolysis* 2020;50 (1):54–67. <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02134-3>.
- [2] Singhal, T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr* 2020; 87(4):281–286. <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03263-6>.
- [3] Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, Transmission, and Pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ (Clinical Research Ed.)* 2020;371:m3862. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3862>.
- [4] Stopsack KH, Mucci LA, Antonarakis ES, Nelson PS, Kantoff PW. TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or Opportunity for Intervention?. *Cancer Discov* 2020;1–4. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-20-0451>.
- [5] Erener S. Diabetes, infection risk and COVID-19. *Mol Metab* 2020 Sep;39:101044. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101044>.
- [6] Zaki N, Alashwal H, Ibrahim S. Association of hypertension, diabetes, stroke, cancer, kidney disease, and high cholesterol with COVID-19 disease severity and fatality: A systematic review. *Diabetes Metab Syndr* 2020;14(5):1133-1142. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.07.005>.
- [7] Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. COVID-19 and the Immune System. *Physiol Res* 2020;69:379-388. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934492>.
- [8] García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front Immunol* 2020 Jun 16;11:1441. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01441>.

- [9] Jesenak M, Brndiarova M, Urbancikova I, Rennerova Z, Vojtkova J, Bobcakova A, et al. Immune Parameters and COVID-19 Infection - Associations With Clinical Severity and Disease Prognosis. *Front Cell Infect Microbiol* 2020;10:364. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00364>.
- [10] Arunachalam PS, Wimmers F, Mok CKP, Perera RAPM, Scott M, Hagan T, et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science* 2020;369(6508):1210-1220. <https://doi.org/10.1126/science.abc6261>.
- [11] Baas T, Roberts A, Teal TH, Vogel L, Chen J, Tumpey TM, Katze MG, Subbarao K. Genomic Analysis Reveals Age-Dependent Innate Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *J Virol* 2008;82:9465–9476. doi:10.1128/jvi.00489-08.
- [12] Zheng HY, Zhang M, Yang CX, Zhang N, Wang XC, Yang XP, Dong XQ, Zheng YT. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol* 2020; 17:541–543. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>.
- [13] Minotti C, Tirelli F, Barbieri E, Giaquinto C, Donà D. How is immunosuppressive status affecting children and adults in SARS-CoV-2 infection? A systematic review. *J Infect* 2020; 81(1):e61–e66. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.026>.
- [14] Szczawinska-Poplonyk A, Jonczyk-Potoczna K, Breborowicz A, Bartkowska-Sniatkowska A, Figlerowicz M. Fatal respiratory distress syndrome due to coronavirus infection in a child with severe combined immunodeficiency. *Influenza Other Respi Viruses* 2013;7:634–636. <https://doi.org/10.1111/irv.12059>.
- [15] Meyts I, Buccioli G, Quinti I, Neven B, Fischer A, Seoane E, et al. Coronavirus Disease

- 2019 in patients with inborn errors of immunity: an international study. *J Allergy Clin Immunol* 2020;24;S0091-6749(20)31320-8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.09.010>.
- [16] Mullur J, Wang A, Feldweg A. A fatal case of coronavirus disease 2019 in a patient with common variable immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;126(1):89e104. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2020.08.017>.
- [17] McCusker C, Upton J, Warrington R. 2018. Primary Immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2018;14(suppl 2):142–52. [https://doi.org/10.1016/S0095-4543\(05\)70085-3](https://doi.org/10.1016/S0095-4543(05)70085-3).
- [18] Pavan S, Rommel K, Marquina MEM, Höhn S, Lanneau V, Rath A. Clinical Practice Guidelines for Rare Diseases: The Orphanet Database. *PLoS ONE* 2017;12(1): 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170365>.
- [19] Martin AR, Williams E, Foulger RE, et al. “PanelApp Crowdsources Expert Knowledge to Establish Consensus Diagnostic Gene Panels.” *Nat Genet* 2019;51 (11): 1560–65. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0528-2>.
- [20] Dropulic LK, Cohen JI. Severe Viral Infections and Primary Immunodeficiencies. *Clin Infect Dis* 2011;53(9):897–909. <https://doi.org/10.1093/cid/cir610>.
- [21] van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J, et al. Presence of Genetic Variants among Young Men with Severe COVID-19. *JAMA* 2020;1–11. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.13719>.
- [22] Quinti I, Lougaris V, Milito C, et al. A Possible Role for B Cells in COVID-19? Lesson from Patients with Agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146(1):211-213.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.04.013>.
- [23] Naito Y, Takagi T, Yamamoto T, Watanabe S. Association between Selective IgA

- Deficiency and COVID-19. *J Clin Biochem Nutr* 2020;67(2):122–25.
<https://doi.org/10.3164/jcbn.20-102>.
- [24] Delavari S, Abolhassani H, Abolnezhadian F, Babaha F, Iranparast S, Ahanchian H. Impact of SARS-CoV-2 Pandemic on Patients with Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2020;1:1–11. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00928-x>.
- [25] Zhang Q, Bastard P, Liu Z, et al. Inborn Errors of Type I IFN Immunity in Patients with Life-Threatening COVID-19. *Science* 2020 Oct 23;370(6515):eabd4570.
<https://doi.org/10.1126/science.abd4570>.
- [26] Zipeto D, Palmeira JF, Argañaraz GA, Argañaraz ER. ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19. *Front Immunol* 2020;11 (October):1–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.576745>.
- [27] Palau V, Riera M, Soler MJ. ADAM17 Inhibition May Exert a Protective Effect on COVID-19. *Nephrol Dial Transplant* 2020;35(6):1071–72.
<https://doi.org/10.1093/ndt/gfaa093>.
- [28] Heurich A, Hofmann-Winkler H, Gierer S, Liepold T, Jahn O, Pohlmann S. TMPRSS2 and ADAM17 Cleave ACE2 Differentially and Only Proteolysis by TMPRSS2 Augments Entry Driven by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein. *J Virol* 2014;88(2):1293–1307. <https://doi.org/10.1128/jvi.02202-13>.
- [29] Ellinghaus D, Degenhardt F, et al. 2020. Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *N Engl J Med* 2020; 383:1522-1534
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2020283>.
- [30] Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. 2020. Genetic Mechanisms of Critical Illness in Covid-19. *MedRxiv* 2020;17(8):25.

<https://doi.org/10.1101/2020.09.24.20200048>.

- [31] Cuadrado E, Michailidou I, Bodegraven EJ, et al. Phenotypic Variation in Aicardi–Goutières Syndrome Explained by Cell-Specific IFN-Stimulated Gene Response and Cytokine Release. *J Immunol* 2015;194(8):3623–33.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401334>.
- [32] Modell V, Knaus M, Modell F, Roifman C, Orange J, Notarangelo LD. Global Overview of Primary Immunodeficiencies: A Report from Jeffrey Modell Centers Worldwide Focused on Diagnosis, Treatment, and Discovery. *Immunol Res* 2014;60(1):132–44. <https://doi.org/10.1007/s12026-014-8498-z>.
- [33] Suavinho E, de Napolis ACR, Segundo GRS. Primary Immunodeficiency Investigation in Patients during and after Hospitalization in a Pediatric Intensive Care Unit. *Rev Paul Pediatr* 2014;32(1):32–36. <https://doi.org/10.1590/s0103-05822014000100006>.
- [34] Özdemir Ö. Current Approach to Primary Immunodeficiency Diseases. *South Clin Istanbul Eurasia* 2019;30(1):83–90. <https://doi.org/10.14744/scie.2019.29290>.
- [35] Yazdani R, Azizi G, Abolhassani H, Aghamohammadi A. Selective IgA Deficiency: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Phenotype, Diagnosis, Prognosis and Management. *Scand J Immunol* 2017;85(1):3–12. <https://doi.org/10.1111/sji.12499>.
- [36] Sánchez-Ramón S, Bermúdez A, González-Granado LI, et al. Primary and Secondary Immunodeficiency Diseases in Oncohaematology: Warning Signs, Diagnosis, and Management. *Front Immunol* 2019;10(MAR):1–8.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00586>.
- [37] Arkwright PD, Gennery AR. Ten Warning Signs of Primary Immunodeficiency: A New Paradigm Is Needed for the 21st Century. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1238: 7–14.

