

**Universidade do Algarve**  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

**A Evolução da Abordagem Farmacológica no Tratamento  
Contra a COVID-19**

**Hugo Lourenço Loja**

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob orientação da Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro



**Universidade do Algarve**  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

**A Evolução da Abordagem Farmacológica no Tratamento  
Contra a COVID-19**

**Hugo Lourenço Loja**

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob orientação da Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

2022

## A Evolução da Abordagem Terapêutica Farmacológica da COVID-19

# A Evolução da Abordagem Farmacológica no Tratamento Contra a COVID-19

## Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam na listagem de referências incluída.

---

Copyright©

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## **Agradecimentos**

### ***À Professora Doutora Ana Serralheiro,***

por ter aceitado o pedido de orientar esta tese de mestrado, pela disponibilidade e por toda a motivação que transmitiu. A análise ao pormenor da tese foi sem dúvida uma mais-valia e uma ajuda crucial. Agradeço por cada minuto em que me tentou transmitir conhecimento. É sem dúvida uma excelente profissional e uma excelente pessoa. Muito Obrigado!

### ***A todo corpo docente do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,***

por ter contribuído para a minha formação enquanto futuro profissional de saúde e por mostrarem uma evolução progressiva ao longo dos anos em que fui aluno da casa. É com muito orgulho que digo que tive bons professores.

### ***À Universidade do Algarve,***

por ter sido a minha segunda casa, por me ter feito crescer a nível pessoal e profissional e por me ter dado os melhores anos da minha vida.

### ***Aos meus pais,***

por me terem dado a possibilidade de prosseguir com os estudos, por terem sido um grande apoio desde sempre e por serem os meus eternos amigos. Sem vocês não teria alcançado tudo o que já consegui alcançar. A vocês, um Muito Obrigado!

### ***Aos meus irmãos e avó,***

a vocês manos por saber que estavam lá para me darem todo o apoio que fosse necessário sem qualquer hesitação e por assim ter sido desde sempre. Se há alguém que eu tenha como exemplo a seguir na vida são vocês. A ti avó, agradeço pela alegria que sempre tiveste, pelos farnéis, pela notinha de “ajuda para a gasolina” cada vez que rumava ao sul, por tudo!

***Aos amigos que a universidade me deu,***

por terem feito parte deste percurso inesquecível, desde as aulas, às sessões de estudo, às noites, à praxe, aos jantares. Agradeço-vos pela amizade e pelo apoio! Vocês sabem quem são.

***Ao Dinis e à Joana,***

por serem a definição de amizade em pessoa. A vocês agradeço só por existirem e serem quem são! Fomos inseparáveis do início ao fim e com certeza que esta grande amizade há de perdurar. Juntos criámos boas memórias e sem vocês tudo teria sido muito mais difícil e nem teria tido a mesma piada.

***À Yana,***

por sempre ter sido amiga dos seus amigos, pela boa companhia que acabou por se tornar recorrente e pelas boas memórias. És das pessoas mais alegres que conheço e sem dúvida que sem ti tudo também teria sido muito diferente! Obrigado por teres estado a meu lado e por fazeres deste percurso um percurso mais fácil e alegre.

***Aos padrinhos, madrinha e afilhadas (o),***

por me terem aceitado e orientado numa fase inicial agradeço-vos Canhoto, Catarina e Cris. E a vocês afilhadas e afilhado, um obrigado pelo voto de confiança que depositaram em mim. Esforcem-se e façam por serem sempre bons. Não só como estudantes, mas também como pessoas. O que vier a mais é bónus!

***À Inês Claro,***

por sempre me ter feito acreditar em mim e por eu saber que sempre será um apoio. Foste fundamental para o meu crescimento pessoal. Obrigado pelas boas memórias e pela amizade que partilhamos, bem como pela toda a ajuda que me deste!



## RESUMO

A COVID-19 é uma doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, um vírus emergente que foi descoberto no final do ano de 2019 na China. No dia 11 de março de 2020 a doença foi declarada como pandemia pela Organização Mundial da Saúde devido aos níveis alarmantes de propagação e gravidade, tendo-se verificado vários impactos sociais, económicos e políticos a nível nacional e mundial. A proveniência exata do vírus é desconhecida, mas tudo leva a crer que seja de origem zoonótica.

Recentemente, as terapêuticas existentes destinavam-se a atenuar os sintomas e a torná-los mais toleráveis. As vacinas anti-COVID-19 foram desde o início da pandemia um objetivo a alcançar de modo a garantir a saúde da população. Para surpresa de muitos e ao contrário do que se esperava, ao fim de um ano de pandemia começaram a ser anunciadas as primeiras vacinas anti-COVID-19, tendo contribuído para a redução da mortalidade em mais de 50% na região europeia da Organização Mundial de Saúde.

Muitos fármacos foram inicialmente usados de forma *off-label* para tratar a COVID-19, como a ivermectina e a hidroxicloroquina, porém, mais tarde vieram a demonstrar-se inúteis. O soro convalescente também não evidenciou benefício terapêutico. Já fármacos como o remdesivir, a associação nirmatrelvir + ritonavir, a dexametasona, o molnupiravir e o tocilizumab exibiram potencial a nível clínico conseguindo de uma forma transversal reduzir a taxa de mortalidade e, em certos casos, diminuir também o número de internamentos ou o tempo de hospitalização.

Com vista a que a doença se torne endémica e com o objetivo de assegurar uma proteção eficaz e duradora da população, novas estratégias terapêuticas têm de ser estudadas e desenvolvidas. De entre os vários medicamentos atualmente investigados e incluídos em ensaios clínicos, o Vaxart (vacina oral) e o SNG001 têm se evidenciado promissores para serem terapêuticamente aplicados num futuro próximo.

**Palavras-chave:** COVID-19; Pandemia; SARS-CoV-2; Terapêutica farmacológica; Vacinas.



## ABSTRACT

COVID-19 is a disease caused by the SARS-CoV-2 virus, an emerging virus that was discovered in late 2019 in China. On March 11, 2020, the disease was declared a pandemic by the World Health Organization due to the alarming levels of spread and severity, with several social, economic, and political impacts at national and global level. The etiology of the virus is unknown, but everything suggests that it is of zoonotic origin.

Recently, the existing therapies were aimed at alleviating symptoms and making them more tolerable. Vaccines anti-COVID-19 have been a goal to achieve since the beginning of the pandemic in order to guarantee the health of the population. To the surprise of many and in contrast to what was expected, after a year of pandemic, the first vaccines against COVID-19 began to be announced, having contributed to the reduction of mortality by more than 50% in the World Health Organization European region.

Many drugs were initially used *off-label* for the treatment of COVID-19, such as ivermectin and hydroxychloroquine, but later proved to be useless. Convalescent serum also showed no therapeutic benefit. Drugs such as remdesivir, the combination nirmatrelvir + ritonavir, dexamethasone, molnupiravir and tocilizumab showed potential at a clinical level, achieving a transversal reduction in the mortality rate and, in certain cases, also decreasing the number of hospitalizations or the time of hospitalization.

In order for the disease to become endemic and in order to ensure an effective and lasting protection for the population, new therapeutic strategies must be studied and developed. Among the various drugs currently investigated and included in clinical trials, Vaxart (oral vaccine) and SNG001 have shown promising results to be therapeutically applied in the near future.

**Palavras-chave:** COVID-19; Pandemic; SARS-CoV-2; Pharmacological therapeutics; Vaccines.



## ÍNDICE

AGRADECIMENTOS .....	III
RESUMO .....	V
ABSTRACT .....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XI
ÍNDICE DE TABELAS .....	XIII
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS .....	XV
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. O VÍRUS (SARS-COV-2) .....</b>	<b>3</b>
2.1. ORIGEM .....	4
2.2. TAXONOMIA E CLASSIFICAÇÃO .....	5
2.3. MECANISMO DE INFEÇÃO E REPLICAÇÃO VIRAL .....	6
<b>3. COVID-19 .....</b>	<b>8</b>
3.1. IMPACTOS A NÍVEL MUNDIAL E NACIONAL .....	8
3.2. FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA .....	9
3.3. SINTOMAS .....	10
3.4. PREVENÇÃO .....	11
3.5. DIAGNÓSTICO .....	11
3.6. TRATAMENTO .....	14
<b>4. CRONOLOGIA DA EVOLUÇÃO FARMACOLÓGICA .....</b>	<b>15</b>
<b>5. TERAPÊUTICA FARMACOLÓGICA .....</b>	<b>16</b>
5.1. ANTIVIRAIS .....	17
5.1.1. <i>Remdesivir (Veklury®)</i> .....	17
5.1.2. <i>Nirmatrelvir e Ritonavir (Paxlovid®)</i> .....	21
5.1.3. <i>Molnupiravir (Lagevrio®)</i> .....	23
5.2. CORTICOSTEROIDES .....	24
5.2.1. <i>Dexametasona</i> .....	24
5.3. ANTICORPOS MONOCLONAIS .....	27
5.3.1. <i>Tocilizumab (RoActemra®)</i> .....	27
5.4. ANTIPARASITÁRIOS .....	29
5.4.1. <i>Ivermectina</i> .....	30
5.4.2. <i>Hidroxicloroquina</i> .....	32
5.5. HEMODERIVADOS .....	35
5.5.1. <i>Soro Convalescente - COVID-19</i> .....	36
<b>6. VACINAS .....</b>	<b>39</b>
6.1. COMIRNATY® E SPIKEVAX® .....	40
6.1.1. <i>Mecanismo de Ação</i> .....	41

## A Evolução da Abordagem Terapêutica Farmacológica da COVID-19

6.1.2.	<i>Segurança</i> .....	44
6.1.3.	<i>Eficácia Comirnaty®</i> .....	45
6.1.4.	<i>Eficácia Spikevax®</i> .....	47
6.2.	VAXZEVRIA® E JCOVDEN®.....	49
6.2.1.	<i>Mecanismo de Ação</i> .....	49
6.2.2.	<i>Segurança</i> .....	51
6.2.3.	<i>Eficácia Vaxzevria®</i> .....	52
6.2.4.	<i>Eficácia JCOVDEN®</i> .....	55
6.3.	BENEFÍCIOS DA VACINAÇÃO.....	56
<b>7.</b>	<b>PERSPETIVAS FUTURAS</b> .....	<b>59</b>
7.1.	VAXART - VACINA ORAL.....	59
7.2.	SNG001.....	61
7.3.	DESINFEÇÃO FOTODINÂMICA COM AZUL DE METILENO.....	62
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>65</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA:</b> .....	<b>66</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b> - Estrutura do Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-CoV-2).....	3
<b>Figura 2.2</b> - Resumo do ciclo de replicação do Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-Cov-2).....	7
<b>Figura 3.1</b> - Teste de antígeno para a deteção de Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-CoV-2). AuNP, Nanopartículas de ouro coloidal.....	13
<b>Figura 5.1</b> - Mecanismo de ação do Remdesivir. ....	18
<b>Figura 5.2</b> - Mecanismo de ação dos glicocorticoides (S) pela via genómica. ....	25
<b>Figura 5.3</b> - Mecanismo de ação do Tocilizumab. ....	28
<b>Figura 5.4</b> - Comparação entre a percentagem de mortalidade do grupo de doentes submetidos a tratamento com hidroxicloroquina e no grupo de controlo. ....	34
<b>Figura 5.5</b> - Exemplificação de constituintes do Plasma Convalescente. ....	36
<b>Figura 5.6</b> - Exemplificação de efeitos antivirais e de efeitos imunomoduladores do plasma convalescente. ....	37
<b>Figura 6.1</b> - Processo de entrada das nanopartículas contendo ARN mensageiro (ARNm) que traduz a proteína spike, produção e expressão da proteína spike à superfície celular, bem como de fragmentos pelo Complexo major de histocompatibilidade 1 (CMH-1). 42	
<b>Figura 6.2</b> - Fagocitose, processamento e deteção de fragmentos de proteína spike por linfócito T auxiliar através do complexo major de histocompatibilidade 2 (CMH-2). ...	43
<b>Figura 6.3</b> - Ativação de linfócito B e secreção de anticorpos (esquerda), neutralização do coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-CoV-2) através da interação de anticorpos com a proteína spike (direita). ....	43
<b>Figura 6.4</b> - Ativação de linfócitos T citotóxicos através de complexo major de histocompatibilidade (CMH-1) expressa por células apresentadoras de antígeno e/ou por células imunizadas. ....	44
<b>Figura 6.5</b> - Processo de entrada do adenovírus na célula e da transcrição de ADN em ARNm.....	50
<b>Figura 6.6</b> - Mortalidade observada e esperada caso não existisse vacinação em Portugal entre a semana 51/2020 e 45/2021. ....	58

**Figura 7.1** - Variação da percentagem do peso dos hámsteres nos diferentes grupos caracterizados pela via de administração da vacina (intranasal [IN], oral e intramuscular [IM]) bem como pelo número de doses administradas, 5 dias após a infeção pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-Cov-2)..... 60

**Figura 7.2** - Mecanismo da desinfecção fotodinâmica com azul de metileno (AM). ..... 62



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 5-1</b> - Percentagem de mortalidade entre o grupo a receber dexametasona e o grupo a receber cuidados de saúde habituais para os diferentes tipos de suporte respiratório.....	26
<b>Tabela 6-1</b> - Número de infeções por SARS-CoV-2 no período de 7 dias após a 2ª dose da Comirnaty® no grupo de intervenção e grupo de controlo e por subgrupo de acordo com evidência ou não de infeção por SARS-CoV-2 prévia. ....	46
<b>Tabela 6-2</b> - Eficácia da Comirnaty® de forma geral e em diferentes subgrupos etários. ....	47
<b>Tabela 6-3</b> - Eficácia da vacina Spikevax® e número de casos em cada grupo e subgrupo. ....	48
<b>Tabela 6-4</b> - Eficácia da vacina Vaxzevria® e número de casos de infeção em cada grupo e subgrupo.....	53
<b>Tabela 6-5</b> - Eficácia estimada da Vaxzevria® ≥ 15 dias após a administração da segunda dose, de acordo com os dados obtidos nos estudos COV002 e COV003.....	54
<b>Tabela 6-6</b> - Análise da eficácia da JCOVDEN® contra a COVID-19 considerando os resultados obtidos após a administração de uma dose única de vacina.....	55
<b>Tabela 6-7</b> - Número cumulativo de mortes observadas e evitadas pela vacinação contra a COVID-19, taxas de mortalidade e taxas de mortalidade esperadas por 100000 habitantes com 60 anos ou mais, usando o cenário básico de eficácia da vacina, por país. ....	57



