

ANÁLISE DOS MECANISMOS IMUNOLÓGICOS MICROGLIAIS DURANTE A RESPOSTA INFLAMATÓRIA CONTRA EXPOSIÇÃO INFECCIOSA POR SARS-COV-2

RESUMO

Diante de um cenário de pandemia, manifestações neurológicas, apesar de não serem frequentes, têm sido observadas em pacientes acometidos pela COVID-19. Propôs-se, então, uma análise dos mecanismos imunológicos utilizados pela micróglia frente a um processo infeccioso causado pelo vírus SARS-CoV-2 a fim de encontrar pontos divergentes e convergentes entre os estudos sobre este tema. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, os dados foram coletados no período de 14 de junho a 01 de agosto de 2020 e, inicialmente, realizou-se uma busca no DecS server (Descritores em Ciências da Saúde DecS) e foram selecionados os seguintes descritores: *Microglia*, *Citocinas*, *Coronavirus*, suas combinações e variantes em inglês; nenhum descritor foi utilizado sozinho. Foram encontrados 6.725 estudos por meio da leitura do título e do resumo e foi possível excluir 6.718 artigos por serem duplicados nas bases de dados, publicados em espanhol e que fossem artigo de revisão. Desta forma, apenas 7 artigos obedeceram aos critérios de inclusão (responder à questão norteadora da pesquisa, publicados em 2020) e exclusão mencionados acima. Após leitura completa dos artigos anteriormente selecionados, verificou-se uma amostra final de 6 artigos publicados em inglês em quatro países diferentes, classificados em 3 desenhos de estudos distintos. A pesquisa evidenciou uma grande participação da micróglia como intermediadora dos processos inflamatórios decorrentes de processos infecciosos por SARS-CoV-2 e por outros vírus que refletissem seu mecanismo infeccioso no sistema nervoso central (SNC). Constatou-se, também, a atividade microglial presente em pacientes com doenças acentuadas ou desencadeadas pelo SARS-CoV-2, demonstrando a atuação desta célula de defesa como estimuladora da liberação de citocinas pró-inflamatórias. Espera-se que este estudo possa contribuir para o incentivo à pesquisa relacionada a este tema, visando promover um olhar cauteloso sobre as reações imunológicas no SNC presentes em pacientes que manifestam sintomas neurológicos decorrentes do COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, Micróglia, Neuroinflamação

INTRODUÇÃO

Micróglia são os fagócitos mononucleares profissionais mais abundantes do sistema nervoso central (SNC). É fundamentalmente descrita como macrófagos resistentes de origem mesodermal e função protetora e moduladora da atividade neuronal¹. Essas células de defesa são recrutadas na eliminação de patógenos expostos no microambiente nervoso, em lesões teciduais e doenças degenerativas, podendo, também, se tornarem funcionais quando há aglomerações proteicas e sinapses redundantes que comprometem a funcionalidade do SNC. A micróglia possui uma grande quantidade de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) responsáveis por detectar padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou padrões moleculares associados a danos nos tecidos (DAMPs)².

Após o reconhecimento de um PAMP ou um DAMP pelo PRR, a micróglia, inicialmente estacionária, é ativada e adquire uma morfologia ameboide, modulando seu fenótipo para micróglia M1 ou micróglia M2. A micróglia M1 é ativada pela indução de interferon- γ (IFN- γ) e lipopolissacarídeo (LPS) e possui ação pró-inflamatória, pois produz citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), espécies reativas de oxigênio (ROS), interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina IL-6, óxido nítrico (NO) e proteína quimioatraente de monócitos-1 (CCL2). A micróglia M2, por sua vez, é estimulada por citocinas como IL-4 e IL-13 e possui atividade anti-inflamatória ao inibir a atividade da micróglia M1. Assim, ela passa a atuar como mediadora central da neuroinflamação através da secreção de citocinas pró-inflamatórias que articulam as respostas celulares. Além disso, a micróglia pode atuar no local ou migrar para outra região, liberando, assim, mais citocinas durante a cascata inflamatória. Essas substâncias vão se ligar a receptores específicos, promovendo a ativação de mensageiros intracelulares. Contraditoriamente, um estímulo desproporcional da atividade microglial pode desencadear neurotoxicidade³, presente em manifestações graves de infecções por vírus, como influenza e coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2).