<https://doi.org/10.1111/1749-6632.2011.06206.x>.

- [38] Reda SM., El-Ghoneimy DH, Afifi HM. Clinical Predictors of Primary Immunodeficiency Diseases in Children. *Allergy Asthma Immunol Res* 2013;5(2):88–95. <https://doi.org/10.4168/aair.2013.5.2.88>.
- [39] Hauck F, Bangol B, Rakhmanov M, Klein HG, Klein C. Rational Laboratory Diagnostics of Primary Immunodeficiency Disorders. *Lab Med* 2015;39(5):343–54. <https://doi.org/10.1515/labmed-2015-0050>.
- [40] Chinn IK, Bostwick BL. The Role of Genomic Approaches in Diagnosis and Management of Primary Immunodeficiency. *Curr Opin Pediatr* 2018;30(6):791–97. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000695>.
- [41] Rae W, Ward D, Mattocks C, et al. Clinical Efficacy of a Next-Generation Sequencing Gene Panel for Primary Immunodeficiency Diagnostics. *Clin Genet* 2018;93(3):647–55. <https://doi.org/10.1111/cge.13163>.
- [42] Xia Y, He T, Luo Y, et al. Targeted Next-Generation Sequencing for Genetic Diagnosis of 160 Patients with Primary Immunodeficiency in South China. *Pediatr Allergy Immuno* 2018;29(8):863–72. <https://doi.org/10.1111/pai.12976>.
- [43] Karczewski K J, Francioli L. The Genome Aggregation Database (gnomAD). *MacArthur Lab* 2017. <https://gnomad.broadinstitute.org/12>.
- [44] Frodsham AJ, Zhang L, Dumpis U, et al. Class II cytokine receptor gene cluster is a major locus for hepatitis B persistence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:9148-9153. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602800103>.

- [45] Duncan CJA, Mohamad SMB, Young DF, et al. Human IFNAR2 deficiency: lessons for antiviral immunity. *Sci Transl Med* 2015;7:307ra154. Note: Electronic Article. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aac4227>.
- [46] Hovnanian A, Rebouillat D, Mattei M-G, Levy ER, Marie I, Monaco AP, Hovanessian, AG. The human 2-prime,5-prime-oligoadenylate synthetase locus is composed of three distinct genes clustered on chromosome 12q24.2 encoding the 100-, 69-, and 40-kDa forms. *Genomics* 52: 267-277, 1998.
- [47] Lin RJ, Yu HP, Chang BL, Tang WC, Liao CL, Lin YL. Distinct antiviral roles for human 2-prime,5-prime-oligoadenylate synthetase family members against Dengue virus infection. *J. Immun.* 2009;183:8035-8043.
- [48] Bréhin AC, Casadémont I, Frenkiel MP, Julier C, Sakuntabhai A, Desprès P. The large form of human 2',5'-Oligoadenylate Synthetase (OAS3) exerts antiviral effect against Chikungunya virus. *Virology*. 2009;5;384(1):216-22. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.10.021>.
- [49] Bangboye EL, Omiye JA, Afolaranmi OJ, Davids MR, Tannor EK, Wadee S, et al. COVID-19 Pandemic: Is Africa Different? *J Natl Med Assoc* 2020;2:S0027-9684(20)30345-X. <https://doi.org/10.1016/j.jnma.2020.10.001>.

FIGURES AND TABLES

Table 1. Chromosome regions identified as important in COVID-19 severity and their respective relationships with PID genes.

Region	Type of Study	Observations
2p25.1	Functional studies [26, 27]	The region contains the ADAM17 gene, which is listed as PID gene by ORPHANET. Evidences show this gene plays an important in COVID-19 pathogenesis.
3p21.31	GWAS [29, 30]	This region was identified in two GWAS studies that searched for regions with important role in COVID-19 severity and contains the PID related gene TREX1.
9q34.2	GWAS [29]	This region contains the ABO blood group system, described as associated with COVID-19 susceptibility in a number of papers.
12q24.13	GWAS [30]	One SNP was found to be associated with critical illness in COVID-19 in this region, which contains the OAS1 gene. This gene is related to immune function and innate response to viruses and is listed as PID genes at PanelApp.
19p13.3	GWAS [30] WES [25]	This region contains PID related genes like C3, CFD, ELANE and TICAM1. Additionally, mutations at TICAM1 in patients with critical COVID-19 were described by a WES study.
19p13.2	GWAS [30]	TYK2, a PID related gene according to ORPHANET whose important role in early COVID-19 has been described, is located in this region. This region also contains the PID related genes STXBP2 and ACP5.