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- 3CL<sup>PRO</sup>** – Protéase tipo 3-quimotripsina
- ACE-2** – Enzima conversora de angiotensina II
- ADN** – Ácido desoxirribonucleico
- ARN** – Ácido ribonucleico
- ATP** – Adenosina trifosfato
- CMH** – Complexo major de histocompatibilidade
- COVID-19** – Doença causada pelo coronavírus 2019
- CYP3A4** – Citocromo P450 3A4
- EMA** – Agência Europeia do Medicamento (do inglês “*European Medicines Agency*”)
- EUA** – Estados Unidos da América
- GREs** – Elementos de resposta a glicocorticoide
- FDA** – *Food and Drug Administration*
- FPIX** – Ferriprotoporfirina IX
- GISAID** – Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data
- GM-CSF** – Fator estimulador da colônia de granulócitos-mastócitos
- GR** – Recetor de glicocorticoides
- HEK-293T** – Células de rim embrionário humano 293
- HSP** – Proteína *Heat-shock*
- IL** – Interleucina
- Ig** – Imunoglobulina
- MERS** – Síndrome respiratória do Médio Oriente
- MABs** – Anticorpos monoclonais
- NHC** – N-hidroxicitidina
- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- PIB** – Produto interno bruto
- RdRp** – ARN polimerase dependente de ARN
- RT-PCR** – Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
- SARS** – Síndrome aguda respiratória severa
- SARS-CoV-2** – Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa
- SNS** – Serviço Nacional de Saúde

**TAAN** – Testes moleculares de amplificação de ácidos nucleicos

**TNF** – Fator de necrose tumoral

**TMPRSS2** – Serina protéase 2 transmembranar

**TRAg** – Teste rápido de antígeno

## 1. Introdução

Ao longo das últimas duas décadas o mundo testemunhou o aparecimento de várias doenças associadas a coronavírus: A síndrome aguda respiratória severa (SARS) em 2002, a síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS) em 2012 e mais recentemente, no final de 2019, foi reportado na cidade de Wuhan, da província de Hubei na China o aparecimento de uma nova doença, designada por COVID-19 e causada por um novo coronavírus (SARS-CoV-2) que provocava síndrome respiratória aguda severa (1).

No dia 11 de março de 2020, a doença foi declarada como pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) devido aos níveis alarmantes de propagação e gravidade (2). Deste modo, rapidamente foi necessário que a comunidade científica conseguisse desenvolver alguma solução terapêutica a curto prazo. Assim, numa fase inicial, várias estratégias terapêuticas já existentes e implementadas na clínica para outras indicações, como são exemplo os antivirais, corticosteroides, anticorpos monoclonais, etc. foram aplicadas de modo a tentar compreender se teriam potencial para tratar esta doença emergente, atuando através de uma inibição da replicação viral ou de uma forma imunomoduladora. No entanto, prontamente se percebeu que a maneira mais promissora de travar a doença seria através da prevenção, recorrendo-se para tal ao uso de máscaras, distanciamento social, mas acima de tudo ao desenvolvimento de vacinas que, para surpresa de muitos, se desenrolou num período recorde. De facto, o processo de investigação e desenvolvimento de uma vacina humana tem uma duração estimada de aproximadamente oito a dez anos, ao passo que as vacinas contra o SARS-CoV-2 demoraram cerca de oito meses a serem desenvolvidas (3).

Apesar do avanço rápido que existiu no que toca às vacinas, muitos ensaios clínicos continuam a ser efetuados com o intuito de tentar perceber qual o papel das diferentes terapêuticas no combate à COVID-19. Estes ensaios podem ser essenciais para o desenvolvimento de ferramentas que permitam destruir o vírus ou por outro lado possam contribuir para uma maior efetividade do tratamento e uma imunidade mais prolongada, o que pode ser posto em causa com as vacinas devido ao surgimento de novas variantes virais.

Este trabalho de revisão bibliográfica teve como objetivo compreender de que forma evoluiu a abordagem farmacológica no combate à COVID-19 e foi desenvolvido com base em quatro grandes temáticas: a doença e o vírus; a utilização de fármacos *off-label* bem como as terapêuticas que foram desenvolvidas exclusivamente para tratar a doença; as vacinas anti-COVID-19 e, por último, as perspectivas futuras quanto ao desenvolvimento e aplicação clínica de fármacos que possam auxiliar no combate à doença.

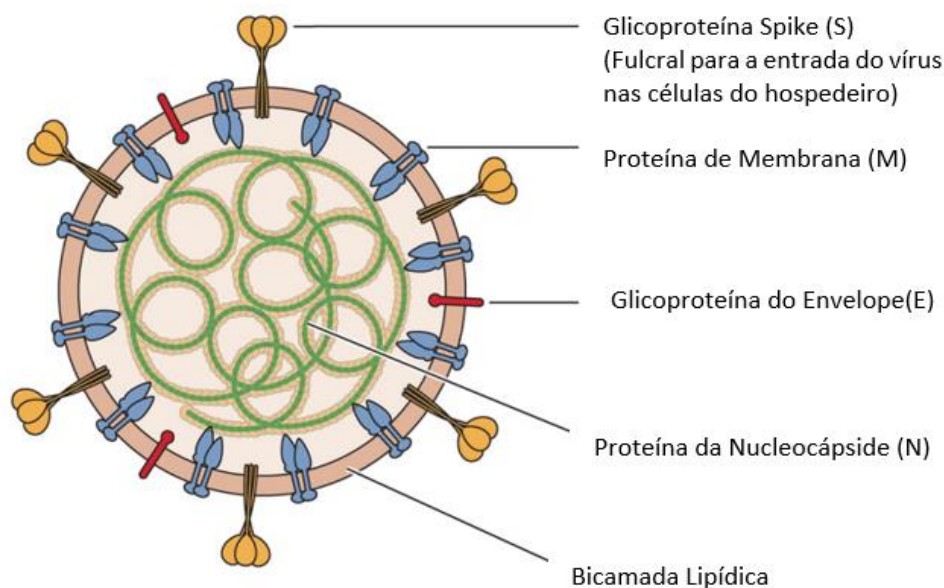
A realização deste trabalho teve como base uma pesquisa de literatura através de vários motores de busca de entre os quais o PubMed se demonstrou fundamental e de uso praticamente exclusivo, para identificar e recolher vários artigos através da utilização das seguintes palavras-chave: “COVID-19”, “terapêuticas”, “farmacológicas”, “vacinas”, “pandemia”, “fármacos”.

## 2. O Vírus (SARS-CoV-2)

Um vírus é um organismo composto por um genoma, rodeado de um invólucro proteico, a cápside, com função protetora. Em certos casos ainda é possível observar a presença de um envelope lipídico a rodear toda a estrutura central.

Consiste num parasita intracelular obrigatório, ou seja, trata-se de um agente infeccioso sem processos metabólicos independentes que garantam vida autónoma, dependendo do mecanismo biossintético do hospedeiro para se reproduzir. Assim, apenas se pode replicar dentro de células vivas sendo por isso capaz de infetar todos os tipos de organismos vivos como: animais, plantas e até mesmo bactérias, utilizando a respetiva maquinaria de replicação celular.

O SARS-CoV-2 é composto por quatro principais proteínas estruturais que se traduzem mais especificamente em: proteína spike (S), de membrana (M), do envelope (E) e da nucleocápside (N). Na figura 2.1 pode-se observar a estrutura do SARS-CoV-2.



**Figura 2.1** - Estrutura do Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-CoV-2). *Adaptado de (1).*

A proteína S é sem dúvida uma proteína muito importante, tanto para o vírus por permitir a sua entrada em células do hospedeiro mas também por ter sido a base para o desenvolvimento das vacinas que serão abordadas posteriormente (1,3).

## 2.1. Origem

Apesar de ter sido descoberto em Wuhan, no final de 2019, ainda não é claro qual a fonte original de transmissão aos humanos, mas pensa-se que tenha sido de origem zoonótica (1).

Uma análise ao genoma do ARN do SARS-CoV-2 demonstrou que o vírus resulta da recombinação de dois coronavírus, o coronavírus do morcego e outro coronavírus de origem desconhecida (4).

Inicialmente, a partir de uma análise mais aprofundada do genoma, identificou-se que uma cobra seria o reservatório animal mais provável, no entanto outras análises vieram provar que o genoma do vírus é 96% idêntico ao do morcego, tornando este mamífero o organismo mais provável de origem do vírus (5,6).

Além disto, após isolamento de um coronavírus de um pangolim-malaio (*Manis javanica*), um animal em vias de extinção, verificou-se uma semelhança muito elevada com o SARS-CoV-2 (7). Assim a provável origem do SARS-CoV-2 deve resultar da recombinação do coronavírus do pangolim com o RaTG13 coronavírus do morcego, sugerindo que o pangolim seja o hospedeiro intermediário entre o morcego e o humano (7). No entanto, até à data, não foi reportada nenhuma infeção de animais selvagens por SARS-CoV-2, onde se inclui o pangolim, nem foi confirmada a existência de nenhuma espécie reservatório (8).

Os mercados de animais vivos que existem na China podem ter contribuído para que este processo de amplificação e transmissão do vírus entre animais e humanos tenha ocorrido mais facilmente, bem como o uso de alguns destes animais, como são exemplo os morcegos, na medicina tradicional chinesa. Estas práticas devem ser repensadas para que no futuro se evitem novas epidemias de coronavírus zoonóticos (9,10).



## 2.2. Taxonomia e classificação

O Sars-CoV-2 pode ser classificado de diversas formas. Quanto à taxonomia, é um vírus pertencente à ordem *Nidovirales*, a família é *Coronaviridae*, a sua subfamília é *Coronavirinae* e o gênero é *Betacoronavirus* (1). No que toca ao seu genoma pode ser classificado como um vírus de classe IV, segundo a classificação de Baltimore por ter ARN de cadeia positiva (+ARN).

Todos os vírus sofrem variações ao longo do tempo, o SARS-CoV-2 não é exceção. As variantes acontecem por existirem alterações pontuais no genoma dos vírus que não se traduzem necessariamente em qualquer modificação nas propriedades virais, no entanto podem promover mudanças na transmissibilidade, com consequências ao nível da severidade da doença, efetividade de vacinas e outros medicamentos, métodos de diagnóstico, entre outras medidas de saúde pública (11).

As variantes do SARS-CoV-2 podem ser classificadas como variantes de preocupação quando uma ou mais das seguintes premissas é verificada (11):

- aumento da virulência ou mudança no tipo de doença que é exibido;
- aumento da transmissibilidade ou mudança prejudicial da epidemiologia da COVID-19;
- Diminuição da efetividade a nível de medidas sociais e de saúde pública, ou da terapêutica, vacinas e diagnósticos disponíveis.

Atualmente só existe em circulação uma variante de preocupação que é a variante Ómicron. Esta variante é atualmente dominante perfazendo, desde fevereiro de 2022, mais de 98% das sequências virais partilhadas no GISAID (Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data), uma plataforma online que tem como objetivo partilhar de forma eficaz dados relativos a todos os vírus Influenza e do SARS-CoV-2 (11). Anteriormente ao aparecimento da variante Ómicron existiram outras variantes de preocupação como a variante Alfa, Beta, Gama e Delta, sendo que a última foi dominante até ao aparecimento da Ómicron. Comparando a variante Delta com a Ómicron percebe-se que a última acaba por causar infeções menos severas apesar de ter uma transmissibilidade mais elevada (12).

### 2.3. Mecanismo de infecção e replicação viral

O vírus é transmitido de pessoa para pessoa através de gotículas de origem respiratória. Tal como referido anteriormente, a proteína S desempenha um papel crucial na ligação e penetração do vírus em células. Esta proteína é subdividida em duas subunidades unidas por ligações não covalentes: a subunidade S1 é responsável pela incorporação do vírus em células do hospedeiro e a subunidade S2 é responsável pela fusão entre a membrana do vírus e a membrana das células do hospedeiro (13). O recetor com o qual a proteína S do vírus interage para se ligar à célula do hospedeiro é a enzima conversora de angiotensina II (ACE-2) (1). Esta enzima é expressa em tecidos de praticamente todos os órgãos, sendo o pulmão um dos órgãos que expressa esta enzima de forma moderada, pois existem tecidos de outros órgãos com maior expressão (e.g. rins) e outros com menor expressão (e.g. cérebro) (14). Após a proteína spike se ligar à ACE-2, é sujeita a uma clivagem por via de uma protease, como a serina protease 2 transmembranar (TMPRSS2), que irá permitir a mudança conformacional necessária à fusão entre a membrana do vírus e a membrana celular (15). Assim que se fundir, o vírus irá entrar na célula por endocitose e libertar o conteúdo viral necessário para iniciar a replicação de novos vírus através da maquinaria de replicação celular do hospedeiro. Por se tratar de um vírus que possui um genoma de uma cadeia simples de +ARN, para que exista formação de novas cadeias de +ARN para formar novas partículas virais, este ARN tem de ser transcrito em -ARN por parte de uma ARN polimerase que irá constituir o “molde” para a formação de várias cópias de +ARN. Estas cópias serão a base para que durante o processo de tradução se consigam obter as diferentes proteínas virais. As proteínas N e M irão ter o papel de se ligar ao +ARN genómico recém-formado e de facilitar a integração no retículo endoplasmático, respetivamente. A estas nucleocápsides, ou seja, à associação entre as proteínas M e N e o genoma viral, irão ser incorporadas as restantes proteínas virais e a camada bilipídica. Esta incorporação é originada no retículo endoplasmático e complexo de Golgi celulares. Após este processo estar terminado, as partículas virais recém-formadas serão transportadas para o meio extracelular por exocitose onde poderão começar um novo processo de infecção (15,16). Na figura 2.2 pode ser observado um resumo do ciclo de replicação do SARS-CoV-2.



**Figura 2.2** - Resumo do ciclo de replicação do Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-Cov-2).

### 3. COVID-19

A COVID-19 é a doença causada pelo SARS-CoV-2 e que, de uma forma geral, teve impacto macroscópico na vida da população mundial. A infeção por SARS-CoV-2 pode variar de uma infeção assintomática até uma doença severa podendo, em último caso, levar à morte como resultado de uma resposta inflamatória exacerbada. De uma forma geral causou impactos a nível de saúde pública, mas também a nível económico e social pela necessidade de impor um distanciamento social para impedir a transmissão da doença entre a população. Os sintomas mais comuns são característicos de uma infeção respiratória, e por o vírus se transmitir através de gotículas foi necessário adquirir uma correta etiqueta respiratória e instituir cuidados de higiene básicos para reduzir a sua transmissão.