No dia 31 de dezembro de 2019, o primeiro caso de uma doença infecciosa que viria a se chamar COVID-19, foi notificado em Wuhan, China. A doença é causada pelo vírus recém-descoberto SARS-CoV-2 que pertence à família Coronaviridae. Esse vírus RNA de fita simples possui uma alta taxa de contágio comparada com os outros vírus da mesma família devido a maior facilidade de transmissão, que se dá diretamente através do contato com gotículas

expelidas por uma pessoa infectada ao tossir, exalar ou espirrar, ou indiretamente ao tocar em superfícies contaminadas. Além de sintomas sistêmicos e respiratórios, alguns pacientes podem evoluir com comprometimento neurológico, manifestando sintomas de cefaleia, confusão mental e parestesia⁴.

De acordo com o Protocolo de Manejo Clínico para o Novo Coronavírus, divulgado em fevereiro deste ano pelo Ministério da Saúde do Brasil, predominou-se homens e pessoas com mais de 50 anos de idade entre os primeiros 99 pacientes hospitalizados com pneumonia e que tiveram diagnóstico confirmado de COVID-19 em um hospital de Wuhan. Os principais sintomas observados nestes pacientes foram febre (em 83%), tosse (em 82%), falta de ar (em 31%), dor muscular (em 11%), confusão (em 9%), dor de cabeça (em 8%), dor de garganta (em 5%), rinorreia (em 4%), dor no peito (em 2%), diarreia (em 2%) e náusea e vômito (em 1%)⁵.

Em quadros críticos de COVID-19, em que os pacientes evoluem para a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), há uma reação hiperinflamatória conhecida como tempestade de citocinas (hipercitonemia), que desencadeia uma aceleração no processo inflamatório durante a ação imunológica. O SARS-CoV-2 gera uma resposta inflamatória inapropriada perante uma enorme concentração de IL-6 em contraste a uma fraca resposta transcricional antiviral. O mecanismo dessa atividade antiviral é iniciado pela indução transcricional de Interferons tipo I e III (IFN-I e IFN-III) e, posteriormente, pela regulação de genes estimulados por IFN- γ (ISGs). O processo é, então, continuado pelo recrutamento de leucócitos específicos, sendo intermediado pela secreção de quimiocinas⁶.

Nesta revisão, o presente artigo surgiu-se necessário nesse novo cenário de pandemia mundial de COVID-19 para compreender as alterações neurológicas causadas por essa doença, buscando na literatura disponível informações que elucidassem os mecanismos utilizados pela micróglia para responder a infecção por SARS-CoV-2. Os achados neste estudo podem esclarecer como o vírus age no SNC e quais artifícios imunológicos são pré-dispostos pela glia em pacientes com quadro clínico neuropatológico agravante, ou pode afirmar a necessidade de mais estudos para serem desenvolvidos com esse tema.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura sobre os mecanismos de defesa da micróglia frente a um processo infeccioso iniciado por SARS-CoV-2, com ênfase na resposta inflamatória ocasionada pela infecção. Para a elaboração da pergunta norteadora, foram consideradas palavras que possibilitassem a localização do estudo nas bases de dados, como “micróglia”, “SARS-CoV-2” e “resposta inflamatória”.

Os dados foram coletados no período de 14 de junho a 01 de agosto de 2020 e utilizou-se as seguintes bases de dados: National Library of Medicine (PUBMED), Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Scientific Electronic Library Online (SCIELO) e ScienceDirect. Foram definidos como critérios de inclusão artigos publicados em 2020 nas bases de dados escolhidas, em português e/ou inglês, excluindo as revisões de literatura. Com base nos critérios de inclusão e na leitura do título e do resumo, foi possível realizar a primeira etapa de seleção.