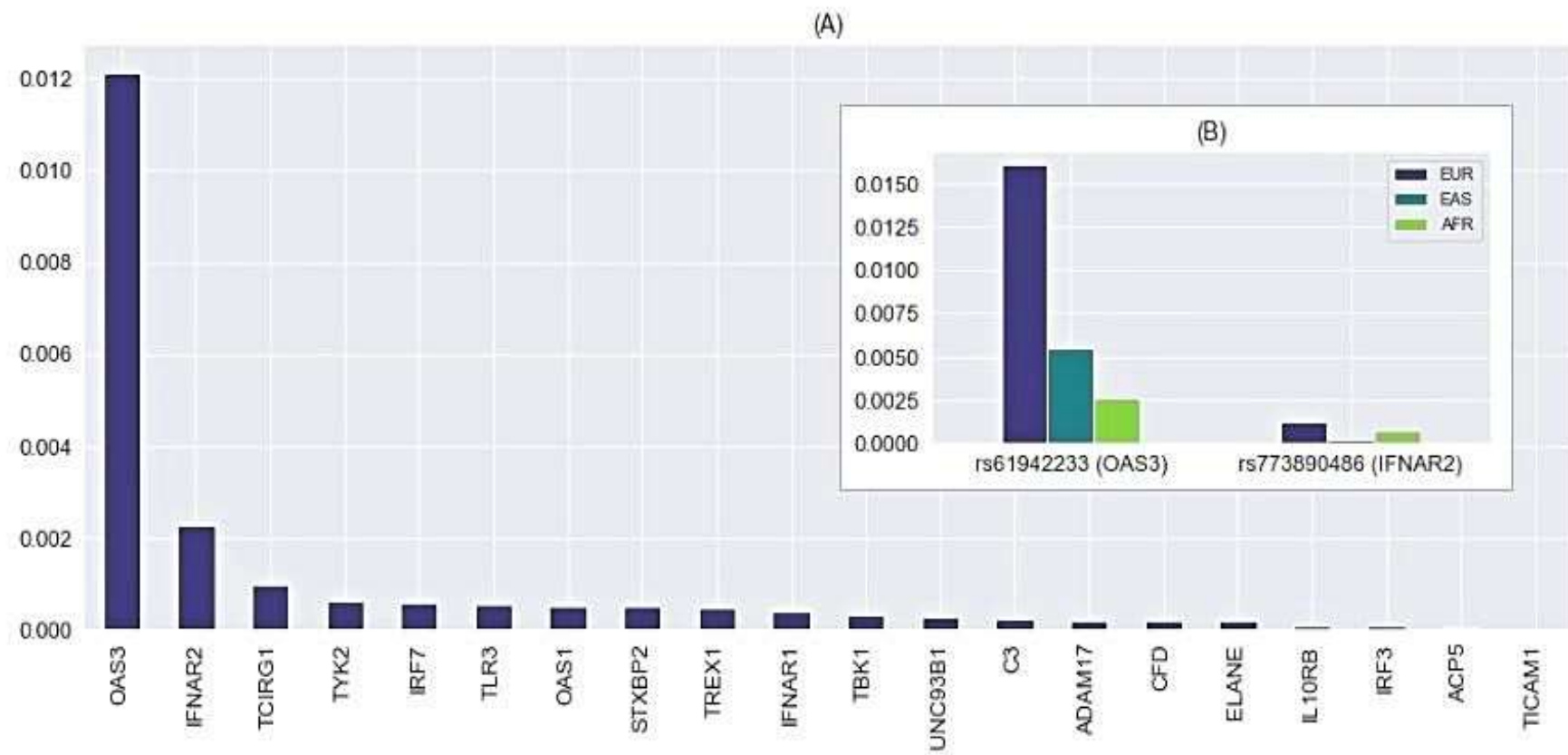
6p22.1	GWAS [30]	This region contains the HLA-G gene, where one SNP was found in patients with critical COVID-19. This region also contains some class I MHC genes like HLA-A.
6p21.33	GWAS [30]	This region contains the CCHCR1 gene, where one SNP was found in patients with critical COVID-19. This region also contains some class I MHC genes like HLA-B and -C, as well as the PID related genes C2 and SKIV2L.
6p21.32	GWAS [30]	This region contains the NOTCH4 gene, where one SNP was found in patients with critical COVID-19. This region also contains some class II MHC genes like HLA-DRB1, as well as the PID related genes TAP1, TAP2 and TAPBP.
4q35.1	WES [25]	This region contains the gene TLR3, a PID related gene according to ORPHANET where inborn errors were described in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia.
11q13.2	WES [25]	This region contains the gene UNC93B1, a PID related gene according to ORPHANET where inborn errors were described in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia. This region also contains the PID related gene TCIRG1.
12q14.2	WES [25]	This region contains the gene TBK1, a PID related gene according to ORPHANET where inborn errors were described in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia.
19q13.33	WES [25]	This region contains the gene IRF3 where inborn errors were described in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia. IRF3 is listed as a PID related gene at PanelApp and is directly related to Interferon pathways.

11p15.5	WES [25]	This region contains the gene IFR7 where inborn errors were described in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia. IRF7 is listed as a PID related gene at ORPHANET and it is also related to Immunodeficiency 39 and viral infection response.
21q22.11	WES [25] GWAS [30]	This region contains the genes IFNAR1 and FNAR2 where inborn errors were described in patients with life-threatening COVID-19 pneumonia. Both genes are listed as PID related genes at PanelApp and ORPHANET and are directly related to viral infection response and interferon pathways. This region also contains the PID related gene IL10RB.

Table 2. The 10 warning signs developed by the Jeffrey Modell Foundation Medical Advisory Board.

Warning signs for childhood PID (less than 18 years old patients)	Warning signs for adulthood PID (18 years old and older patients)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Four or more new ear infections within 1 year. 2. Two or more serious sinus infections within 1 year. 3. Two or more months on antibiotics with little effect. 4. Two or more pneumonias within 1 year. 5. Failure of an infant to gain weight or grow normally. 6. Recurrent, deep skin or organ abscesses. 7. Persistent thrush in mouth or fungal infection on skin. 8. Need for intravenous antibiotics to clear infections. 9. Two or more deep-seated infections including septicemia. 10. A family history of Primary Immunodeficiency. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Two or more new ear infections within 1 year. 2. Two or more new sinus infections within 1 year, in the absence of allergy. 3. One pneumonia per year for more than 1 year. 4. Chronic diarrhea with weight loss. 5. Recurrent viral infections (colds, herpes, warts, condyloma). 6. Recurrent need for intravenous antibiotics to clear infections. 7. Recurrent, deep abscesses of the skin or internal organs. 8. Persistent thrush or fungal infection on skin or elsewhere. 9. Infection with normally harmless tuberculosis-like bacteria. 10. A family history of Primary Immunodeficiency.

Adapted from <http://downloads.info4pi.org/pdfs/10-Warning-Signs%2D%2D-Generic-Text%2D%2D2-.pdf>.



CAPTIONS TO ILLUSTRATIONS

Fig 1. (A) The sum of all worldwide reported pLOF mutation in each gene listed as associated with PID. Only genes outside MHC were considered, because of the high linkage and density of genes in this region can introduce ascertainment biases by identifying candidate genes; **(B)** Frequency of the major variants rs773890486 (*IFNAR2*) and rs61942233 (*OAS3*) in three ethnic groups with heterogeneity in COVID-19 mortality (Europeans, Sub-Saharan Africans and East-Asians), where Europeans display higher mortality rates.

5. APRESENTAÇÃO DO ARTIGO

O artigo aqui apresentado foi idealizado no mês de setembro de 2020, em meio à pandemia causada pelo novo coronavírus. Em uma conversa sobre a minha dissertação de mestrado, que até aquele momento se baseava em um outro projeto, o meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Santos, sugeriu que desenvolvêssemos um trabalho que abordasse a possível relação entre imunodeficiências primárias e severidade em COVID-19, ideia que surgiu a partir da leitura de um artigo realizado por Zhang e colaboradores (2020), que aborda erros inatos de imunidade em pacientes correndo risco de vida causado por COVID-19. Decidi aceitar a mudança de projeto por acreditar na importância e urgência do mesmo e, a partir desse momento, passamos à parte prática da realização do artigo, que consistiu na busca de artigos que citassem regiões identificadas como importantes no desenvolvimento de severidade em COVID-19. Essa etapa se deu de maneira breve, devido à natureza recente do tema. Além do artigo que serviu de motor inicial para a realização do trabalho, um outro artigo realizado por Pairo-Castineira e colaboradores (2020) foi de extrema importância nessa fase de realização da pesquisa. Após a conclusão dessa etapa, o próximo passo foi identificar os genes relacionados às IDP que estão localizados nas regiões relatadas como sendo importantes no desenvolvimento de severidade em COVID-19. Para tal, consultei o site ORPHANET e a ferramenta GeneAPP, pois ambos possuem uma lista desses genes.