#### 3.1. Impactos a nível mundial e nacional

Até à data, a pandemia foi responsável por causar diversos impactos a nível da saúde global. Desde o início até 18 de agosto de 2022, foram registadas cerca de 600 milhões de infeções resultando na morte de aproximadamente 6,5 milhões pessoas em todo o mundo (17).

Para além disto, teve também vários impactos como por exemplo a nível social, a nível económico em vários setores e a nível político, fazendo deste um dos períodos mais negros da história mundial no século XXI.

No que diz respeito a Portugal, no mesmo período foram registadas cerca de 5,4 milhões de infeções sendo que destas, cerca de 25 mil exibiram um desfecho fatal, tendo quase levado ao colapso do Serviço Nacional de Saúde (SNS) no final de janeiro de 2021 devido ao enorme número de internamentos nos hospitais. (18)

A nível económico, a COVID-19 veio abalar as perspetivas de recuperação positivas em relação à crise que existira anteriormente à pandemia e levou ao aumento da queda do produto interno bruto (PIB) e ao aumento do desemprego no país (19).

A nível político, tanto em Portugal como noutros países, a COVID-19 tem sido apontada como uma razão possível para o aumento do apoio observado aos ideais

defendidos pela extrema-direita, o que se justifica pelo elevado descontentamento sentido pela população durante este período (20).

### 3.2. Fisiopatologia da doença

A infeção por SARS-Cov-2 pode ser caracterizada de três formas diferentes: assintomática, infeção do trato respiratório superior e infeção do trato respiratório inferior que pode evoluir para uma síndrome respiratória aguda severa (16,21). Cerca de 80% dos doentes apresentam uma doença ligeira a moderada, 15% progride para estados da doença mais graves que podem levar à necessidade de suplementação de oxigénio e apenas 5% desenvolve síndrome respiratória aguda severa, falência múltipla de órgãos ou choque séptico (22). Um fenómeno que não é muito comum noutros tipos de afeções respiratórias, mas está presente na COVID-19, é o facto do desenvolvimento da doença promover, em alguns casos, a redução da pressão de oxigénio sanguíneo para níveis extremamente baixos sem que exista grande sintomatologia (22).

A doença severa é causada pela infeção do sistema respiratório pelo vírus SARS-CoV-2 mediante a invasão de diversos tipos de células epiteliais do sistema respiratório, por estas expressarem a ACE-2 e é caracterizada por sintomas como febre, tosse, aumento da frequência respiratória para valores superiores a 30 ventilações por minuto, desconforto a respirar, uma saturação de oxigénio no sangue < 93% e ainda uma linfopenia (22,23). Além dos sintomas respiratórios, eventos de embolia e trombose também foram observados em indivíduos com doença grave, refletindo os níveis elevados de d-dímeros e fibrinogénio no sangue (23). Isto pode ser devido ao facto das células endoteliais que têm um importante papel na regulação trombótica serem destruídas devido à lise causada pela replicação viral, bem como pelo dano tecidual causado pela acumulação de células como neutrófilos ou linfócitos T nos alvéolos. É de notar que as células endoteliais também expressam a ACE-2 e correspondem a um terço das células do pulmão (24,25). Estas células contribuem para fenómenos de anti-agregação, fibrinólise e vasodilatação (26). A permeabilidade microvascular que resulta da lesão do endotélio pode traduzir-se numa invasão viral mais facilitada (23).

Ao sofrerem infeção por parte do vírus, as células imunitárias irão libertar diversos tipos de citocinas capazes de conter o desenvolvimento da doença (16). Caso o

sistema imune não seja capaz de impedir o processo de invasão celular, o trato respiratório inferior pode ser comprometido e pode ocorrer infecção das células epiteliais dos alvéolos. Novamente, de modo a conter esta infecção o organismo vai reagir ao produzir uma enorme quantidade de citocinas como: interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-10, IL-17, fator de necrose tumoral (TNF), fator estimulador da colônia de granulócitos-mastócitos (GM-CSF), interferões, entre outros (27). Os casos mais graves da doença verificam-se em doentes com níveis elevados de IL-6 (23). Assim, face à resposta anti-inflamatória que é despoletada, com a formação de edema, fibrose e libertação de citocinas que conduzem à migração e acumulação de células do sistema imune (linfócitos T, macrófagos e neutrófilos) nos alvéolos, a capacidade por parte destes em realizar as trocas gasosas irá encontrar-se comprometida o que se pode traduzir numa diminuição da oxigenação celular e como consequência, numa falência múltipla de órgãos e, em último caso, morte (21,27,28).

### 3.3. Sintomas

Existem vários sintomas associados à doença que geralmente podem ser confundidos com uma gripe ou constipação, uma vez que este vírus afeta principalmente o trato respiratório. Os mais frequentes segundo a OMS são (29)

- Febre (temperatura  $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) sem nenhuma outra causa aparente;
- Tosse ou agravamento do padrão habitual caso seja normal a pessoa já ter tosse;
- Cansaço;
- Perda total ou parcial do olfato (anosmia) e/ou paladar (ageusia) ou perturbação/diminuição do paladar (disgeusia) de início repentino.

Os sintomas menos frequentes são:

- Dor de garganta;
- Diarreia;
- Cefaleias;
- Descoloração dos dedos das mãos ou pés e/ou irritações na pele;
- Vermelhidão e irritação ocular.

Por último, os sintomas graves de acordo com a OMS são:

- Confusão, perda da fala ou da mobilidade;
- Dispneia;
- Dor no peito.

### 3.4. Prevenção

De forma a diminuir a propagação do vírus é de extrema importância que a população siga os conselhos partilhados pelas autoridades de saúde como (30):

- Distanciamento social, manter distância de pelo menos 2 metros entre pessoas;
- Utilização de equipamentos de proteção individual como máscaras ou viseiras;
- Correta lavagem de mãos e uma boa etiqueta respiratória;
- Higiene ambiental, como a limpeza e desinfecção de espaços partilhados;
- Prestar atenção ao aparecimento de sintomas: caso surjam e sejam sugestivos de COVID-19 optar pelo teletrabalho ou, na sua impossibilidade, promover a abstenção do trabalho.

### 3.5. Diagnóstico

Existe alguma variedade de instrumentos para o diagnóstico e rastreio da COVID-19 de acordo com a estratégia nacional de testes para a SARS-CoV-2 descritas na norma nº 019/2020 da DGS (31). Em Portugal, os mais usados e considerados o método “*Gold-Standard*” são os testes moleculares de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN) que confirmam a presença do vírus SARS-CoV-2 e onde se utilizam amostras recolhidas, através de zaragatoa, da região nasofaríngea sendo os resultados conhecidos no prazo de 24h após a sua realização. Estes incluem testes, em tempo real de transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), e testes rápidos de amplificação de ácidos nucleicos (31). Estes últimos, apresentam uma sensibilidade analítica de cerca de 93,3% e uma especificidade analítica de 98,4% (32). A sensibilidade traduz-se na quantidade mínima de substância que pode ser medida com precisão num ensaio. Já a especificidade representa a capacidade de um ensaio em detetar inequivocamente uma determinada substância numa amostra (33). De uma forma mais simples e aplicada aos

testes podemos dizer que a sensibilidade é a capacidade de identificar pessoas que estejam realmente infetadas (verdadeiros positivos) e a especificidade é a capacidade de identificar pessoas que não estejam realmente infetadas (verdadeiros negativos).

Existem também os testes rápidos de antígeno (TRAg) que devem ser realizados por profissionais de saúde, tendo a particularidade de permitirem o conhecimento do resultado num período de 15 a 30 minutos após a sua realização (31). Estes apresentam uma sensibilidade analítica  $\geq 90\%$  e uma especificidade analítica  $\geq 97\%$  (31).

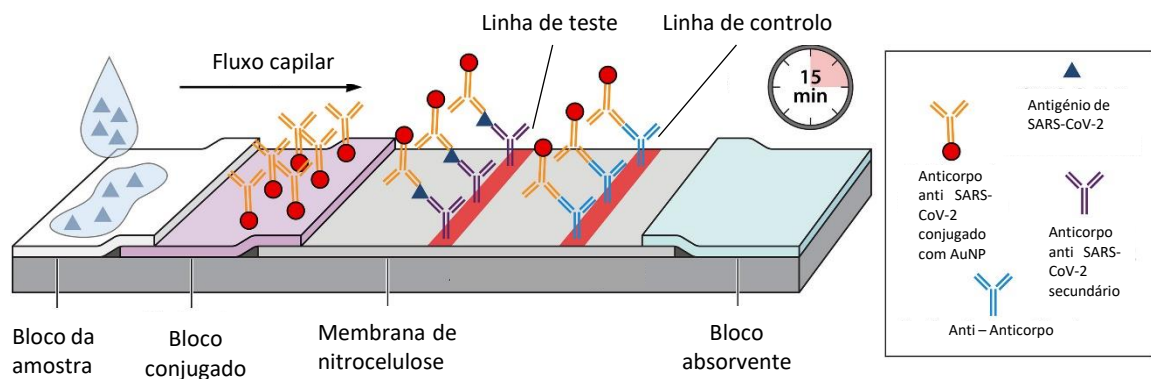
Executados de uma forma mais simples existem também os autotestes que são destinados à população em geral, ou seja, que não exigem a participação de profissionais de saúde, e cujos resultados também podem ser conhecidos num período semelhante aos testes TRAg (31). No entanto, os autotestes não são considerados testes de diagnóstico, mas apenas testes que permitem fazer uma primeira triagem, devendo ser complementados por TAAN ou TRAg de forma a confirmar o diagnóstico final. Estes apresentam uma sensibilidade  $\geq 80\%$  e uma especificidade  $\geq 97\%$ .

Por último, existem os testes serológicos que detetam a presença de anticorpos específicos contra o vírus, servindo apenas para se confirmar se a pessoa já esteve ou não em contacto com o vírus. Estes últimos não são, portanto, considerados testes de diagnóstico (31).

Quanto à tecnologia subjacente ao método de identificação do vírus, os TAAN são testes que permitem a amplificação de duas ou mais regiões do genoma viral sendo que o gene que traduz a proteína S não é um dos mais utilizados pelo facto de ser alvo frequente de mutações. Posto isto, aliado à sua elevada sensibilidade e especificidade percebe-se o porquê de ser o método de referência a nível nacional mesmo quando existem novas variantes em circulação. Quanto aos TRAg e aos autotestes, estes utilizam uma técnica imunocromatográfica que permite detetar antígenos associados ao SARS-CoV-2, tal como se pode observar na figura 3.1. Resumidamente, as amostras a ser analisadas são recolhidas, por exemplo através da colheita com zaragatoa e são colocadas num poço. Esta amostra possui antígenos que irão fluir através da cassete por capilaridade. A parte inferior do poço onde a amostra é colocada contém uma região que é usada como suporte para anticorpos monoclonais específicos para SARS-CoV-2



que estão marcadas por nanopartículas de ouro coloidal (AuNPs) ou outro tipo de substâncias. Se os antígenos estiverem presentes na amostra irão formar um complexo com os anticorpos específicos para o SARS-CoV-2 e estes complexos irão migrar novamente onde serão capturados por outros anticorpos específicos para antígenos de SARS-CoV-2 na membrana de nitrocelulose, formando-se uma linha visível que será a linha de teste. De forma a garantir que o teste é válido é necessário que exista um fluxo correto ao longo da cassette. Para além da zona da linha de teste existem anti-anticorpos específicos para os anticorpos do SARS-CoV-2 que irão capturar anticorpos ligados ou não a antígenos. Irá formar-se então uma última linha na membrana de nitrocelulose que será a linha de controlo e assim se demonstra que existiu uma correta migração (34).



**Figura 3.1-** Teste de antígeno para a detecção de Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-CoV-2). AuNP, Nanopartículas de ouro coloidal. *Adaptado de (34).*

### 3.6. Tratamento

Desde o início da pandemia, muitas opções foram equacionadas para o tratamento da doença severa causada pela infecção do SARS-CoV-2. Até ao momento, a única opção terapêutica desenvolvida exclusivamente para o tratamento da COVID-19 foi o nirmatrelvir associado ao ritonavir (Paxlovid®) (35). Existem outras opções terapêuticas, no entanto aplicadas em regime *off-label* e que englobam o uso de antiviricos de forma a impedir o ciclo normal de replicação viral do SARS-CoV-2, e o recurso a anticorpos monoclonais, corticosteroides, entre outros, que atuam por diminuição da resposta anti-inflamatória hiperativa provocada para tentar combater a infecção. Muitos outros que numa fase precoce se achou que poderiam ter um papel benéfico no tratamento da COVID-19 demonstraram-se inúteis numa fase mais avançada dos estudos pelo que atualmente, não é recomendada a sua utilização para o tratamento a doença (36).

## 4. Cronologia da Evolução Farmacológica

Antes de se abordar individualmente cada fármaco que tenha sido aplicado na terapêutica contra a COVID-19 é necessário compreender as diferentes etapas que caracterizam a abordagem terapêutica farmacológica contra esta nova doença. De um modo geral, é possível dividir de forma cronológica a evolução da terapêutica em três diferentes fases: o desenvolvimento e introdução no mercado das primeiras vacinas, o estudo de medicamentos *off-label* e desenvolvimento de novos fármacos, e a fase mais atual, que é a fase de desenvolvimento de fármacos para no futuro combater a doença.

De uma forma geral, face aos níveis alarmantes de transmissão e mortalidade, as vacinas contribuíram para minimizar a incidência de infeções e diminuir as taxas de mortalidade. Atualmente, com o auxílio de vários fármacos de uso *off-label*, como o remdesivir, o tocilizumab e o molnupiravir e de outros agentes especificamente desenvolvidos para tratar a COVID-19, como a associação entre o nirmatrelvir e o ritonavir, é possível diminuir o número de pessoas a desenvolver doença grave e, por conseguinte, reduzir também o número de hospitalizações e de mortos. Para o futuro, considerando que a COVID-19 provavelmente se tornará endémica, tal como a gripe ou constipação, é necessário desenvolver medicamentos que promovam o desenvolvimento de defesas imunológicas contra o SARS-COV-2 para pessoas imunodeprimidas e idosos, apostando por exemplo no desenvolvimento de novas vacinas (37). Na mesma medida, novos fármacos antivirais ou imunomoduladores devem continuar a ser estudados e desenvolvidos de modo a disponibilizar opções terapêuticas viáveis para combater formas graves da doença no futuro.