Realizou-se uma busca DecS server (Descritores em Ciências da Saúde DecS) e foram selecionados esses descritores: *Microglia*, *Citocinas*, *Coronavirus*, suas combinações e variantes em inglês; nenhum descritor foi utilizado sozinho (Quadro 1).

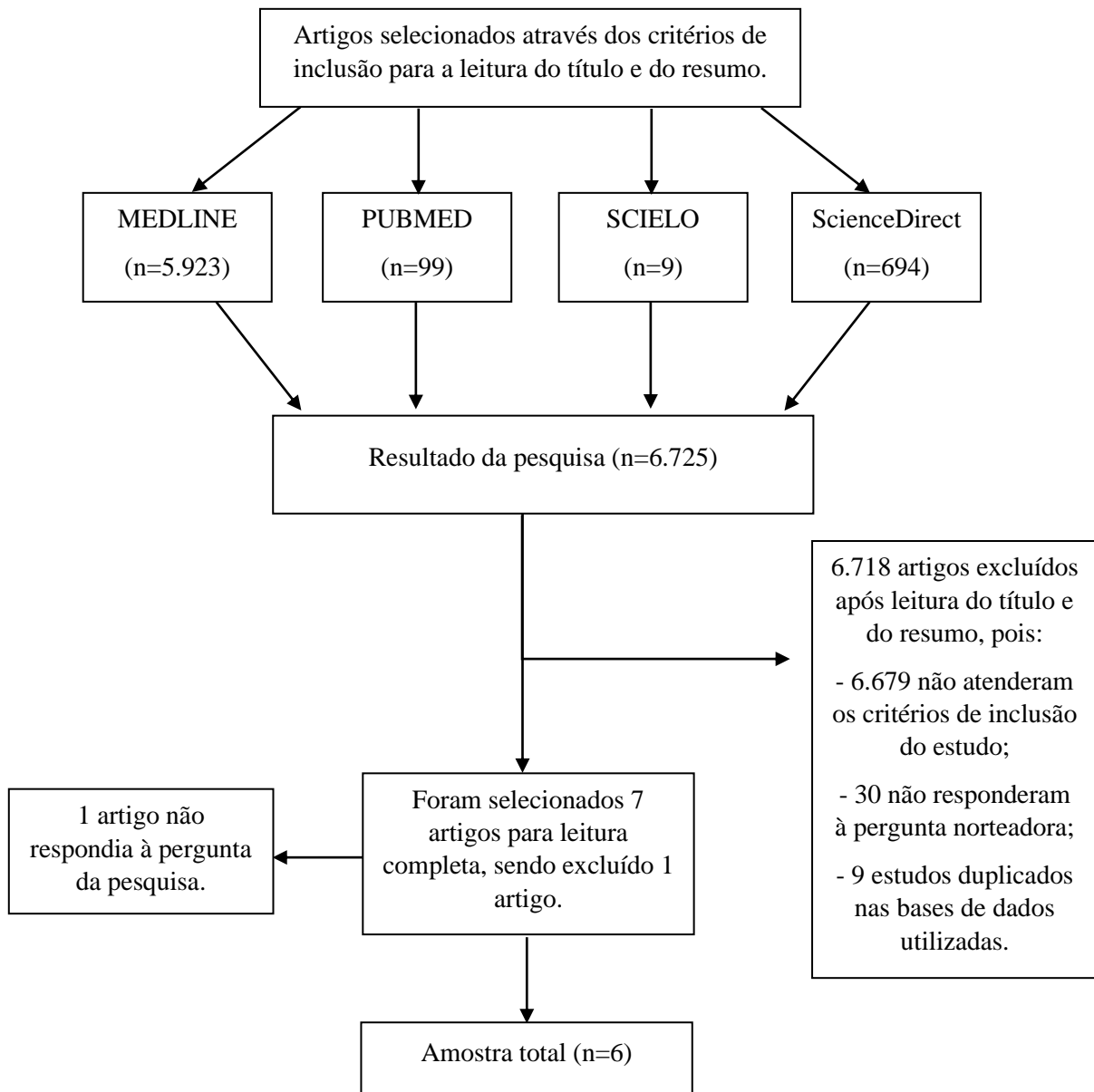
Quadro 1. Descritores utilizados durante a pesquisa para a busca de artigos