A grande lista de regiões que estão concomitantemente relacionadas à IDP e à COVID-19 serviu de embasamento teórico para o nosso trabalho, que agora entrava na fase prática, o que consistiu na busca pelas variantes dos genes relacionados à IDP presentes nas regiões previamente identificadas que apresentam perda de frequência e suas frequências na população mundial e em populações específicas como Africanos, Europeus e Leste Asiáticos. A essas regiões foram dada especial atenção devido à grande diferença nas taxas de mortalidade por COVID-19 quando comparadas entre si.

As evidências encontradas no decorrer da realização desse artigo me fizeram sentir que estamos seguindo no caminho certo e a realização do artigo em si se mostrou uma fonte de aprendizado enorme. Elas também foram importantes para o processo de pensar sobre a necessidade de uma possível triagem em massa da população, visando identificar um grupo propenso a desenvolver formas mais graves da doença, o que serviu de motor para a montagem de um protocolo para esse fim.

6. RESULTADOS ADICIONAIS:

Por serem molecular e clinicamente heterogêneas, As IDP representam um desafio para o diagnóstico imunológico e o manejo clínico (HSIEH & HERNANDEZ, 2016). A maioria delas é diagnosticada a partir da combinação de investigações de diversas naturezas, tais como um histórico clínico completo e direcionado, exame físico detalhado, hemograma completo e testes laboratoriais padrão, principalmente aqueles que avaliam os componentes do sistema imune.

A história clínica deve incluir história familiar de IDP, consanguinidade ou história familiar de morte súbita em idade precoce. Já o exame físico deve incluir uma avaliação do estado nutricional, sequelas de infecções anteriores, linfonodos, amígdalas, hepatoesplenomegalia, etc (SANCHÉZ-RAMÓN *et al.*, 2019). A ausência de alterações nessa etapa não descarta a possibilidade de IDP e, portanto, as etapas subsequentes devem ser realizadas independente do resultado do exame físico.

Quando da etapa que envolve exames laboratoriais, é importante destacar que as citopenias periféricas e síndromes de desregulação imunológica estão entre as manifestações mais recorrentes em portadores de IDP e representam particular relevância no diagnóstico, uma vez que são comuns na prática clínica. No entanto, em muitos casos estes não estão listados nos compêndios aceitos de sinais de alerta para o diagnóstico de IDP em crianças e adultos, aumentando o risco de falha no diagnóstico do defeito imunológico. Devido a isso, é importante ressaltar que um hemograma completo e esfregaço de sangue com contagem diferencial de células é necessário a fim de descartar citopenia ou anormalidades celulares. Além disso, algumas doenças extra-hematológicas, como manifestações cutâneas, distúrbios gastrointestinais, pneumonias recorrentes ou retardo de crescimento, entre outras, devem ser levadas em consideração (SANCHÉZ-RAMÓN *et al.*, 2019).

A determinação de Ig no soro (IgG, IgM, IgA e IgE) é a primeira etapa na avaliação da imunidade humoral e ajudará a diagnosticar deficiências quantitativas de Ig, como agamaglobulinemia congênita, imunodeficiência variável comum ou deficiência de IgA e outras anormalidades de anticorpos associadas a defeitos como hiper-IgE ou síndrome hiper-IgM. Quando o diagnóstico permanece incerto após todos esses testes e a suspeita é alta, testes adicionais, como funcionais ou moleculares estudos, devem ser realizados em centros de referência (SANCHÉZ-RAMÓN *et al.*, 2019). O teste genético é frequentemente necessário para garantir o melhor diagnóstico possível e os últimos avanços na tecnologia

genética têm contribuído significativamente para o diagnóstico de IDP (CONDINO-NETO & ESPINOSA-ROSALES, 2018).

A partir dessas instruções e usando como base o algoritmo proposto por Cooper, Pommering e Korányi (2016), foi elaborado um protocolo de triagem em massa da população visando a identificação de IDP apresentado na figura a seguir (Figura 3).

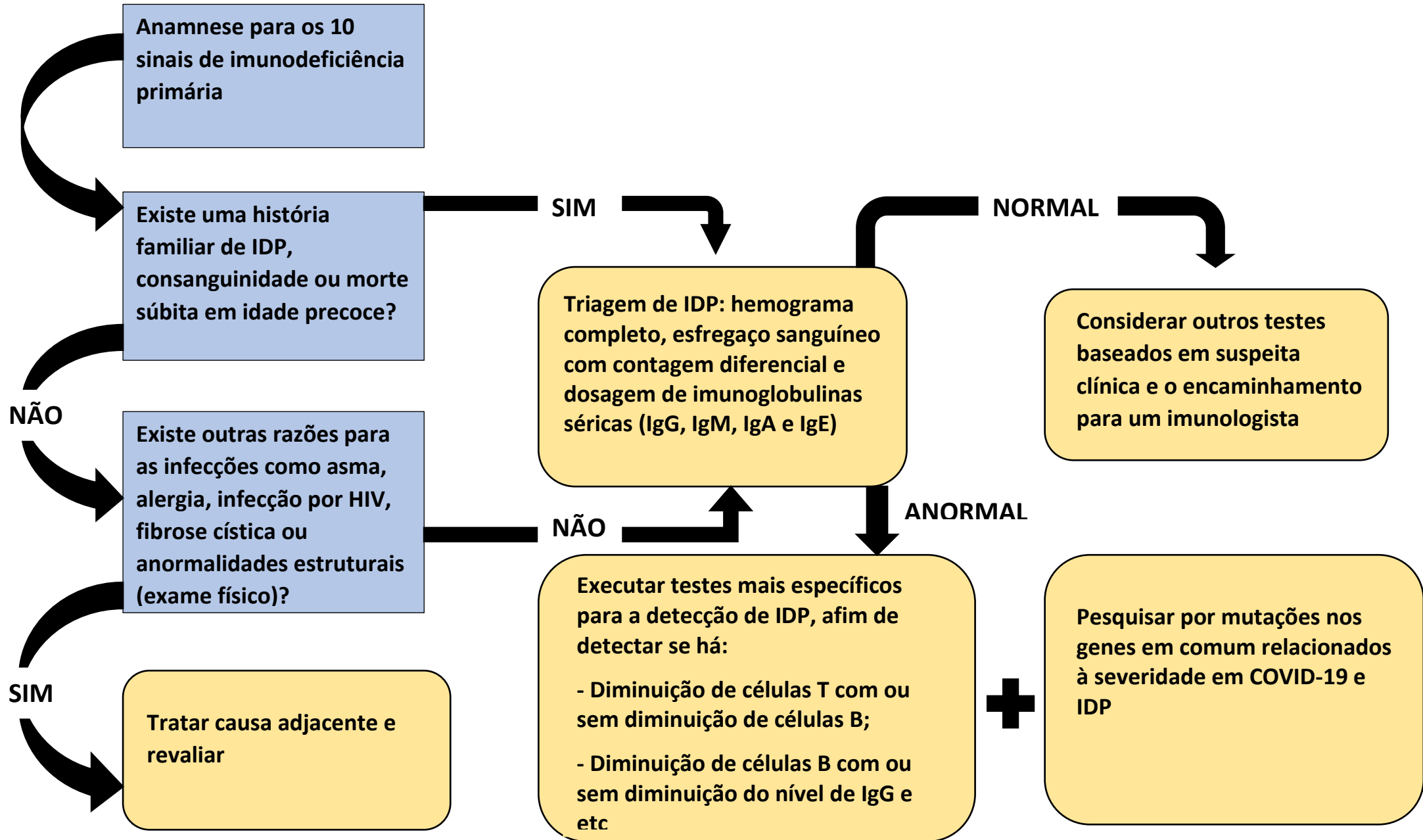


Figura 7. Sugestão de protocolo a ser utilizado na triagem de IDP na população, a fim de detectar o risco de desenvolvimento da severidade em COVID-19. Fonte: Adaptado de Cooper, Pommering & Korányi, 2003.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O questionamento sobre a possível relação das imunodeficiências primárias e o desenvolvimento de formas severas da COVID-19 se mostra essencial, principalmente no contexto em que a população mundial está vivendo atualmente. Todas as tentativas de minimizar os impactos da devastadora pandemia que tem nos assolado são válidas e a proteção de grupos vulneráveis consiste em uma importante estratégia visando esse fim.