## 5. Terapêutica Farmacológica

Até há bem pouco tempo não existia nenhuma terapêutica exclusivamente direcionada para a infecção por SARS-CoV, MERS-CoV nem SARS-CoV-2. As terapêuticas existentes destinavam-se a reduzir os sintomas de forma a torná-los mais toleráveis (38). Alguns fármacos de uso *off-label*, como o remdesivir, foram apontados como possivelmente eficazes no que toca à gestão da doença causada pelo SARS-CoV-2, no entanto eram necessários estudos de eficácia e segurança que comprovassem e sustentassem a sua aplicação o que conduziu à realização de uma série de ensaios clínicos para diferentes fármacos já disponíveis na clínica. Após a elaboração destes ensaios percebeu-se que muitos dos fármacos que inicialmente eram apontados como promissores no combate à COVID-19 não evidenciavam um binómio benefício-risco positivo, exemplo disto é a hidroxicloroquina que foi muito abordada pela comunicação social numa fase inicial da pandemia (39). A ação farmacológica podia categorizar os fármacos com potencial para a gestão da COVID-19 em dois grandes grupos: antivirais – por de alguma forma atuarem diretamente no ciclo de replicação do vírus comprometendo a viabilidade viral, ou imunomoduladores – por atuarem de forma a reduzir os efeitos nefastos causados pela infecção atuando, por exemplo, na diminuição da resposta de citocinas pró-inflamatórias que poderiam causar uma hiperinflamação e assim levar à morte.

Os fármacos abordados na presente monografia foram selecionados de forma a descrever exemplos terapêuticos com e sem evidências de sucesso no tratamento da COVID-19. O remdesivir, a dexametasona e o tocilizumab foram fármacos apontados como promissores no que toca à gestão da doença numa fase muito inicial do seu aparecimento, sendo confirmada a sua efetividade. Por outro lado, fármacos como a hidroxicloroquina e a ivermectina, que numa fase inicial foram identificados como fármacos com potencial para tratar a doença demonstraram-se ineficazes. O soro convalescente também não demonstrou grande potencial para a gestão da doença. Já o desenvolvimento da associação farmacológica entre o nirmatrelvir e o ritonavir e a utilização do molnupiravir foi algo bem mais recente e são, provavelmente dos fármacos

aqui abordados no que toca ao combate da doença causada pelo SARS-CoV-2, os que exibem maior potencial.

Não obstante, importa referir que existem outros fármacos, aqui não mencionados, que também têm sido aplicados no tratamento da COVID-19, nomeadamente o baricitinib (Olumiant®) que em conjunto com o remdesivir (Veklury®) são os únicos fármacos aprovados para uso nos Estados Unidos da América (EUA) pela *Food and Drug Administration* (FDA) (40). De igual modo, o anakinra (Kineret®), um antagonista recombinante humano do recetor de inteleucina-1, o regdanvimab (Regkirona®), a associação entre casirivimab e imdevimab (Ronapreve®) e o sotrovimab (Xevudy®) são anticorpos monoclonais que atualmente estão autorizados pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) para uso na União Europeia no tratamento da COVID-19 (41).

### 5.1. Antivirais

Apesar das medidas profiláticas, nomeadamente o uso de máscara e a vacinação, contribuírem para a redução da morbidade e mortalidade, afigurava-se necessário a existência de outras alternativas de natureza terapêutica para minimizar o risco de doença severa que, como já foi referido anteriormente, acaba por afetar cerca de 15% da população infetada. Numa fase inicial da pandemia, pouco se sabia sobre a doença e muitos dos fármacos antivirais aplicados acabaram por ser introduzidos como opções farmacológicas por já terem sido estudados para o tratamento de outro tipo de doenças infecciosas como as que são causadas pelos vírus SARS-CoV e MERS-CoV. Ao contrário do desenvolvimento das vacinas que se demonstrou uma história de sucesso, o desenvolvimento de fármacos antivirais parece ser um pouco mais complicado, no entanto existem algumas alternativas que podem ter um papel determinante na terapêutica da COVID-19.

#### 5.1.1. Remdesivir (Veklury®)

O Remdesivir é um pró-fármaco antivírico que apresenta uma ação de amplo espectro contra vírus de ARN. Foi desenvolvido para o tratamento da doença causada pelo vírus do Ébola, mas também se demonstrou útil na inibição da replicação de outros

vírus como o SARS-CoV e o MERS-CoV em sistemas primários de cultura de células epiteliais das vias aéreas humanas (42).

Farmacologicamente, o remdesivir após entrar no organismo vai ser metabolizado em GS-441524. Esta molécula será convertida numa outra após ser fosforilada pelas cinases celulares, a GS-443902 (GS-441524 trifosfato) (Figura 5.1). Esta nova molécula fosforilada atua como um análogo da adenosina trifosfato (ATP) que é o substrato natural na síntese de ARN sendo usado pela ARN polimerase dependente de ARN (RdRp). Ao competir com o ATP para a incorporação em cadeias nascentes de ARN, o GS-443902 irá promover o atraso da terminação da cadeia durante o processo de replicação viral. Por outro lado, a incorporação do trifosfato de remdesivir no molde de ARN viral é responsável por inibir a ARN polimerase, comprometendo a eficiência de incorporação do nucleotídeo natural complementar. Como consequência, observa-se a formação de uma cadeia de ARN viral inacabada impedindo assim a síntese de ARN e a normal replicação do vírus (43,44).

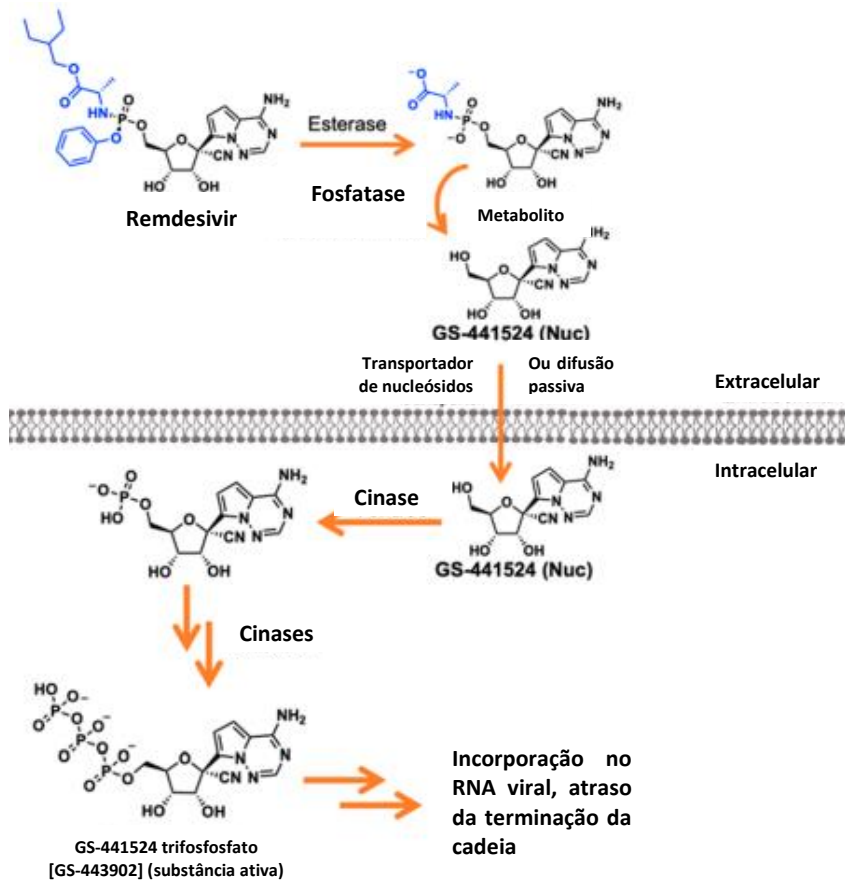


Figura 5.1 - Mecanismo de ação do Remdesivir. Adaptado de (44).

Vários estudos foram feitos para determinar quais os efeitos do remdesivir no tratamento da COVID-19.

O ACTT-1 foi um ensaio clínico multinacional, duplo cego, aleatorizado e controlado por placebo em doentes hospitalizados com COVID-19 (45). O estudo contou com a participação de 1062 participantes. O grupo de doentes que recebeu remdesivir contou com a participação de 541 indivíduos que foram submetidos a uma administração intravenosa de 200 mg de remdesivir no primeiro dia do ensaio seguindo-se a administração de 100 mg/dia durante os restantes nove dias. Já o outro grupo recebeu placebo por 10 dias. O objetivo primário foi avaliar o tempo de recuperação clínica e os dados demonstraram uma redução estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ) no tempo de recuperação no grupo que recebeu remdesivir, sendo este tempo de 10 dias de recuperação comparativamente com o grupo que recebeu placebo que contou com 15 dias de recuperação.

Outro ensaio clínico, o DisCoVeRy, foi realizado em doentes hospitalizados com COVID-19 moderada a severa (46). O DisCoVeRy foi um ensaio aberto de fase III, aleatorizado, controlado e multicêntrico, onde 429 participantes foram selecionados e incluídos num grupo para receber cuidados de saúde habituais e uma administração intravenosa de remdesivir de 200 mg no primeiro dia do estudo ao qual se seguiram 100 mg diários por mais nove dias. O outro grupo, composto por 428 participantes, recebeu apenas os cuidados de saúde habituais. O objetivo primário do estudo consistiu em comparar o estado clínico dos doentes ao fim de 15 dias nos dois grupos e percebeu-se que neste ensaio não houve diferença significativa entre ambos.

O WHO SOLIDARITY, foi um ensaio clínico multinacional, aberto e aleatorizado em doentes hospitalizados com COVID-19. Mais uma vez os doentes foram divididos em dois grupos, em que um dos grupos recebeu remdesivir na posologia descrita nos anteriores ensaios ( $n = 2743$ ), e o outro grupo recebeu os cuidados de saúde habituais ( $n = 2708$ ). O objetivo primário consistiu em comparar a mortalidade em ambos os grupos e constatou-se que a diferença não era estatisticamente significativa (33).

Por último, o PINETREE, foi um ensaio clínico duplo cego, controlado por placebo e aleatorizado realizado em doentes não hospitalizados (48). O grupo que recebeu remdesivir foi sujeito a uma administração de 200 mg por via intravenosa no primeiro

dia do estudo e mais 100 mg diários no 2º e 3º dias (n = 279), enquanto que ao outro grupo foi administrado placebo (n = 283). O principal objetivo consistiu não só em comparar as evidências de hospitalização ou morte por COVID-19, como também a ocorrência de efeitos adversos. Os dados do ensaio demonstraram que no grupo que recebeu remdesivir, apenas 2 doentes foram hospitalizados ou morreram, enquanto que no grupo que recebeu placebo, 11 indivíduos foram hospitalizados ou faleceram, o que se traduz numa redução de 87% de risco de ser hospitalizado ou morrer quando tratado com remdesivir por três dias a comparar com o placebo. Quanto ao aparecimento de efeitos adversos, o resultado foi de 42,3% no grupo que recebeu remdesivir e 46,3% no grupo que recebeu placebo, ou seja, não existiu grande diferença entre ambos (48).

Atualmente o remdesivir é o único fármaco antiviral aprovado pela FDA para o tratamento da COVID-19 (40). A EMA também emitiu parecer positivo quanto à sua utilização, constituindo assim, a par com o Paxlovid® (nirmatrelvir + ritonavir), os únicos antivirais da lista de medicamentos aprovados para o tratamento da COVID-19 a nível europeu (41). A evidência científica que suporta o seu uso no tratamento da COVID-19 em doentes hospitalizados e não hospitalizados é moderada (36).



### 5.1.2. Nirmatrelvir e Ritonavir (Paxlovid®)

O Paxlovid® é um medicamento desenvolvido pela Pfizer que consiste numa associação farmacológica composta por duas substâncias ativas, o PF-07321332 (nirmatrelvir) e o ritonavir, cuja indicação terapêutica é precisamente, o tratamento da doença provocada pelo SARS-CoV-2 (COVID-19) em adultos que não necessitem de administração de oxigénio suplementar e que apresentem risco de evoluir para doença severa. Foi o primeiro medicamento a ser introduzido no mercado especificamente para o tratamento da doença, ao contrário das vacinas que tinham um objetivo meramente profilático ou de outros fármacos que podiam tratar a doença mas em regime *off-label* (35,49).

O ritonavir exerce o seu efeito farmacológico através da inibição da protéase viral, sendo esta enzima crucial para a maturação do vírus porque desempenha um papel na clivagem de precursores de poliproteínas virais em moléculas funcionais ou auxilia no processamento de proteínas estruturais dos vírus, no entanto esta molécula não é ativa contra o SARS-CoV-2 e assim só evidencia utilidade terapêutica por ser um potente inibidor do citocromo P450 3A4 (CYP3A4) (35,49).

Já o nirmatrelvir atua ao inibir a protéase tipo 3-quimotripsina (3CL<sup>PRO</sup>) que é uma enzima que medeia o processamento de dois polipéptidos, pp1a e pp1ab, em proteínas não estruturais que são indispensáveis para a replicação do vírus (50,51).

Devido ao facto de o ritonavir ser um inibidor do CYP3A4 é necessário ter uma especial atenção a terapêuticas farmacológicas de fármacos que sejam metabolizados por esta enzima, uma vez que a sua eficácia e segurança podem ficar comprometidas. Para além de ser inibidor, o ritonavir também é um substrato desta enzima o que faz com que tenham de ser usados com cautela medicamentos que sejam indutores desta enzima (49). Pelo facto de o nirmatrelvir ser substrato do CYP3A4 e esta isoenzima ser inibida pelo ritonavir, da sua associação farmacológica irá resultar um efeito potenciador da eficácia terapêutica do primeiro uma vez que se irão atingir maiores concentrações de fármaco no organismo por um período de tempo mais longo (35,51).