Base de dados	Descritores
MEDLINE	<i>Microglia “and” Cytokines</i>
	<i>Microglia “and” Coronavirus</i>
PUBMED	<i>Microglia “and” Coronavirus “and” Cytokines</i>
	<i>Microglia “and” Coronavirus</i>
SCIELO	<i>Microglia “and” Coronavirus</i>
	<i>Microglia “and” Cytokines</i>
ScienceDirect	<i>Microglia “and” Coronavirus</i>
	<i>Microglia “and” Coronavirus “and” Cytokines</i>

Utilizando os descritores escolhidos nas bases de dados escolhidas, foram encontrados 6.725 estudos. Destes, por meio da leitura do título e do resumo, foi possível excluir 6.718 artigos por: serem duplicados nas bases de dados, não obedecerem aos critérios de inclusão já mencionados e não responderem à questão norteadora do estudo. Dessa forma, reduziu-se a amostra para 7 artigos.

Em seguida, foi realizada a leitura completa dos artigos selecionados para definir os estudos que respondessem a hipótese investigativa proposta, havendo, então, a exclusão de 1 artigo somente, pois não respondia à questão norteadora. Ao todo, a amostra final resultante foi de 6 artigos (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma (adaptado do modelo de prisma) dos estudos incluídos e excluídos da revisão integrativa de acordo com a pesquisa feita nas bases de dados



RESULTADOS

O presente estudo obteve uma amostra total de 6 artigos, dos quais foram codificados de E1 a E6 e caracterizados de acordo com os autores, ano, país, objetivo e tipo do estudo, como demonstrado no Quadro 2. Todos os estudos foram publicados em 2020, período no qual o SARS-CoV-2 surgiu. Quanto ao país, encontrou-se estudos realizados nos EUA^{7, 9, 10, 11, 12}, Espanha⁸, China^{9, 10} e Japão⁹. Os estudos, então, foram classificados como rápida comunicação⁷, relato de caso^{8, 12} e estudo experimental^{9, 10, 11}.

Quadro 2. Caracterização dos estudos incluídos na revisão integrativa

Estudo	Autores	Ano	País	Objetivo	Tipo do estudo
E1 ⁷	Young MJ, et al.	2020	EUA	Explorar a potencial ligação entre as respostas imunes ao COVID-19 e a aceleração dos distúrbios neurodegenerativos.	Rápida comunicação (RC)
E2 ⁸	Palao M, et al.	2020	Espanha	Observar o mecanismo imunológico induzido pela SARS-CoV-2 no início clínico da Esclerose Múltipla.	Relato de caso
E3 ⁹	Zheng J, et al.	2020	EUA, China e Japão	Demonstrar o papel da sinalização de Prostaglandina D2 nas células dendríticas no desenvolvimento de encefalomielite autoimune experimental (EAE).	Estudo experimental
E4 ¹⁰	Yang L, et al.	2020	EUA e China	Analisar o tropismo por SARS-CoV-2 e exemplar a infecção do vírus em células e organoides humanos em uma plataforma baseada em células-tronco pluripotentes humanas.	Estudo experimental
E5 ¹¹	Lavi E, Cong L	2020	EUA	Ilustrar uma estrutura proposta do sistema imunológico inato linfático do SNC através de seções randomizadas do cérebro humano imunohistoquimicamente coradas.	Estudo experimental
E6 ¹²	Beach SR, et al.	2020	EUA	Apresentar casos clínicos de pacientes que manifestaram delírium como resultado de infecção por SARS-CoV-2.	Relato de caso

DISCUSSÃO

Nesta revisão, os estudos selecionados avaliaram a atividade microglial de forma secundária, dando prioridade à resolução dos objetivos propostos de cada pesquisa. Todos os artigos evidenciam a participação da micróglia como intermediadora do processo de neuroinflamação subsequente à infecção viral^{7, 8, 9, 10, 11, 12}.

Pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 apresentaram sinais e sintomas de doenças neurodegenerativas paralelamente⁷ ao início sintomático de COVID-19 ou logo após a infecção⁸. Na primeira situação, o paciente manifestou os primeiros sinais de Doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ) durante o início sintomático de COVID-19. Uma hipótese seria de que a cascata de inflamação sistêmica como resposta ao SARS-CoV-2 fez com que a patogênese da DCJ fosse acelerada. O paciente apresentava uma quantidade anormal de marcadores inflamatórios, revelando que a micróglia ativada, juntamente com os astrócitos A1, provoca liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- α . O acúmulo de proteína priônica *scrapie* em pacientes com DCJ causa alterações neurológicas espongiiformes paralelas à rápida neurodegeneração — provocada pelo COVID-19 — e ativação microglial na área afetada⁷.

O primeiro caso por Esclerose Múltipla (EM) após COVID-19 registrado, pontou a participação do SARS-CoV-2 em um mecanismo imunológico que ativa os linfócitos e uma resposta inflamatória, fatores que exercem papel fundamental no início clínico da EM, estando então associado ao desencadeamento ou intensificação das doenças desmielinizantes. No caso relatado, a paciente já apresentava lesões periventriculares sem realce critérios diagnósticos que apontava para o diagnóstico de EM anterior ao processo infeccioso viral, o que colabora para a hipótese de que o SARS-CoV-2 atuou como fator desencadeante da EM, em vez de causá-la, de fato⁸. Em ambos os casos de DCJ⁷ e EM⁸, a infecção por SARS-CoV-2 desencadeou uma resposta imune exacerbada no SNC, culminando em um quadro intenso de neuroinflamação.

No quadro de encefalite autoimune⁹, testes realizados em camundongos infectados com um coronavírus neurotrópico — vírus da hepatite de camundongo (MHV) — evidenciaram que, após a infecção, a sinalização da prostaglandina D2 é essencial para a ativação ideal da micróglia. Contraditoriamente ao processo de indução neuroinflamatória por SARS-CoV-2^{7, 8}, as respostas pró-inflamatórias crescentes nos nódulos linfáticos culminaram

em camundongos com menor ativação da micróglia e menos desmielinização, ocasionando apoptose induzida por intensa ativação de linfócitos T específicos do peptídeo 35-55 da glicoproteína de mielina de oligodendrócitos (MOG35-55). As consequências da diminuição desse peptídeo reduziram a gravidade da encefalite autoimune. Portanto, em camundongos, a micróglia atua prolongando a neuroinflamação, mas também pode atenuar a recaída na encefalite autoimune recorrente através da inibição da proliferação dos linfócitos T CD4 no SNC⁹.

Como o SARS-CoV-2 é um vírus recém-descoberto, seu tropismo não é bem conhecido. A fim de estudá-lo, foram usadas células-tronco pluripotentes humanas (hPSC)¹⁰ para identificar se o vírus possui uma propensão em infectar algum tipo de célula. As infecções por SARS-CoV-2 em células derivadas de hPSC foram realizadas em meios de crescimento de células nos MOIs (multiplicidade de infecção) específicos e as células foram mantidas por 24h a 37°C. As células derivadas de hPSC demonstraram respostas de quimiocinas semelhantes aos tecidos infectados COVID-19. Foram encontrados altos níveis de RNA guia viral em neurônios dopaminérgicos, macrófagos, micróglia e neurônios corticais, evidenciando um tropismo acentuado pelo SNC¹⁰.

Em outro modelo experimental de infecção em camundongos com MHV-A59¹¹, os resultados refletiram-se nas manifestações neurológicas⁵ causadas pelo COVID-19 em humanos. A indução de citocinas intermedia a neuropatogênese da infecção por coronavírus em camundongos da mesma forma na qual o sistema imunológico inato atua no SNC humano¹¹. Os astrócitos A1 e a micróglia liberam citocinas^{7, 11} como parte do sistema imunológico inato do cérebro, contribuindo para a patogênese de uma infecção causada por coronavírus neurotrópico, indicando a necessidade de terapias com inibidores de citocinas para COVID-19¹¹. Assim como a infecção em camundongos causada por MHV-A59, na infecção humana por SARS-CoV-2 há afinidade viral para o sistema olfatório com sua subsequente propagação para SNC, causando manifestações neuropatológicas¹¹. Além disso, ambos possuem dependência de citocinas para o início da patogênese^{7, 8, 11} e têm o RNA viral encontrado em órgãos infectados^{10, 11}.