A realização desse trabalho se mostrou extremamente importante, uma vez que ele constitui uma das muitas tentativas de entender aspectos do mecanismo dessa doença, que é ainda pouco conhecida, e o seu resultado é nada mais que uma proposta de manobra para identificar e, a partir de então, poder direcionar cuidados específicos a um grupo que está em potencial vulnerabilidade que pode, por vezes, ser silenciosa.

8. REFERÊNCIAS

- ABOLHASSANI H, AZIZI G, SHARIFI L, YAZDANI R, MOHSENZADEGAN M, DELAVARI S, SOHANI M, SHIRMAST P, CHAVOSHZADEH Z, MAHDAVIANI SA, KALANTARI A, TAVAKOL M, JABBARI-AZAD F, AHANCHIAN H, MOMEN T, SHERKAT R, SADEGHI-SHABESTARI M, ALEYASIN S, ESMAEILZADEH H, AL-HERZ W, BOUSFIHA AA, CONDINO-NETO A, SEPPÄNEN M, SULLIVAN KE, HAMMARSTRÖM L, MODELL V, MODELL F, QUINN J, ORANGE JS, AGHAMOHAMMADI A. Global systematic review of primary immunodeficiency registries. **Expert Review of Clinical Immunology** **16(7)**: 717-732, 2020. doi: 10.1080/1744666X.2020.1801422.
- ARUNACHALAM PS, WIMMERS F, MOK CKP, PERERA RAPM, SCOTT M, HAGAN T, SIGAL N, FENG Y, BRISTOW L, TAK-YIN TSANG O, WAGH D, COLLER J, PELLEGRINI KL, KAZMIN D, ALAAEDDINE G, LEUNG WS, CHAN JMC, CHIK TSH, CHOI CYC, HUERTA C, PAINE MCCULLOUGH M, LV H, ANDERSON E, EDUPUGANTI S, UPADHYAY AA, BOSINGER SE, MAECKER HT, KHATRI P, ROUPHAEL N, PEIRIS M, PULENDRAN B. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. **Science** **369(6508)**: 1210-1220, 2020.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOLOGIA, GRUPO BRASILEIRO DE IMUNODEFICIÊNCIAS E JEFFREY MODELL FOUNDATION BRASIL. **Pacientes adultos com Erros Inatos da Imunidade em época de COVID-19**. Disponível em: <https://asbai.org.br/wp-content/uploads/2020/04/2020-04-03_DOC_ASBAI_BRAGID_JMFB_2.pdf>. Acesso em: 13 Jan de 2021.
- CONDINO-NETO A, ESPINOSA-ROSALES FJ. Changing the Lives of People With Primary Immunodeficiencies (PI) With Early Testing and Diagnosis. **Frontiers in Immunology**. **25(9)**: 1439, 2018. doi: 10.3389/fimmu.2018.01439.
- COOPER MA, POMMERING TL, KORÁNYI K. Primary immunodeficiencies. **American Family Physician** **68(10)**: 2001-8, 2003.
- DE ALMEIDA, J. O.; DE OLIVEIRA, V. R. T.; AVELAR, J. L. S.; MOITA, B. S.; LIMA, L. M. COVID-19: Fisiopatologia e Alvos para Intervenção Terapêutica. **Revista Virtual de Química** **12(6)**: 0000-0000, 2020.
- DELAVARI S, ABOLHASSANI H, ABOLNEZHADIAN F, BABAHA F, IRANPARAST S, AHANCHIAN H. Impact of SARS-CoV-2 Pandemic on Patients with Primary Immunodeficiency. **Journal of Clinical Immunology** **1**: 1–11, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00928-x>.
- DELLALIBERA-JOVILIANO R, ALVES NP, DELLALIBERA E, FUJITA AT. Perfil celular imunológico e o papel na resposta inflamatória frente ao SARS-CoV-2. **Revista Interdisciplinar de Saúde e Educação Ribeirão Preto** **1(2)**: 2675-4827, 2020.
- ERJAE A, BAGHERPOUR M, VAN ROOYEN C, VAN DEN BERG S, KINNEAR CJ, GREEN RJ, PEPPER M. Primary immunodeficiency in Africa - a review. **South African Medical Journal** **10;109(8b)**: 3-11, 2019. doi: 10.7196/SAMJ.2019.v109i8b.13820.

- FEHR, A. R. & PERLMAN, S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. **Methods in Molecular Biology** **1282**: 1–23, 2015.
- FUNG TS, LIU DX. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. **Annual Review of Microbiology** **73**: 529-557, 2020. doi: 10.1146/annurev-micro-020518-115759.
- GARCÍA LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. **Frontiers in Immunology** **11**: 1441, 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441.
- GIWA A, DESAI A. Novel coronavirus COVID-19: an overview for emergency clinicians. **Emergency Medicine Practice** **22(2 Suppl 2)**: 1-21, 2020. Update in: **Emergency Medicine Practice** **22(5)**: 1-28, 2020.
- HARAPAN H, ITOH N, YUFIKA A, WINARDI W, KEAM S, TE H, MEGAWATI D, HAYATI Z, WAGNER AL, MUDATSIR M. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review. **Journal of Infection and Public Health** **13(5)**: 667-673, 2020. doi: 10.1016/j.jiph.2020.03.019.
- HELMY YA, FAWZY M, ELASWAD A, SOBIEH A, KENNEY SP, SHEHATA AA. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. **Journal of Clinical Medicine** **9 (4)**: 1225, 2020. doi: 10.3390/jcm9041225.
- HSIEH EW, HERNANDEZ JD. Novel tools for primary immunodeficiency diagnosis: making a case for deep profiling. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology** **16(6)**: 549-556, 2016. doi: 10.1097/ACI.0000000000000319.
- HUANG Y, YANG C, XU X, XU W, LIU S. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. **Acta Pharmacologica Sinica** **41**: 1141–1149, 2020; doi: 10.1038/s41401-020-0485-4.
- INTERNATIONAL PATIENT ORGANISATION FOR PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES (IPOPI). How are primary immunodeficiency diseases classified? (1st edition). Disponível em: <https://ipopi.org/wp-content/uploads/2017/07/WEB_IPOPI_Classification.pdf>. Acesso em: 25 de Fev 2021.
- JESENAK M, BRNDIAROVA M, URBANCIKOVA I, RENNEROVA Z, VOJTKOVA J, BOBCAKOVA A, OSTRO R, BANOVCIN P. Immune Parameters and COVID-19 Infection - Associations With Clinical Severity and Disease Prognosis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** **10**: 364, 2020. doi: 10.3389/fcimb.2020.00364.
- JIAO J, ZHOU S, XU Q, AN J. Identification of risk factors in epidemiologic study based on ROC curve and network. **Scientific Reports** **24**; 7:46655, 2017. doi: 10.1038/srep46655.
- KNOL MD, WONODI C. Oxford–AstraZeneca COVID-19 vaccine efficacy. **The Lancet** **397**: 72-74, 2021. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32623-4.
- LAUXMANN MA, SANTUCCI NE, AUTRÁN-GOMÉZ AM. The SARS-CoV-2 Coronavirus and the COVID-19 Outbreak. **International Brazilian Journal of Urology** **46(1)**: 6-18, 2020. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2020.S101.
- LEWANDOWICZ-USZYŃSKA A, PASTERNAK G, ŚWIERKOT J, BOGUNIA-KUBIK K. Primary Immunodeficiencies: Diseases of Children and Adults - A Review. **Advances in Experimental Medicine and Biology** Aug **18**, 2020. doi: 10.1007/5584_2020_556.