O estudo que conduziu à autorização de utilização em emergência por parte da FDA teve como designação EPIC-HR e consistiu num estudo aleatorizado (1:1), duplo cego e controlado por placebo de fase II/III (51). Neste estudo, foram aleatoriamente

selecionados participantes para receberem uma dose de 300mg nirmatrelvir/100mg ritonavir de 12h/12h durante 5 dias, e de igual modo, participantes para receberem o placebo com a mesma posologia (35,49). O objetivo primário do estudo foi determinar a eficácia do medicamento ao fim de 28 dias no que toca à proporção de participantes que foram internados ou faleceram. A análise final demonstrou que dos 697 indivíduos que receberam o tratamento com Paxlovid®, 0,72% foram hospitalizados ou faleceram enquanto que no grupo de 682 participantes que recebeu placebo, aproximadamente 6.53% foram hospitalizados ou faleceram, tendo sido alcançada uma significância estatística alta ( $p < 0,001$ ) (51,52). Assim, os resultados demonstraram uma redução de cerca 89% no risco de hospitalização ou morte no grupo de indivíduos que recebeu o tratamento com Paxlovid® num prazo de até 3 dias após o aparecimento dos sintomas em comparação com o grupo que recebeu o placebo (52). Outra análise feita dentro do mesmo estudo, demonstrou uma redução no risco de hospitalização ou morte de 88% para o grupo que foi tratado num período de até 5 dias após o aparecimento dos sintomas em comparação com o grupo que recebeu o placebo (51).

É importante realçar que neste estudo os participantes não tinham sido vacinados contra a COVID-19, nem tinham sido infetados anteriormente ao estudo (49).

Os resultados disponibilizados relativamente a este medicamento parecem bastante promissores e como tal pode ser uma excelente opção para reduzir as hospitalizações e principalmente o número de mortes por COVID-19. Existe uma evidência científica forte a favor do uso deste medicamento (36).

Como já referido anteriormente, o uso deste medicamento possui uma autorização de utilização na União Europeia por parte da EMA (41). No que concerne os EUA, o Paxlovid® possui uma autorização de utilização de emergência por parte da FDA. Não obstante a existência de algumas restrições, como por exemplo a inexistência de informação sobre a função renal e hepática dos doentes infetados, bem como a inexistência de informação sobre o risco de interação medicamentosa, a autoridade regulamentar americana aprovou recentemente a prescrição deste medicamento por parte dos farmacêuticos, uma vez que o início do tratamento tem necessariamente de ser realizado num período de até cinco dias após o início dos sintomas, promovendo

assim um acesso mais amplo e facilitado ao tratamento por parte dos doentes elegíveis (53).

### 5.1.3. Molnupiravir (Lagevrio®)

O molnupiravir é um pro-fármaco administrado por via oral que é metabolizado num análogo de ribonucleosido, N-hidroxicitidina (NHC). Ao distribuir-se no organismo, o NHC irá ser fosforilado por cinases do hospedeiro originando NHC trifosfato (54,55). Esta última molécula atua como substrato competitivo, substituindo as moléculas de citidina trifosfato ou uridina trifosfato incorporadas pela RdRp. Ao utilizar-se esta cadeia contendo NHC trifosfato como cadeia modelo, poderá ser incorporada uma guanina ou uma adenina nas novas cadeias formando várias cadeias de ARN mutadas (55). Para além da NHC conseguir ser incorporada nas cadeias de ARN é também capaz de formar ligações estáveis com a adenina e a citosina conseguindo escapar à atividade de *proofreading* pela RdRp (55).

De o intuito de avaliar a eficácia e segurança do molnupiravir foi conduzido o estudo MOVE-OUT que consiste num ensaio clínico de fase III, duplo cego, aleatorizado e controlado por placebo realizado em doentes não hospitalizados (56). O ensaio contou com a participação de 1433 participantes que foram distribuídos em dois grupos. O grupo de intervenção contou com a participação de 716 participantes que receberam 800 mg de molnupiravir duas vezes ao dia durante cinco dias, já o grupo de controlo contou com a participação de 717 participantes que recebeu placebo na mesma posologia que o grupo de intervenção. É de realçar que os participantes não foram vacinados com a vacina para a COVID-19 e foram submetidos ao tratamento dentro de cinco dias após o início dos sintomas. O objetivo primário do estudo no que toca à eficácia foi avaliar a incidência de hospitalizações ou morte no 29º dia por qualquer que fosse a causa, já no que respeita à segurança, pretendeu-se avaliar a incidência de efeitos adversos. Os dados do estudo demonstraram um benefício do molnupiravir, uma vez que o grupo de intervenção apresentou uma percentagem de hospitalização ou morte ao 29º dia de 6,8%, enquanto que no grupo de controlo a percentagem foi de 9,7% (Risco Relativo = 0,70). Foi reportada uma morte no grupo de intervenção e nove no grupo de controlo. No que toca à notificação de efeitos adversos, o grupo de

intervenção apresentou 30,4% destes efeitos e o grupo de controlo 33,0%. Este estudo demonstrou que o molnupiravir é eficaz no tratamento da COVID-19 em doentes não hospitalizados quando tratados nos primeiros cinco dias após o início dos sintomas sem evidência de problemas significativos de segurança (56).

Após ter avaliado dados pré-clínicos, clínicos e ainda aspetos relativos à qualidade fornecidos pelo fabricante, a EMA considerou que o molnupiravir pode exercer um efeito benéfico a nível clínico no tratamento de doentes com COVID-19 com risco de progressão para doença severa sem necessidade de suplementação de oxigénio (57). O Lagevrio, nome comercial do medicamento que tem como substância ativa o molnupiravir, apesar de ainda não apresentar uma autorização de introdução no mercado aceite, possui uma nota de recomendação de utilização por parte da EMA, emitida no dia 19 de novembro de 2021 (58). Já nos EUA, este medicamento possui uma autorização de utilização em emergência emitida pela FDA (59).

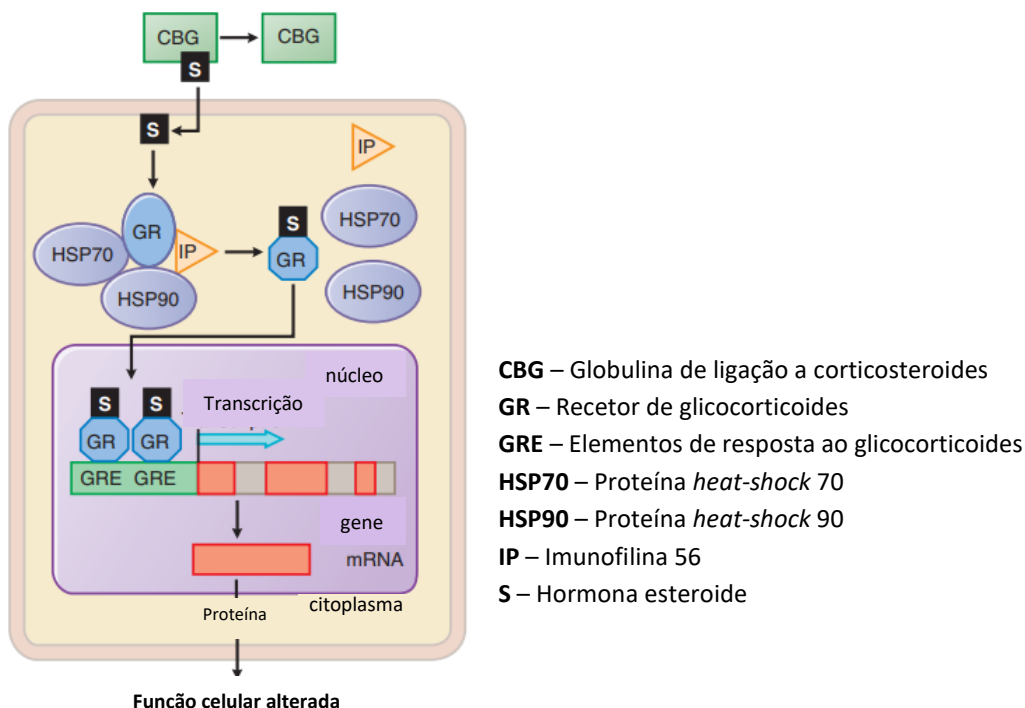
## 5.2. Corticosteroides

A infeção pelo SARS-CoV-2 pode estar associada a lesão pulmonar havendo a possibilidade de evoluir para uma hiperinflamação. O papel dos glicocorticoides, neste caso a dexametasona, é aliviar o processo inflamatório de modo a impedir uma falência respiratória que pode culminar em morte.

### 5.2.1. Dexametasona

A dexametasona é um glicocorticoide de longa duração de ação com uma potência anti-inflamatória cerca de 30 vezes superior à hidrocortisona. Este fármaco pode atuar por uma via genómica ou não genómica. A via genómica consiste na ligação do glicocorticoide ao recetor dos glicocorticoides (GR), formando um complexo em conjunto com as proteínas *heat-shock* (proteínas estabilizadoras que se irão dissociar antes da entrada no núcleo) (HSP70 e HSP90) [Figura 5.2]. Este complexo irá migrar para o núcleo onde se irá ligar reversivelmente a regiões específicas do ADN, promovendo deste modo uma estimulação ou supressão da transcrição de vários genes. Ao suprimir a transcrição de fatores nucleares e de fatores reguladores, a síntese de diversas citocinas pró-inflamatórias será reduzida. Por outro lado, a estimulação (transativação)

de fatores de transcrição, onde se inclui os elementos de resposta a glicocorticoides (GREs), pode levar à síntese de citocinas anti-inflamatórias (60,61).



**Figura 5.2** - Mecanismo de ação dos glicocorticoides (S) pela via genômica. Adaptado de (61).

Quanto às vias não genômicas, os glicocorticoides em altas doses podem ligar-se aos recetores de glicocorticoides presentes nas membranas dos linfócitos T, comprometendo a resposta imune destas células. Ao atuar por vias genômicas ou não genômicas, os glicocorticoides irão promover a atenuação da inflamação e a supressão do sistema imune (60).

Um estudo clínico, designado por RECOVERY, teve como objetivo compreender o papel de vários fármacos na prevenção da mortalidade em doentes com COVID-19, de entre os quais se destaca a dexametasona (62). O estudo foi aberto, controlado e em que os participantes foram designados aleatoriamente dentro de uma população de doentes hospitalizados por COVID-19 para receberem 6 mg de dexametasona diários durante 10 dias por via oral ou intravenosa, ou para receberem apenas os cuidados de saúde habituais (62). O objetivo primário consistiu em avaliar a taxa de mortalidade ao fim de 28 dias após o início do estudo (62). Os grupos foram distribuídos numa

proporção de 1:2 [intervenção vs. controlo]. Foram selecionados 2104 participantes que receberam dexametasona, dos quais 482 (22,9%) acabaram por falecer num período de 28 dias (62). Quanto ao grupo que recebeu os cuidados de saúde habituais, faleceram 1110 (25,7%) participantes de um total de 4321 dentro do mesmo período ( $p < 0,001$ ) (62). De uma forma mais pormenorizada, as diferenças de mortalidade entre os grupos variaram de acordo com o tipo de suporte respiratório que os doentes estavam a receber na altura em que foram distribuídos aleatoriamente por cada grupo (Tabela 5-1), assim pode-se considerar a existência de subgrupos dentro de cada grupo de acordo com a gravidade da doença.

**Tabela 5-1** - Percentagem de mortalidade entre o grupo a receber dexametasona e o grupo a receber cuidados de saúde habituais para os diferentes tipos de suporte respiratório (62).

Tipo de suporte respiratório	Percentagem de mortalidade por grupo (%)	
	Dexametasona	Cuidados de saúde habituais
Sem suporte	17,8%	14,0%
Com oxigénio suplementar	23,3%	26,2%
Ventilação mecânica invasiva	29,3%	41,4%

De acordo com os dados apresentados na tabela 5-1 é então possível concluir que a dexametasona pode ter um papel importante na redução da mortalidade em casos severos de COVID-19, principalmente naqueles cuja atividade pulmonar foi mais afetada. O RECOVERY foi fundamental para perceber o papel da dexametasona e para ajudar entidades como a OMS a recomendar o uso de dexametasona em doentes com COVID-19 severa ou crítica e a não recomendar para formas ligeiras a moderadas (63).

A nível da União Europeia, a EMA recomendou o uso de dexametasona em pessoas com mais de 12 anos que requeressem suplementação com oxigénio (64).

### 5.3. Anticorpos Monoclonais

A origem do estudo em torno dos anticorpos monoclonais (MABs) teve início quando em 1975 foi apresentada a tecnologia de hibridoma de murino por Köhler e Milstein. Atualmente mais de 75 MABs ou derivados destes já são utilizados com diversas indicações terapêuticas e é uma área que tem sido cada vez mais desenvolvida com o passar dos anos (65).

Estes fármacos desenvolvidos através de biotecnologia possuem grandes vantagens em comparação aos “químicos” convencionais como é exemplo o facto de serem geralmente bem tolerados, uma vez que os anticorpos possuem uma elevada seletividade e, portanto, evita-se uma exposição desnecessária a órgãos que não constituem o alvo terapêutico, diminuindo assim a probabilidade de ocorrência de reações adversas ao medicamento (65).

#### 5.3.1. Tocilizumab (RoActemra®)

O Tocilizumab é um anticorpo monoclonal IgG1 humanizado com indicação terapêutica para a artrite reumatoide (66).

Tal como já referido anteriormente, a principal causa de morte pela COVID-19 deve-se a uma hiperinflamação que pode resultar numa falência respiratória. Durante o processo inflamatório, existem diversas moléculas que são consideradas pró-inflamatórias, de entre as quais a interleucina 6 (IL-6).

Farmacologicamente, este fármaco exerce a sua atividade ao ligar-se ao recetor de IL-6 interferindo deste modo com a ligação desta citocina ao alvo e atenuando o processo inflamatório daí decorrente (Figura 5.3) (66).