Em uma série de quatro casos relatados¹², os pacientes apresentaram delírium resultante de infecção por SARS-CoV-2. Como hipótese, relacionaram-se as características neurotrópicas do vírus da imunodeficiência humana (HIV) como as do SARS-CoV-2 para a compreensão dos sintomas neuropsiquiátricos dos pacientes com delírium. A fisiopatologia do HIV pode ocorrer de duas formas: direta e indireta. A invasão direta do HIV na região

circunventricular encefálica ocorre através da ligação deste vírus com macrófagos infectados que atravessam a barreira hematoencefálica com o objetivo de substituir as células imunes perivasculares (astrócitos A1 e micróglia)^{11, 12}. Durante este processo, há o recrutamento microglial, que causa uma resposta neuroinflamatória que induz disfunção neuronal e apoptose. De maneira semelhante, o SARS-CoV-2 se liga à receptores ACE-2 (enzima conversora de angiotensina 2) — encontrados em neurônios e células da glia —, o que promove a neuropatogênese da COVID-19¹².

CONCLUSÃO

As limitações desse estudo consistem no fato da existência de poucos estudos referentes a atuação imunológica do SNC frente à infecção por vírus da família coronavírus, sobretudo do tipo SARS-CoV-2. Além disso, o recorte temporal de menos de um ano corroborou para essa limitação de informação, fruto de uma recente descoberta de um novo tipo viral em um cenário de pandemia. Em contrapartida, com os dos resultados deste estudo, espera-se contribuir para o incentivo à pesquisa relacionada a este tema, visando promover um olhar cauteloso sobre as reações imunológicas no SNC presentes em pacientes que manifestam sintomas neurológicos decorrentes do COVID-19.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WOLF SA, BODDEKE HW, KETTENMANN H. “Microglia in Physiology and Disease”. **Annual Review of Physiology** 79: 619–643, 2017.
2. COLONNA M., BUTOVSKY O. “Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration”. **Annual Review of Immunology**. 35: 441-468, 2017.
3. OLAH M, BIBER K, VINET J, BODDEKE HW. “Microglia phenotype diversity”. **CNS Neurol Disord Drug Targets** 10(1): 108-118, 2011.
4. WU Y, XU X, CHEN Z, DUAN J, HASHIMOTO K, YANG L, LIU C, & YANG C. “Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses”. **Brain, behavior, and immunity** vol. 87, 18–22, 2020.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo de manejo clínico para o novo-coronavírus (2019-nCoV). **Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde**. 2020
6. BLANCO-MELO D, et al. “Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19”. **Cell Press** vol. 181,5: 1036-1045, 2020.
7. YOUNG MJ, et al. Creutzfeldt-Jakob disease in a man with COVID-19: SARS-CoV-2-accelerated neurodegeneration? **Brain, Behavior, and Immunity**. Estados Unidos da América, 2020.
8. PALAO M, et al. Multiple sclerosis following SARS-CoV-2 infection. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, Espanha, vol. 45, 2020.
9. ZHENG J, et al. Prostaglandin D2 signaling in dendritic cells is critical for the development of EAE. **Journal of Autoimmunity**, Estados Unidos da América, 2020.
10. YANG L, et al. A Human Pluripotent Stem Cell-based Platform to Study SARS-CoV-2 Tropism and Model Virus Infection in Human Cells and Organoids. **Cell Stem Cell** vol. 27,1: 125-136, 2020.
11. LAVI E, CONG L. Type I astrocytes and microglia induce a cytokine response in an encephalitic murine coronavirus infection. **Experimental and Molecular Pathology** vol. 115, 2020.

12. BEACH SR, et al. Delirium in COVID-19: A case series and exploration of potential mechanisms for central nervous system involvement. **General Hospital Psychiatry** vol 65: 47-53, 2020.