- LOTFI M, HAMBLIN MR, REZAEI N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. **Clinica Chimica Acta** **508**: 254-266, 2020. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.044.
- MALIK YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. **The Malaysian Journal of Pathology** **42(1)**: 3 – 11, 2020.
- MATSURA RH, CARDOSO MF, GALLETI KV, DELGADO AF, CARVALHO WBB. Infecção por SARS-CoV-2 em uma criança com imunodeficiência primária: relato de caso. **Residência Pediátrica** **2020**: Ahead of Print. doi: 10.25060/residpediatr-2020.v10n2-367.
- MEYTS I, BUCCIOL G, QUINTI I, NEVEN B, FISCHER A, SEOANE E, LOPEZ-GRANADOS E, GIANELLI C, ROBLES-MARHUENDA A, JEANDEL PY, PAILLARD C, SANKARAN VG, DEMIRDAG YY, LOUGARIS V, AIUTI A, PLEBANI A, MILITO C, DALM VA, GUEVARA-HOYER K, SÁNCHEZ-RAMÓN S, BEZRODNIK L, BARZAGHI F, GONZALEZ-GRANADO LI, HAYMAN GR, UZEL G, MENDONÇA LO, AGOSTINI C, SPADARO G, BADOLATO R, SORESINA A, VERMEULEN F, BOSTEELS C, LAMBRECHT BN, KELLER M, MUSTILLO PJ, ABRAHAM RS, GUPTA S, OZEN A, KARAKOC-AYDINER E, BARIS S, FREEMAN AF, YAMAZAKI-NAKASHIMADA M, SCHEFFLER-MENDOZA S, ESPINOSA-PADILLA S, GENNERY AR, JOLLES S, ESPINOSA Y, POLI MC, FIESCHI C, HAUCK F, CUNNINGHAM-RUNDLES C, MAHLAOUI N; IUIS COMMITTEE OF INBORN ERRORS OF IMMUNITY, WARNATZ K, SULLIVAN KE, TANGYE SG. Coronavirus disease 2019 in patients with inborn errors of immunity: An international study. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** **24**: S0091-6749(20)31320-8, 2020. doi: 10.1016/j.jaci.2020.09.010.
- MINOTTI C, TIRELLI F, BARBIERI E, GIAQUINTO C, DONÀ D. How is immunosuppressive status affecting children and adults in SARS-CoV-2 infection? A systematic review. **Journal of Infection** **81(1)**: e61-e66, 2020 doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.026.
- MULLUR J, WANG A, FELDWEIG A. A fatal case of coronavirus disease 2019 in a patient with common variable immunodeficiency. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology** **126 (1)**: 89e104, 2021. doi: 10.1016/j.anai.2020.08.017.
- NAITO Y, TAKAGI T, YAMAMOTO T, WATANABE S. Association between Selective IgA Deficiency and COVID-19. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition** **67(2)**: 122–25, 2020. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.20-102>.
- NOTARANGELO, LUIGI D. Primary immunodeficiencies. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** **125(2)**: S182–S194, 2010. doi:10.1016/j.jaci.2009.07.053.
- PACES J, STRIZOVA Z, SMRZ D, CERNY J. COVID-19 and the Immune System. **Physiological Research** **69**: 379-388, 2020. doi: 10.33549/physiolres.934492.
- PAIRO-CASTINEIRA E, CLOHISEY S, KLARIC L, BRETHERICK AD, RAWLIK K, PASKO D, WALKER S, PARKINSON N, FOURMAN MH, RUSSELL CD, FURNISS J, RICHMOND A, GOUNTOUNA E, WROBEL N, HARRISON D, WANG B, WU Y, MEYNERT A, GRIFFITHS F, OOSTHUYZEN W, KOUSATHANAS A, MOUTSIANAS L, YANG Z, ZHAI R, ZHENG C, GRIMES G, BEALE R, MILLAR J, SHIH B, KEATING S, ZECHNER M, HALEY C, PORTEOUS DJ, HAYWARD C,

- YANG J, KNIGHT J, SUMMERS C, SHANKAR-HARI M, KLENERMAN P, TURTLE L, HO A, MOORE SC, HINDS C, HORBY P, NICHOL A, MASLOVE D, LING L, MCAULEY D, MONTGOMERY H, WALSH T, PEREIRA A, RENIERI A; GENOMICC INVESTIGATORS; ISARICC INVESTIGATORS; COVID-19 HUMAN GENETICS INITIATIVE; 23ANDME INVESTIGATORS; BRACOVID INVESTIGATORS; GEN-COVID INVESTIGATORS, SHEN X, PONTING CP, FAWKES A, TENESA A, CAULFIELD M, SCOTT R, ROWAN K, MURPHY L, OPENSHAW PJM, SEMPLE MG, LAW A, VITART V, WILSON JF, BAILLIE JK. Genetic Mechanisms of Critical Illness in Covid-19. **MedRxiv** **17(8)**: 25, 2020. doi: 10.1101/2020.09.24.20200048.
- RUFFNER MA, SULLIVAN KE, HENRICKSON SE. Recurrent and Sustained Viral Infections in Primary Immunodeficiencies. **Frontiers in Immunology** **8(665)**: 1664-3224, 2017.
- SAIRA BALOCH S, BALOCH MA, ZHENG T, PE X. The Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine** **250(4)**: 271-278, 2020. doi: 10.1620/tjem.250.271.
- SÁNCHEZ-RAMÓN S, BERMÚDEZ A, GONZÁLEZ-GRANADO LI, RODRÍGUEZ-GALLEGO C, SASTRE A, SOLER-PALACÍN P. Primary and Secondary Immunodeficiency Diseases in Oncohaematology: Warning Signs, Diagnosis, and Management. **Frontiers in Immunology** **10(MAR)**: 1–8, 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.00586.
- SOBH A, BONILLA FA. Vaccination in Primary Immunodeficiency Disorders. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice** **4(6)**: 1066-1075, 2016. doi: 10.1016/j.jaip.2016.09.012.
- SOFI MS, HAMID A, BHAT SU. SARS-CoV-2: A critical review of its history, pathogenesis, transmission, diagnosis and treatment. **Biosafety and Health** **2(4)**: 217-225, 2020. doi: 10.1016/j.bsheat.2020.11.002.
- SOUZA LG, RANDOW R, SIVIERO PCL. Reflexões em tempos de COVID-19: diferenciais por sexo e idade. **Comunicação em Ciências Saúde** **31(1)**: 75-83, 2020.
- TANGYE SG, AL-HERZ W, BOUSFIHA A, CHATILA T, CUNNINGHAM-RUNDLES C, ETZIONI A, FRANCO JL, HOLLAND SM, KLEIN C, MORIO T, OCHS HD, OKSENHENDLER E, PICARD C, PUCK J, TORGERSON TR, CASANOVA JL, SULLIVAN KE. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. **Journal of Clinical Immunology** **40(1)**: 24-64, 2020. doi: 10.1007/s10875-019-00737-x.
- UZUNIAN A. Coronavírus SARS-CoV-2 e Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial** **56**: 1-4, 2020. doi: 10.5935/1676-2444.20200053.
- WERNECK GL, CARVALHO MS. **Cadernos de Saúde Pública** **36(5)**: 8, 2020. doi: 10.1590/0102-311X00068820.
- WOLFF D, NEE S, HICKEY NS, MARSCHOLLEK M. Risk factors for Covid-19 severity and fatality: a structured literature review. **Infection** **28**: 1–14, 2020. doi: 10.1007/s15010-020-01509-1. Epub ahead of print. PMID: 32860214; PMCID: PMC7453858.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report – 22.** Disponível em: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2>. Acesso em: 01 de Fev 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard.** Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 11 de Jan de 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). COVID-19 High risk groups. Disponível em: <<https://www.who.int/westernpacific/emergencies/covid-19/information/high-risk-groups>>. Acesso em: 20 de Jan 2021.