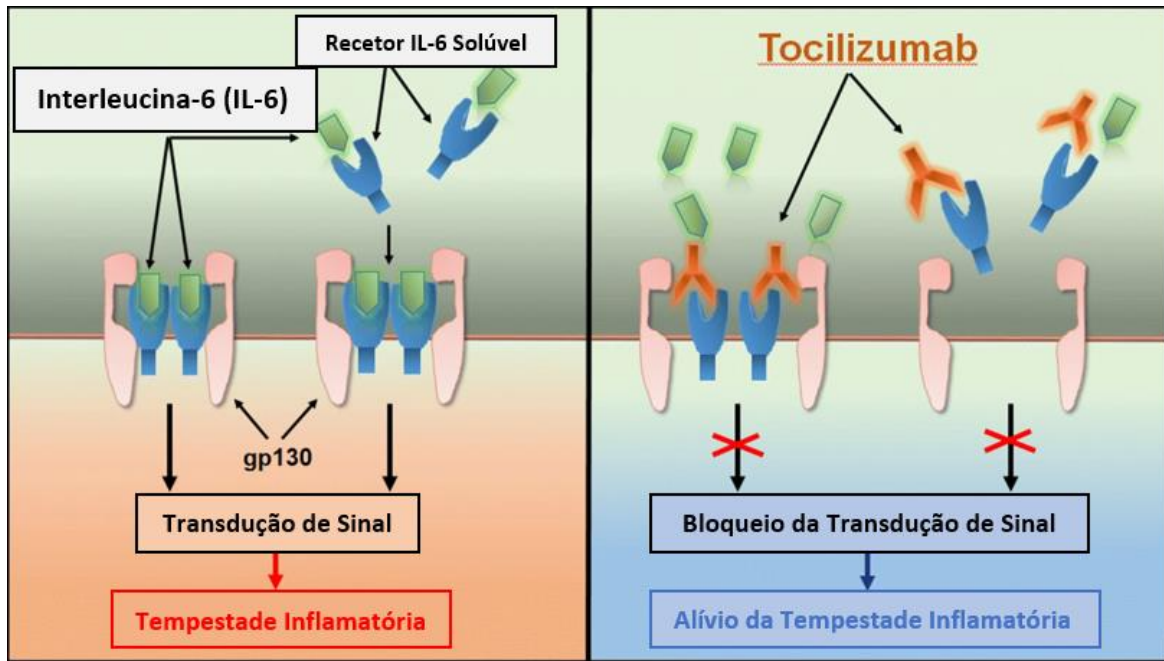


Figura 5.3 - Mecanismo de ação do Tocilizumab. Adaptado de (66).

Como já mencionado, o estudo RECOVERY teve como objetivo avaliar o papel de vários fármacos na prevenção da mortalidade por COVID-19, sendo que para além da dexametasona, outro dos fármacos analisados foi o tocilizumab.

O estudo com este fármaco foi feito com o objetivo de perceber quais os seus efeitos, ao fim de 28 dias após o início do ensaio, a nível de mortalidade em doentes hospitalizados que apresentavam em conjunto hipoxia (saturação de oxigénio <92%) e inflamação sistémica (proteína C reativa  $\geq 75\text{mg/L}$ ) (67). Numa proporção de 1:1 foram distribuídos em dois grupos, num dos grupos os doentes foram tratados com tocilizumab com uma dose por via intravenosa de 400mg - 800mg (dependente do peso) podendo receber uma segunda dose num período de 24 a 48h após a primeira, caso não existissem melhorias; e o outro grupo recebeu apenas os cuidados de saúde habituais. Assim, 2022 doentes receberam tratamento com tocilizumab dos quais 621 (31%) faleceram no período dos 28 dias, e no grupo de controlo faleceram 729 (35%) doentes de um total de 2094 no mesmo período ( $p=0,0028$ ) (67). Os grupos foram divididos em vários subgrupos que se definiam por características como: sexo, idade, etnia, suporte respiratório, dias desde o início dos sintomas e uso de corticosteroides. Os resultados obtidos foram consistentes dentro de todos os subgrupos de doentes, incluindo os que



tinham uma terapêutica concomitante com corticosteroides (67). Os dados demonstraram que doentes sob tratamento com tocilizumab tiveram uma maior probabilidade de terem alta hospitalar num período de 28 dias a comparar com o grupo que apenas recebeu os cuidados de saúde habituais (57% vs. 50%;  $p < 0,0001$ ) (67). Por último, doentes tratados com tocilizumab que inicialmente não se encontravam sob ventilação mecânica tinham uma menor probabilidade de necessitar do recurso a suporte respiratório ou de morrer, comparativamente com o grupo de controlo (35% vs. 42%;  $p < 0,0001$ ) (67).

Assim sendo, o RECOVERY permitiu perceber que o tocilizumab contribuiu para a sobrevivência e melhoria de outros aspetos clínicos, como o tempo necessário para ter alta, a necessidade de ventilação mecânica em doentes que sofriam de hipoxia e de inflamação sistémica. Esses benefícios foram observados em todos os tipos de doentes, independentemente do suporte respiratório que receberam, constituindo um benefício terapêutico adicional ao já alcançado com o tratamento com corticosteroides (67).

Atualmente, o uso de tocilizumab como tratamento da COVID-19 é autorizado pela EMA em toda a União Europeia (41).

#### 5.4. Antiparasitários

Os antiparasitários são fármacos desenvolvidos para o tratamento de infeções por parasitas. Estes parasitas que infetam humanos podem ser classificados como helmintas (nemátodos, tremátodos e céstodos) que possuem diferenças a níveis biológicos como: ciclo de vida, morfologia, fisiologia, local onde permanecem no hospedeiro e mesmo na suscetibilidade a medicamentos (68). Para além dos helmintas, existem outros tipos de parasitas que podem afetar os humanos, como por exemplo protozoários que podem utilizar artrópodes como veículos de infeção. Os parasitas *Plasmodium* são responsáveis pela doença que é mundialmente conhecida por malária e, que segundo a OMS, foi responsável por cerca de 630 000 mortes em 2020 (69).

#### 5.4.1. Ivermectina

A ivermectina é um antiparasitário e é um análogo semissintético da abamectina, um inseticida. Atualmente, a ivermectina é usada para o controlo e tratamento de infeções causadas por nemátodos e artrópodes em animais domésticos e gado. O seu mecanismo de ação como antiparasitário consiste em induzir uma paralisia da musculatura dos parasitas, imobilizando-os (68).

A ivermectina foi um dos fármacos com potencial para a prevenção e tratamento da infeção por COVID-19, tendo sido um dos mais abordados pela comunicação social em Portugal, por ter sido aconselhado por alguns clínicos (70).

O mecanismo de ação proposto para a ação antiviral da ivermectina é a inibição da formação do heterodímero de importinas alfa/beta1 das células do hospedeiro essenciais para o transporte intranuclear. O SARS-CoV-2, por se tratar de um vírus de cadeia simples de ARN não sofre replicação no núcleo, no entanto estudos indicam que existe uma migração de certas proteínas virais para o interior do núcleo sendo este um fenómeno que pode ter um papel importante na replicação viral por contribuir para a diminuição da resposta antiviral das células do hospedeiro (71). Alguns dados científicos apontam também para uma interferência na ligação da proteína spike à ACE2 do hospedeiro por parte da ivermectina (72).

Para se perceber se a ivermectina realmente tinha potencial para tratar a COVID-19, vários ensaios clínicos foram conduzidos em diversos países. O IVERCOR-COVID19 foi um destes ensaios, tendo sido realizado na Argentina em doentes não hospitalizados (73). O ensaio foi duplo cego, controlado por placebo, aleatorizado e contou com a participação de 250 doentes no grupo que recebeu ivermectina por via oral com uma dose ajustada ao peso no dia 1 e no dia 2 do estudo, com uma dose total máxima de 48 mg. O outro grupo recebeu placebo, em vez da ivermectina, e contou com a participação de 251 doentes. O objetivo primário do estudo foi verificar se a ivermectina podia prevenir hospitalizações por qualquer que fosse a causa, podendo assim estar ou não associada à COVID-19. Ao comparar ambos os grupos, constatou-se que no grupo que recebeu ivermectina, 5,6% dos doentes foram hospitalizados enquanto no grupo de placebo, 8,3% dos participantes necessitaram de hospitalização. A diferença não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,227$ ) pelo que este ensaio concluiu que não existia

benefício clínico comprovado da aplicação da ivermectina no tratamento da doença (73).

Noutro ensaio, levado a cabo no Egito e realizado em doentes hospitalizados com COVID-19 leve a moderada, foram administrados 12 mg diários de ivermectina durante 3 dias por via oral a cada participante do grupo de intervenção (n = 82) enquanto o outro grupo recebeu apenas cuidados de saúde habituais (n = 82) (74). O ensaio foi aberto, aleatorizado e teve como objetivos primários comparar a mortalidade em 28 dias por qualquer que fosse a causa entre ambos os grupos, o tempo de hospitalização e a necessidade de recorrer a ventilação mecânica. Os resultados demonstraram que durante os 28 dias morreram 3 pessoas do grupo sujeito a tratamento com ivermectina, e 4 do grupo que recebeu os cuidados de saúde habituais, não existindo significância estatística ( $p = 1,00$ ) (74). Quanto ao tempo de hospitalização, o grupo que recebeu ivermectina apresentou uma média de cerca de nove dias e o grupo controlo apresentou uma média de onze dias. Mais uma vez não existiu significância estatística ( $p = 0,085$ ) para as diferenças encontradas. Por último, no que respeita à necessidade de se recorrer a ventilação mecânica, verificou-se que não existiram diferenças entre grupos uma vez que, em cada um dos grupos considerados, três pessoas tiveram necessidade de ser sujeitas a este tipo de suplementação de oxigénio. Assim, mais uma vez, e à semelhança do que se verificou noutros estudos, concluiu-se que o uso de ivermectina no tratamento da infeção causada pelo SARS-CoV-2 não se traduzia em benefício clínico (74).

Atualmente, a ivermectina não está aprovada por parte da FDA para nenhum tratamento de qualquer infeção viral e por isso também não é recomendado o seu uso em doentes com COVID-19, à exceção da sua utilização em ensaios clínicos (36). A evidência científica que faz com que a ivermectina não seja aconselhada é considerada forte (36). A nível europeu, a EMA defende que as últimas evidências científicas não suportam o uso de ivermectina quer seja para tratamento ou profilaxia da COVID-19 e que a recomendação do seu uso não deve ser aconselhada à exceção de ensaios clínicos bem desenhados (75).

#### 5.4.2. Hidroxicloroquina

A hidroxicloroquina é um fármaco que foi desenvolvido em 1946 e é um análogo da cloroquina. Este fármaco é usado para o tratamento de doenças como o lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide e a malária, entre outras (36,76).

Para perceber como este fármaco atua no tratamento da malária é necessário entender também um pouco do ciclo de vida do parasita. O *Plasmodium* é um parasita cujo ciclo de vida é constituído por uma fase de desenvolvimento no humano que consiste na invasão e destruição dos eritrócitos, utilizando-os como fonte alimentar (77). Nos eritrócitos, o *Plasmodium* irá ingerir e degradar a hemoglobina em vacúolos digestivos que irão decompor a hemoglobina em aminoácidos essenciais para o normal desenvolvimento do parasita e em ferriprotoporfirina IX (FPIX). Acontece que esta última molécula, a FPIX, é extremamente tóxica para o parasita e é necessário que seja convertida num composto insolúvel e não tóxico para o parasita, a hemozoína, pela heme polimerase do *Plasmodium*. O mecanismo de ação da hidroxicloroquina, tal como o da cloroquina, consiste em acumular-se nos vacúolos digestivos do *Plasmodium* por o interior destes vacúolos possuir um pH ácido, ou seja, a molécula será protonada e não será capaz de atravessar a membrana para o exterior e irá formar um complexo com a FPIX, impedindo assim que ocorra o processo de destoxificação por parte das heme polimerases do parasita (78). A acumulação deste composto tóxico no interior do parasita irá contribuir para a sua lise e auxiliar na terapêutica da malária.

Este fármaco também foi bastante abordado pela comunicação social no início da pandemia e a sua administração foi inclusive encorajada por líderes de diferentes países (79,80).

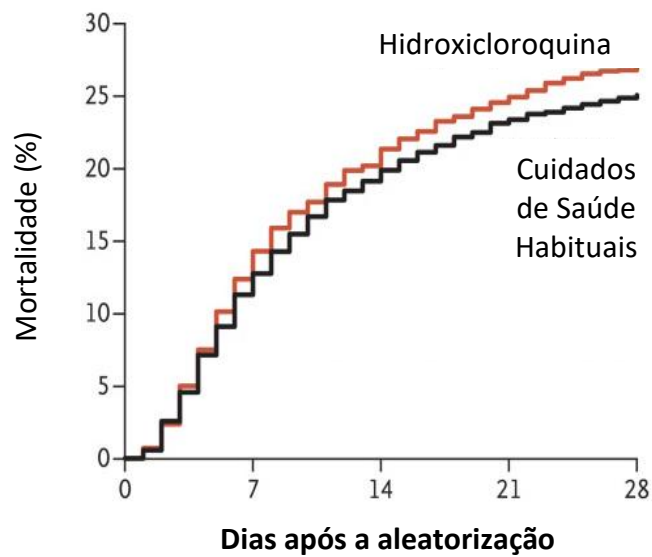
A hidroxicloroquina demonstrou-se útil na inibição do SARS-CoV-2 *in vitro* (81). Isto fez com que este fármaco integrasse, na fase inicial da pandemia, a lista de fármacos com potencial ação antiviral na terapêutica contra a COVID-19.

O mecanismo de ação antiviral da hidroxicloroquina é um pouco incerto, mas parece que o seu efeito se relaciona com a capacidade que a molécula apresenta em induzir alterações ao nível da estrutura dos endossomas/lisossomas (82). Os endossomas são organelos intracelulares com um pH ácido e que cuja maturação depende do nível de H<sup>+</sup> no seu interior (83). Para avançarem no seu estado de

desenvolvimento, o pH tem de diminuir e a interação com uma base fraca (hidroxicloroquina/cloroquina) irá proporcionar precisamente o contrário (82). Como a entrada do vírus nas células depende dos endossomas e o desenvolvimento destes ficaria comprometido, também se comprometeria a entrada e replicação do SARS-CoV-2 em células hospedeiras. Quanto à resposta imunomodulatória, parece que a hidroxicloroquina pode diminuir a expressão de citocinas pró-inflamatórias por parte de mastócitos como a IL-1 e IL-6 (84).

Para compreender o papel do fármaco, vários ensaios clínicos foram realizados. Um destes ensaios foi o WHO SOLIDARITY, já abordado anteriormente por ter sido um dos ensaios clínicos feitos para o Remdesivir (47). Neste estudo, feito em doentes hospitalizados com COVID-19, 947 participantes receberam cuidados de saúde habituais e uma administração oral inicial de 800 mg de hidroxicloroquina seguida de mais 800 mg passadas 6h, sendo esta última administração seguida de uma dose de manutenção de 400 mg passadas 6h. A dose de manutenção é feita duas vezes ao dia até ao 10º dia a contar desde o início do tratamento. O grupo de controlo, recebeu apenas os cuidados de saúde habituais e contou com a participação de 906 participantes (47,85). O objetivo primário do ensaio foi comparar a mortalidade em meio hospitalar. Os dados demonstraram que não existiu benefício por parte da hidroxicloroquina na redução da morte em meio hospitalar, uma vez que no grupo de intervenção faleceram 10,2% dos participantes e no grupo de controlo faleceram 8,9%.

Noutro ensaio clínico também já abordado anteriormente, o RECOVERY, tentou perceber-se se existiriam benefícios clínicos da hidroxicloroquina na redução da mortalidade em doentes hospitalizados com COVID-19 ao 28º dia (39). Para se conseguir alcançar este objetivo, contou-se com a participação de 1561 doentes no grupo ao qual foi administrada uma quantidade de fármaco igual e com a mesma posologia do ensaio abordado anteriormente, o WHO SOLIDARITY. O grupo de controlo contou com a participação de 3155 doentes que receberam apenas cuidados de saúde habituais. Os dados obtidos no final do estudo indicaram que 27% dos participantes do grupo da hidroxicloroquina e 25% no grupo de controlo faleceram (39). Na figura 5.4 pode-se observar esta diferença representada em forma de gráfico.



**Figura 5.4** - Comparação entre a percentagem de mortalidade do grupo de doentes submetidos a tratamento com hidroxycloroquina e no grupo de controlo. Adaptado de (39).

Por último, foi também realizado um ensaio clínico em doentes com COVID-19 moderada (86). Este ensaio foi multicêntrico, aberto, aleatorizado e contou com a participação de 136 doentes no grupo que recebeu 800 mg de hidroxycloroquina no dia 1, seguida de 400 mg diários por mais seis dias. O grupo de controlo recebeu apenas cuidados de saúde habituais e contou com a participação de 157 doentes. Em ambos os grupos, o diagnóstico de COVID-19 tinha sido recente (<5 dias). Os objetivos do estudo foram avaliar o papel do fármaco na redução da carga viral ao fim de sete dias através de colheitas nasofaríngeas feitas com zaragatoa, na progressão da doença até ao 28º dia e no tempo necessário para o término dos sintomas. Os resultados demonstraram que houve uma redução da carga viral de 1,41 log cópias/mL ao fim de três dias em ambos os grupos a comparar com a carga viral média no início do ensaio, e uma redução de 3,37 e 3,44 log cópias/mL ao fim de 7 dias no grupo controlo e no grupo de intervenção, respetivamente (86). Quanto à progressão da doença durante os 28 dias, também não existiu uma diferença significativa entre ambos os grupos, pois o risco de hospitalização foi de 7,1% no grupo de controlo e 5,9% no grupo de intervenção. Por último, o tempo necessário para o término dos sintomas foi de 12 dias para o grupo controlo e 10 dias para o grupo de intervenção ( $p = 0,38$ ).

Avaliando ambos os estudos aqui abordados e outros dados adicionais, percebe-se que o uso da hidroxicloroquina não contribuiu para a redução da mortalidade por COVID-19 e não há benefício clínico por parte deste fármaco para ser usado como terapêutica contra a doença. A evidência científica existente faz com que existam recomendações fortes contra o uso deste fármaco em doentes hospitalizados e não hospitalizados (36).

### 5.5. Hemoderivados

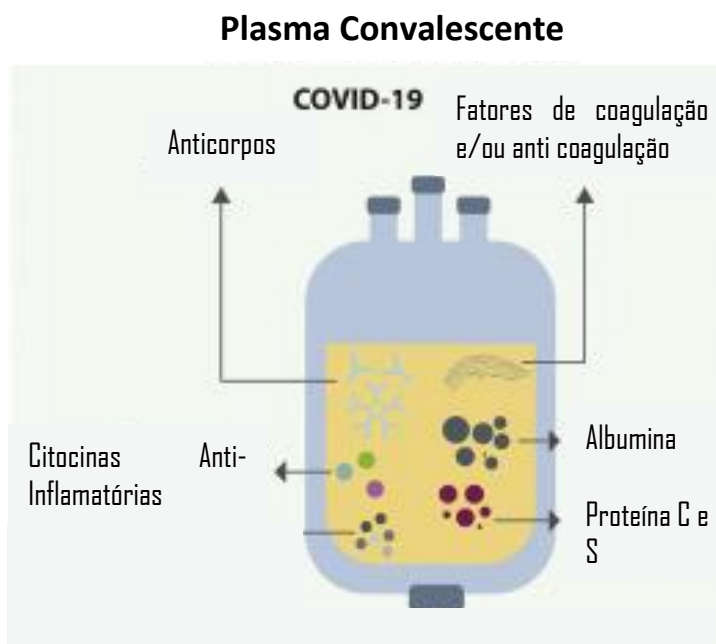
Desde a antiguidade que é atribuída uma importância misteriosa ao sangue por ser um fluido corporal que não é visível com uma regularidade dita “normal”, ainda por cima em sociedades que pouco ou nada entendiam de biologia como atualmente se entende. É um fluido que é associado a feridas, a abortos, à menstruação, ao nascimento e por isso, sempre foi muito associado à vida e à morte (87). Com a observação, os povos antigos idealizaram teorias nas quais o sangue desempenhava um papel crucial na saúde e na doença das pessoas. Uma delas é a conhecida teoria dos humores que foi criada por Hipócrates e em que este acreditava que a doença surgia de um desequilíbrio entre quatro humores naturais, o sangue, a bÍlis negra, a bÍlis amarela e a fleuma. Esta teoria defendia que o caminho para a cura podia passar, por exemplo, pela adição ou pela retirada de sangue das pessoas doentes (88).

Curiosamente, a primeira transfusão sanguínea registada foi realizada no final do século XV e foi feita no Papa Inocêncio VIII (89). Segundo consta, o Papa estava doente e um médico afirmou que poderia curá-lo ao fazer uma troca do sangue do Papa pelo sangue de três crianças de 10 anos saudáveis. O que aconteceu foi que o Papa não melhorou e acabou por morrer tal como as três crianças.

Muitos podem ser os benefícios de hemoderivados como por exemplo, a reposição de sangue a pessoas que sofreram grandes hemorragias, a administração de concentrado de plaquetas a pessoas que sofram de trombocitopenia grave ou com disfunções plaquetares e também a administração de soro com anticorpos de pessoas que estiveram doentes por uma doença causada por um certo patógeno a indivíduos que sofrem de uma forma grave da mesma doença (90).

### 5.5.1. Soro Convalescente - COVID-19

O soro convalescente é um medicamento biológico obtido a partir do plasma de doadores de doentes que recuperaram da COVID-19 e que é composto por uma mistura de compostos orgânicos e de sais inorgânicos, mais especificamente, albumina, fatores de coagulação e fatores anti-trombóticos, citocinas anti-inflamatórias, anticorpos, etc (91). A figura 5.5 exemplifica alguns destes constituintes.



**Figura 5.5** - Exemplificação de constituintes do Plasma Convalescente. Adaptado de (91).

Estes anticorpos atuam por neutralização do SARS-CoV-2 de forma a garantir uma imunidade passiva (92). A neutralização ocorre por ligação dos anticorpos a uma região da proteína S dos vírus impedindo assim a sua entrada nas células hospedeiras e a sua consequente replicação. (93) Alguns anticorpos também podem contribuir para a inibição da cascata de ativação do complemento, impedindo uma inflamação sistêmica e migração de neutrófilos para os pulmões que causam lesão tecidual, tal como podem ligar-se a citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 $\beta$  e TNF $\alpha$  (94,95). Na figura 5.6 pode-se observar alguns dos mecanismos de ação dos anticorpos tanto a um nível de efeito antiviral como a um nível imunomodulador.



**Efeitos Antivirais**



**Efeitos imunomoduladores**



**Figura 5.6** - Exemplificação de efeitos antivirais e de efeitos imunomoduladores do plasma convalescente. Adaptado de (91).

Tal como nos fármacos já abordados anteriormente, vários ensaios clínicos foram desenhados para se compreender melhor o papel deste medicamento no que diz respeito à gestão da COVID-19. Um destes ensaios clínicos foi o CONCOR-1, um ensaio multinacional realizado no Canadá, Estados Unidos da América e Brasil efetuado em participantes hospitalizados com COVID-19 (96). Este ensaio foi aberto e aleatório numa proporção de 2:1 e contou com a participação de 614 doentes no grupo de intervenção que receberam 500 mL de plasma convalescente, enquanto o grupo de controlo contou com a participação de 307 participantes que receberam apenas cuidados de saúde habituais. O objetivo primário do estudo foi comparar o número de intubações ou mortes no 30º dia após o início do estudo em doentes a receber oxigénio doze dias após o início dos sintomas respiratórios. Os dados demonstraram que 32,4% dos participantes no grupo de intervenção foram intubados ou faleceram no 30º dia em contraposição com uma percentagem de 28% no grupo de controlo. Assim, este estudo demonstrou que não existe benefício na administração de plasma convalescente neste tipo de doentes hospitalizados. A informação existente até ao momento evidencia alguns estudos com resultados positivos para o uso de plasma convalescente em doentes com COVID-19, estejam estes hospitalizados ou não, mas também demonstra imensos estudos com resultados negativos. Estes resultados devem-se provavelmente

às diferenças existentes entre as amostras de participantes nos estudos (36). Atualmente, não é recomendado o uso de plasma convalescente em doentes com COVID-19 imunocompetentes estejam estes hospitalizados ou não. Apenas é permitido o uso destes medicamentos em doentes imunocomprometidos apesar da escassa evidência científica que existe nesta amostra da população. Para além dos resultados negativos que foram demonstrados em vários ensaios clínicos, outra razão para não se recomendar o uso de plasma convalescente em doentes com COVID-19 reside no facto da maioria do plasma que existe, pelo menos nos EUA, ter sido recolhido antes da emergência da variante Ómicron o que faz com que atualmente a atividade do medicamento seja reduzida ou mesmo nula (36).

## 6. Vacinas

Desde cedo que se concluiu que a maneira mais eficaz de ganhar a guerra contra o vírus seria através da prevenção, tendo vários países optado por medidas que visavam impedir a transmissão viral de modo a conseguir diminuir as taxas de mortalidade associadas à doença.

Ao longo do último século, as vacinas demonstraram a sua eficácia na erradicação de doenças mortais disseminadas pelo mundo, prova disso é a erradicação quase completa da pólio, uma doença altamente infecciosa de origem viral que se transmite de pessoa para pessoa ou pela ingestão de água ou comida contaminada e afeta o sistema nervoso central podendo levar a paralisia (97). No dia 25 de agosto de 2020, a OMS anunciou que cinco das suas seis regiões estão livres da pólio, isto é, cerca de 90% da população mundial. Apenas no Paquistão e no Afeganistão se continua a observar transmissão do poliovírus (98).

A vacina contra a COVID-19 foi desde o início da pandemia o objetivo que se queria alcançar de modo a garantir a saúde da população, para diminuir a quantidade de mortes que se registavam diariamente por todo o mundo. Para surpresa de muitos e ao contrário do que se esperava, ao fim de um ano de pandemia começaram a ser anunciadas as primeiras vacinas anti-COVID-19, uma vez que em condições normais, um processo de investigação e desenvolvimento de vacinas demora, em média, cerca de oito a dez anos (3). As razões que levaram a esta rapidez no desenvolvimento das vacinas foi o investimento de recursos por parte das diferentes farmacêuticas que desenvolveram as vacinas e de entidades externas que as apoiaram com outros recursos e fundos.

As vacinas escolhidas para serem abordadas neste capítulo serão as que são atualmente administradas em Portugal: a Comirnaty®, a Spikevax®, a Vaxzevria® e a JCOVDEN® (99). Para além destas existem outras como a CoronaVac® – desenvolvida pela biofarmacêutica chinesa Sinovac Biotech que utiliza um SARS-CoV-2 inativado e não replicante, a Sputnik V® – desenvolvida pelo Centro Nacional de Pesquisa em Epidemiologia e Microbiologia Gamaleya da Rússia que utiliza como vetor viral um adenovírus (100,101). Como curiosidade, a Sputnik V® foi a primeira vacina registada

contra a COVID-19 (101). Por último, existe também a Nuvaxovid® - desenvolvida pela Novavax que é uma vacina à base de uma versão da proteína S que também foi aprovada para ser utilizada em Portugal de acordo com a norma nº 004/2022 da DGS (102,103).

Para uma vacina ser aprovada para uso na União Europeia tem de ser comprovado à EMA que a vacina apresenta altos níveis de padrões de segurança, eficácia e qualidade através de vários estudos detalhados. Como tal, a entidade que desenvolve a vacina tem de submeter à EMA dados de estudos de qualidade farmacêutica, estudos não clínicos e estudos clínicos (104). Os estudos de qualidade consistem no fornecimento de informação como: quais as substâncias ativas, a pureza e os excipientes, bem como a justificação de o porquê de os usarem. Têm de apresentar também informação de como é que a vacina é produzida, controlada e qual a melhor forma de a armazenar, bem como a sua estabilidade e prazo de validade. Os locais de produção das vacinas têm de ser previamente aprovados e certificados de forma a garantir que a qualidade de produção se mantém independentemente de qual seja o local e o fabricante tem de mostrar que os lotes produzidos apresentam a qualidade mínima necessária. Antes de serem testadas em humanos, as vacinas tal como qualquer outro medicamento tem de provar, através de testes não clínicos, que são seguras, além disso, nestes testes também é aferida a biodisponibilidade, a imunogenicidade, e o modo como atuam estes medicamentos em animais. Por último, existem os ensaios clínicos que visam a avaliação da segurança e eficácia das vacinas. Estes estudos devem ser autorizados e regulados pelas entidades responsáveis de cada país e por comités de ética, de acordo com as boas práticas clínicas. Caso algum dos aspetos avaliados nestes estudos considerados cruciais para aprovação da vacina não seja assegurado, a vacina não será aprovada.