ZHANG Q, BASTARD P, LIU Z, LE PEN J, MONCADA-VELEZ M, CHEN J, OGISHI M, SABLI IKD, HODEIB S, KOROL C, ROSAIN J, BILGUVAR K, YE J, BOLZE A, BIGIO B, YANG R, ARIAS AA, ZHOU Q, ZHANG Y, ONODI F, KORNIOTIS S, KARP L, PHILIPPOT Q, CHBIHI M, BONNET-MADIN L, DORGHAM K, SMITH N, SCHNEIDER WM, RAZOOKY BS, HOFFMANN HH, MICHAELIDIS E, MOENS L, HAN JE, LORENZO L, BIZIEN L, MEADE P, NEEHUS AL, UGURBIL AC, CORNEAU A, KERNER G, ZHANG P, RAPAPORT F, SEELEUTHNER Y, MANRY J, MASSON C, SCHMITT Y, SCHLÜTER A, LE VOYER T, KHAN T, LI J, FELLAY J, ROUSSEL L, SHAHROOEI M, ALOSAIMI MF, MANSOURI D, AL-SAUD H, AL-MULLA F, ALMOURFI F, AL-MUHSEN SZ, ALSOHIME F, AL TURKI S, HASANATO R, VAN DE BEEK D, BIONDI A, BETTINI LR, D'ANGIO' M, BONFANTI P, IMBERTI L, SOTTINI A, PAGHERA S, QUIROS-ROLDAN E, ROSSI C, OLER AJ, TOMPKINS MF, ALBA C, VANDERNOOT I, GOFFARD JC, SMITS G, MIGEOTTE I, HAERYNCK F, SOLER-PALACIN P, MARTIN-NALDA A, COLOBRAN R, MORANGE PE, KELES S, ÇÖLKESEN F, OZCELIK T, YASAR KK, SENOGLU S, KARABELA ŞN, RODRÍGUEZ-GALLEGO C, NOVELLI G, HRAIECH S, TANDJAOU-LAMBIOTTE Y, DUVAL X, LAOUËNAN C; COVID-STORM CLINICIANS; COVID CLINICIANS; IMAGINE COVID GROUP; FRENCH COVID COHORT STUDY GROUP; COV-CONTACT COHORT; AMSTERDAM UMC COVID-19 BIOBANK; COVID HUMAN GENETIC EFFORT; NIAID-USUHS/TAGC COVID IMMUNITY GROUP, SNOW AL, DALGARD CL, MILNER JD, VINH DC, MOGENSEN TH, MARR N, SPAAN AN, BOISSON B, BOISSON-DUPUIS S, BUSTAMANTE J, PUEL A, CIANCANELLI MJ, MEYTS I, MANIATIS T, SOUMELIS V, AMARA A, NUSSENZWEIG M, GARCÍA-SASTRE A, KRAMMER F, PUJOL A, DUFFY D, LIFTON RP, ZHANG SY, GOROCHOV G, BÉZIAT V, JOUANGUY E, SANCHO-SHIMIZU V, RICE CM, ABEL L, NOTARANGELO LD, COBAT A, SU HC, CASANOVA JL. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. **Science** **23: 370(6515):**eabd4570. doi: 10.1126/science.abd4570.

ANEXOS

Guidelines for Authors on the construction of articles

The purpose of *Medical Hypotheses* is to publish interesting theoretical papers. The journal will consider radical, speculative and non-mainstream scientific ideas provided they are coherently expressed.

Medical Hypotheses is not, however, a journal for publishing workaday reviews of the literature, nor is it a journal for primary data (except when preliminary data is used to lend support to the main hypothesis presented). Many of the articles submitted do not clearly identify the hypothesis and simply read like reviews.

These notes are designed to help authors formulate an article for *Medical Hypotheses* in such a way that the article is clearly distinguishable from a review. These are guidelines only and the Editor is happy to accept other formats provided that the principal requirements are met.

An hypothesis

Roughly speaking, an hypothesis should be an organized logical structure (or model) that accounts for (some) known facts, and which has real world consequences that are (in principle) observable.

The consequences of an hypothesis constitute predictions that may be tested against observations and experiments to determine whether some of them are (apparently) fulfilled.

Most articles for *Medical Hypotheses* should fulfil the requirements of an hypothesis, and the logic of the proposals should be clearly stated and evaluated.

Medical Hypotheses is a general journal and articles need to be intelligible to a wide audience in medicine and bioscience, including those who may not be specialists in the field. Clarity of presentation and concision are key requirements.

Abstract/ Summary

The abstract should present the paper in microcosm. It should contain explicit details of the hypothesis being advanced, the main lines of supporting evidence and the most important implications.

Introduction/Background

The introduction should be a concise introduction to the scientific area to be addressed, supported by appropriate references and should set the scene for the hypothesis. The introduction should not be an attempt to review the evidence in detail.

The Hypothesis/Theory

The hypothesis needs to be set out in explicit detail. Typically it should be clear why and how the hypothesis is different from current thinking, how the idea has evolved, and why it is important.

The scientific logic of the hypothesis should be clearly evident (eg. the steps in its causal assumptions).

Evaluation of the hypothesis/idea

The proposed hypothesis should be evaluated in the light of known and published information. Generally, this entails an evaluation of both evidence in support and evidence (apparently) against the hypothesis. Only relevant, and critically evaluated, papers should be cited.

An hypothesis should, if correct, have implications and make predictions. These predictions are (in principle) amenable to further observation and experimentation that could tend to confirm or refute the hypothesis. Typically, authors would be expected to indicate how their hypothesis might be tested.

Empirical data

Inclusion of extensive new data is not usually acceptable in *Medical Hypotheses* papers. However, at the Editor's discretion, pilot data may be included when it is required for support of the proposed hypothesis, and when it is unlikely to be published in its own right.

Consequences of the hypothesis and discussion

The importance of the hypothesis may need to be stated explicitly, with a discussion of the potential implications for the area of science under discussion if the hypothesis were to be confirmed.

References

As a general rule, references should be limited to those that have a direct bearing on the understanding of the hypothesis.

Figures and Tables

Diagrams, figures or tables may be invaluable in explaining the hypothesis. Tables may be a good way of presenting evidence for and against a hypothesis in a way which makes the strengths and weaknesses of the argument quickly apparent to the reader. Explanatory diagrams and figures are welcome - so long as they clarify the argument.

Authors are requested to submit their manuscript and figures online via <https://www.editorialmanager.com/ymehy/default.aspx>. This is the Elsevier web-based submission and review system. You will find full instructions located at this site - a Guide for Authors and a Guide for Online Submission. Please follow these guidelines to prepare and upload your article. Once the uploading is done, our system automatically generates an electronic pdf proof, which is then used for reviewing. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revisions, will be managed via this system.

The Editors cannot accept responsibility for damage to or loss of typescripts. A paper is accepted for publication on the understanding that it has not been submitted simultaneously to another journal in the English language. Rejected papers will not be returned to authors except on request.

The Editors reserve the right to make editorial and literary corrections. Any opinions expressed or policies advocated do not necessarily reflect the opinions or policies of the Editors.

Document Lay Out

Papers should be set out as follows, with each section beginning on a separate sheet: title page, summary, text, acknowledgements, references, tables, captions to illustrations.

Title

The title page should give the following information: (1) title of article; (2) initials and name of each author, with highest academic degree(s); (3) name and address of the department or institution to which the work should be attributed; (4) name, address, telephone and fax numbers and E-mail address of the author responsible for correspondence and to whom requests for offprints should be sent; and (5) sources of support in the form of grants.

Abstract

The abstract is the most important section of the paper since it will be widely and freely disseminated by scientific indexing systems, and will be read far more often than the whole paper. Great care should therefore be taken to provide an informative abstract which summarizes the main argument of the paper. The maximum length allowed is 400 words. The abstract should not contain any references, because it will sometimes be disseminated in isolation from the rest of the paper. Please ensure that you submit your abstract within the first page of your manuscript.

Within the Text

Papers should be subdivided as the author desires, bearing in mind that the use of headings usually enhances the reader's comprehension. Major heading should be in capital letters at the centre of the page, minor headings in lower case letters (with an initial capital letter) at the left hand margin. It is suggested that authors bear in mind that hypotheses may be more persuasive when their implications are made explicit - for example, including suggestions for observational or experimental testing.

Maximum Length

Papers should normally be restricted in length to a maximum of 40 pages of double spaced 12 point type including tables, illustrations and references.

Reference Format

The accuracy of references is the responsibility of the author. References should be entered consecutively by Arabic numerals in parentheses in the text. The references should be listed in numerical order on a separate sheet in double or triple spacing. References to journals should include the authors' names and initials (list all authors when six or fewer; when seven or more, list only the first three and add 'et al.', full title of paper, abbreviated journal title, using Index Medicus abbreviations, year of publication, volume number, first and last page numbers. Internet references should include author, title, web address, date of publication (if known), and the date on which the website was accessed.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. This identifier will not appear in your published article. For reference style 3 Vancouver Numbered: [dataset] [5] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Figures

All line illustrations should present a crisp black image on an even white background. The illustrations should be 127 x 173 mm (5 x 7 in) in size, or no larger than 203 x 254 mm (8 x 10 in).

Photographic illustrations and radiographs should be submitted as clear, lightly contrasted black-and-white prints (unmounted), sizes as above. Photomicrographs should have the magnification and details of staining techniques shown. X-ray films should be submitted as photographic prints, carefully made to bring out the detail to be illustrated, with an overlay indicating the area of importance.

Figures should be submitted appropriately lettered in capitals. The size of the letters should be appropriate to that of the illustration, taking into account the necessary size reduction.

Where illustrations must include recognizable individuals, living or dead and of whatever age, great care must be taken to ensure that consent for publication has been given. If identifiable features are not essential to the illustration, please indicate where the illustration can be cropped. In cases where consent has not been obtained and recognizable features may appear, it will be necessary to retouch the illustration to mask the eyes or otherwise render the individual 'officially unrecognizable'.

Tables

These should be double-spaced on separate sheets and contain only horizontal rules. Do not submit tables as photographs. A short descriptive title should appear above each table and any footnotes, suitably identified, below. Care must be taken to ensure that all units are included. Ensure that each table is cited in the text.

Units & Abbreviations

Avoid abbreviations in the title and abstract. All unusual abbreviations should be fully explained at their first occurrence in the text. All measurements should be expressed in SI units. Imperial units are acceptable from USA contributors. For more detailed recommendations, authors may consult the Royal Society of Medicine publication entitled *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Biological and Medical Editors and Authors*.

Correspondence

Medical Hypotheses welcomes correspondence, especially when letters are linked to previous publications in the journal. Alternatively, letters can summarise extensions of previous work, draw attention to new evidence relating to theories, describe new ideas, or make general comments concerning the journal or its field of interest. Letters should be 400 words maximum length, inclusive of any references.

Reviewers

Authors are asked to supply the names and email addresses of at least 3 and up to 5 potential reviewers for their manuscript. Please do not suggest reviewers from your own institution, previous or current collaborators or Editorial Board members. Without reviewer suggestions, processing of the manuscript may be delayed. Please do not contact any reviewers that you have suggested.

Copyright Information

In order for us to ensure maximum dissemination and copyright protection of material published in the journal, copyright must be explicitly transferred from author to publisher.

The copyright transfer agreement to be used for the journal is reproduced in the first issue of each year. Extra copies are available from the Publisher or the Editors, or contributors may photocopy the agreement reproduced in the journal. A copy of this agreement must be signed by every author before any paper can be published.

We assure you that no limitation will be put on your personal freedom to use material contained in the paper without requesting permission, provided acknowledgement is made of the journal as the original source of publication.

Permissions Information

Written permission to reproduce borrowed material (illustrations and tables) must be obtained from the original publishers and authors, and submitted with the typescript. Borrowed material should be acknowledged in the captions in this style: 'Reproduced by the kind permission of ... (publishers) from ... (reference)'.

Conflicts of Interest/Role of the Funding Source

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of sponsors, if any, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Proofs

Careful proof reading of the manuscript to ensure the published paper is correct and accurate is the sole responsibility of the author. Authors may be charged for any alterations to the proofs beyond those needed to correct typesetting errors. Proofs must then be returned by email, fax or post to the Issue Manager at Elsevier within 48 hours of receipt.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Procedure for Publication

Submitted manuscripts will be reviewed by the editor who will accept or reject the manuscript based on its adherence to the criteria described above and in the Journal's Aims & Scope. While awaiting print publication in the journal, a pre-print web version of accepted articles is made available to subscribers on ScienceDirect as an 'article-in-press'. Articles-in-Press have a digital object identifier (DOI) and are fully citable. For more information see: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03069877>

Data Visualizations

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

RESEARCH DATA: This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project. Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking: If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that give them a better understanding of the research described. There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#). For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect. In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). ?

Mendeley Data: This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly

accessible to readers next to your published article online. For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement: To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data statement](#) page.