### 6.1. Comirnaty® e Spikevax®

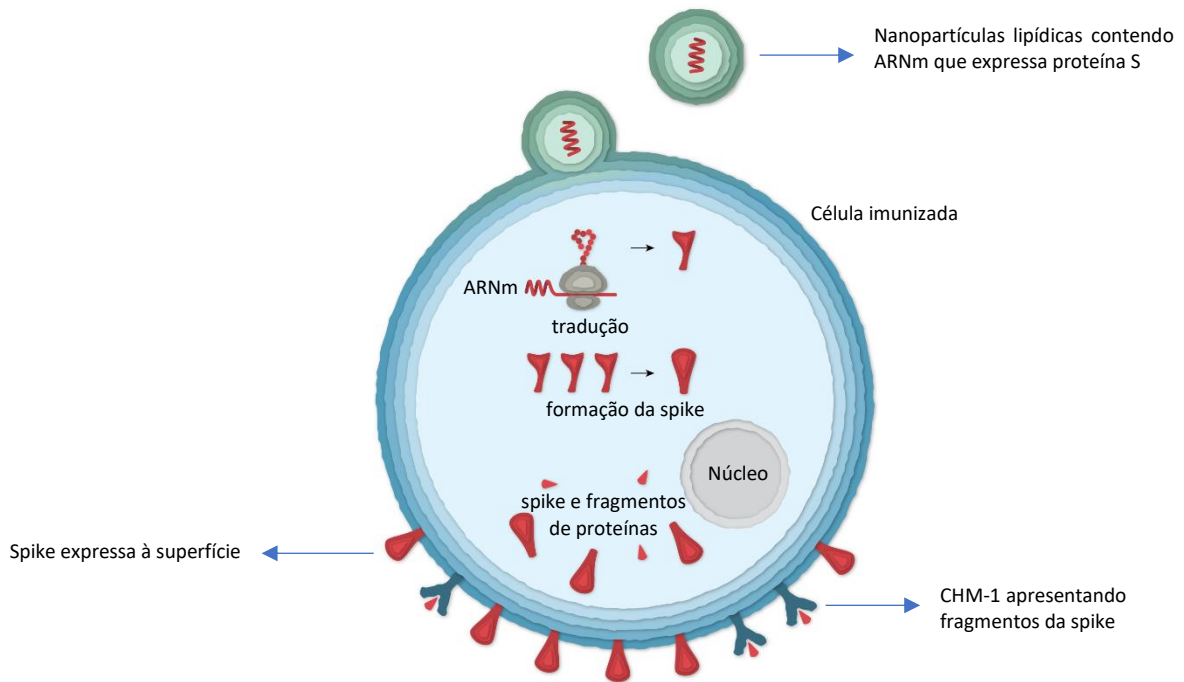
As primeiras vacinas a conseguirem uma autorização condicional de entrada no mercado foram a Comirnaty® e a Spikevax®, no dia 21 de dezembro de 2020 e no dia 6 de janeiro de 2021, respetivamente (105,106). A Comirnaty® foi desenvolvida pela empresa de biotecnologia alemã BioNTech em colaboração com a norte-americana Pfizer. Esta vacina, tal como a Spikevax® (nome que veio a substituir o antigo “Vacina

COVID-19 Moderna”), consiste na introdução de ARNm no organismo humano incorporado em nanopartículas lipídicas. As vacinas de ARNm, por não necessitarem que exista cultura de células ou fermentação de vírus, têm um potencial teórico de serem desenvolvidas mais rapidamente em comparação com outros tipos de vacinas. Assim, as vacinas de ARNm por terem a capacidade de serem rapidamente desenvolvidas, exigirem um custo de fabricação mais baixo e por apresentarem alta potência serão provavelmente grandes apostas para o desenvolvimento de futuras vacinas contra outro tipo de doenças (107).

#### 6.1.1. Mecanismo de Ação

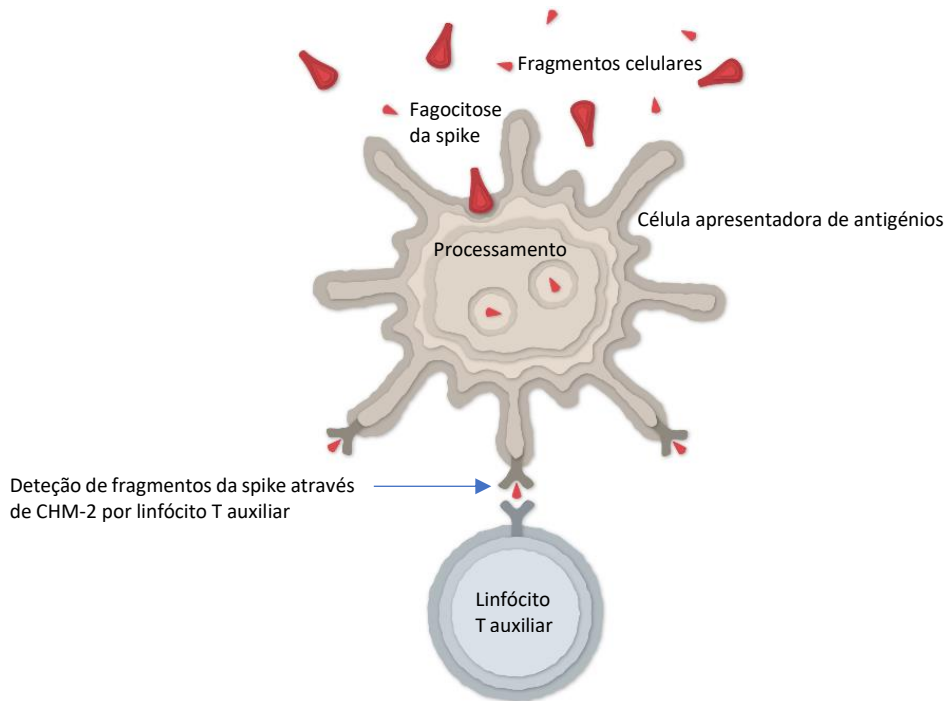
O ARNm que codifica para a proteína spike (S) do vírus é administrado por via intramuscular envolvido por nanopartículas lipídicas. Estas nanopartículas têm o papel de preservar a integridade do ARNm e impedir que este seja confundido com outros ARNm dentro do organismo humano. (3) Para além disso, têm um papel muito importante no que toca à promoção da entrada do ARNm para dentro das células através da fusão com a bicamada lipídica da membrana celular.

Após a entrada no citoplasma, o ARNm poderá ser traduzido pelos ribossomas, originando-se assim as proteínas S do vírus que migrarão para a superfície das células (Figura 6.1) (108).



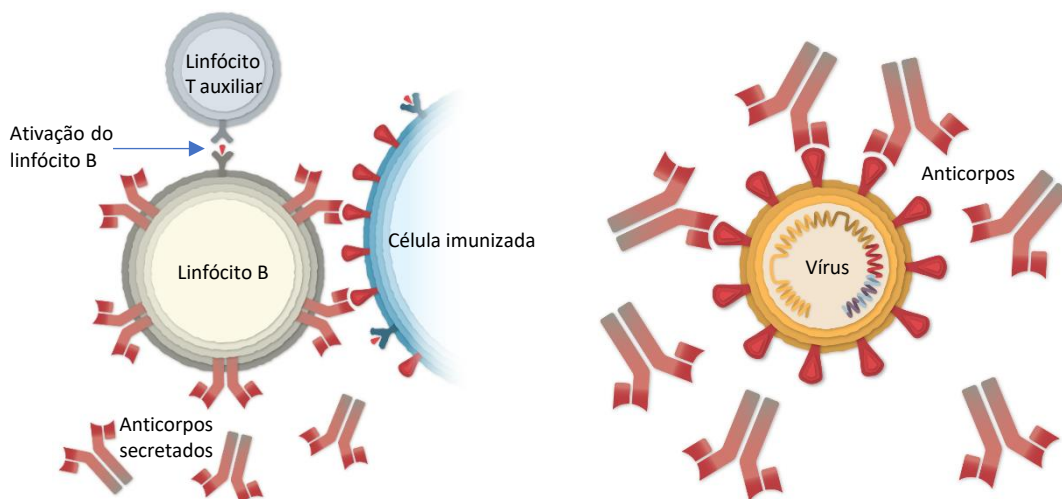
**Figura 6.1** - Processo de entrada das nanopartículas contendo ARN mensageiro (ARNm) que traduz a proteína spike, produção e expressão da proteína spike à superfície celular, bem como de fragmentos pelo Complexo major de histocompatibilidade 1 (CMH-1). Adaptado de (108).

Quando as células sofrem apoptose, fragmentos da spike irão ser libertados para o domínio extracelular onde podem ser fagocitados por células apresentadoras de antígenos, como macrófagos, haverá então um processamento destas moléculas no interior destas células para que estes fragmentos sejam apresentados à sua superfície celular pelo complexo major de histocompatibilidade 2 (CMH-2) de modo que consigam ser detetados por linfócitos T auxiliares (Figura 6.2).



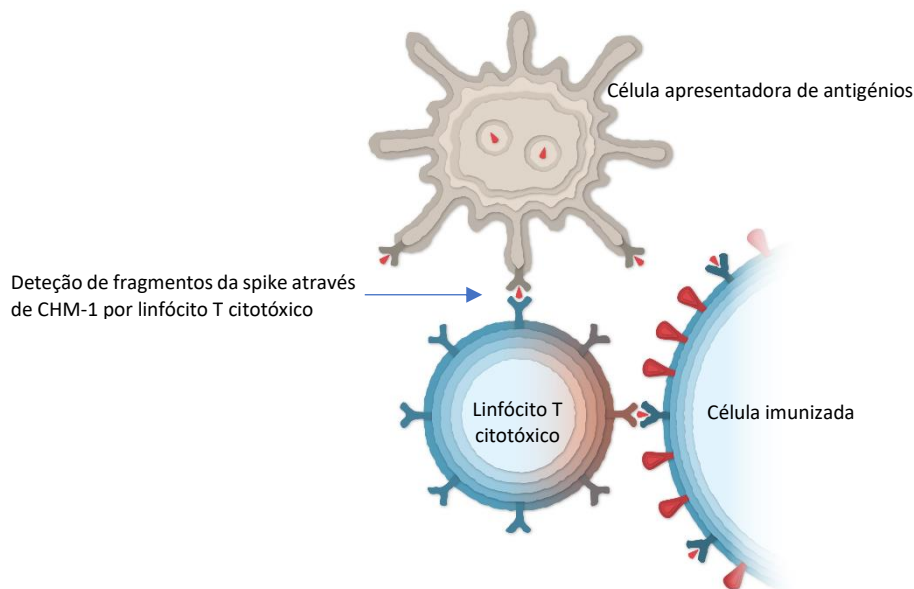
**Figura 6.2** - Fagocitose, processamento e detecção de fragmentos de proteína spike por linfócito T auxiliar através do complexo maior de histocompatibilidade 2 (CHM-2). Adaptado de (108).

Após detetarem estes fragmentos, os linfócitos T auxiliares ativarão linfócitos B promovendo um processo do desenvolvimento/maturação de plasmócitos que por sua vez irão secretar anticorpos que atuarão de forma a neutralizar partículas que expressem proteínas S à superfície (Figura 6.3) (108).



**Figura 6.3** - Ativação de linfócito B e secreção de anticorpos (esquerda), neutralização do coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-CoV-2) através da interação de anticorpos com a proteína spike (direita). Adaptado de (108).

Por último, as células apresentadoras de antígeno, tal como todas as células nucleadas, podem apresentar através de CMH-1 os fragmentos da spike aos linfócitos T citotóxicos conseguindo-se desta forma uma resposta dirigida a destruir células infetadas (Figura 6.4)



**Figura 6.4** - Ativação de linfócitos T citotóxicos através de complexo major de histocompatibilidade (CHM-1) expressa por células apresentadoras de antígeno e/ou por células imunizadas. Adaptado de (108).

Assim, é possível ativar a resposta humoral e celular a partir da administração da vacina conseguindo-se uma proteção mais prolongada devido à presença de linfócitos B e T de memória.

#### 6.1.2. Segurança

A segurança das vacinas é um tema muito abordado devido à celeridade com que foram desenvolvidas. É de extrema importância avaliar e tentar perceber quais os possíveis efeitos adversos que podem surgir após a administração das doses da vacina, sendo que a maioria dos efeitos são leves ou mínimos (3). Os efeitos adversos mais frequentes nos participantes dos ensaios clínicos entre os 18 e os 55 anos foram: dor no local de injeção (> 80%), fadiga (> 60%), cefaleias (> 40%), mialgia (> 30%), arrepios e artralgia (> 20%) para a Comirnaty® (109).



Quanto à vacina da Spikevax®, os efeitos adversos reportados com maior frequência foram dor no local de injeção (>90%), fadiga (>65%), cefaleias (>60%), mialgia (>60%), artralgia (>45%), arrepios (>45%), náuseas/vômitos (>20%), inchaço/sensibilidade axilar e febre (>15%), edema no local de injeção (>10%) e vermelhidão (10%) (110).

Ambas as vacinas podem gerar outros efeitos mais problemáticos como casos raros de paralisia facial periférica aguda e reações anafiláticas, ainda que a frequência seja desconhecida (109,110). A farmacovigilância de todas as vacinas contra a COVID-19 é de extrema importância uma vez que foram vacinas administradas em todo o mundo e podem surgir reações adversas problemáticas que não foram detetadas ou ocorreram com pouca frequência durante os ensaios clínicos, por utilizarem uma amostra com uma dimensão demasiado reduzida em comparação com a população alvo mundial. É importante que exista notificação destas reações para se conseguir avaliar a segurança de vacinas administradas mundialmente.

### 6.1.3. Eficácia Comirnaty®

Para se determinar a eficácia da vacina fez-se o estudo NCT04368728, um ensaio de Fase I/II/III multicêntrico, aleatorizado, multinacional, controlado por placebo e com ocultação do observador (111). No estudo participaram cerca de 44000 pessoas com uma idade igual ou superior a 16 anos que foram aleatorizadas numa proporção de 1:1 de forma a receber as duas doses da vacina em estudo ou duas doses de placebo. O objetivo primário do estudo consistiu em determinar a eficácia e segurança da vacina a ser estudada. Primeiramente, para uma parte do estudo, reuniram-se participantes que não apresentaram evidência de terem sofrido infeção por SARS-CoV-2 e que puderam ser avaliados sete dias após a administração da segunda dose, no total foram 36523 (os restantes foram excluídos). Destes, 18198 pertenceram ao grupo de intervenção e apenas 8 sofreram infeção por SARS-CoV-2 num período de sete dias após a administração da segunda dose da vacina. Por outro lado, o grupo ao qual foi administrado placebo e que contou com a participação de 18325 pessoas, registou 162 indivíduos infetados no mesmo período. Numa segunda parte do estudo e de uma forma mais geral que conta com todos os participantes que puderam ser avaliados sete dias

após a administração da segunda dose e onde se incluíram os que apresentavam e não apresentavam evidência de terem sido infetados por SARS-CoV-2, verificou-se que de um total de 40137 participantes dos quais 19965 fizeram parte do grupo de intervenção e 20172 fizeram parte do grupo de controlo, apenas 9 sofreram infeção no grupo de intervenção enquanto que no grupo de controlo foram registadas 169 infeções, isto no período de sete dias após a administração da segunda dose. Estes dados traduzem-se numa eficácia de 95,0% no grupo de pessoas que não tinha evidência de ter sido previamente infetado e de 94,6% no grupo de participantes que apresentavam e não apresentavam evidência de terem sido infetados por SARS-CoV-2. Na tabela 6-1 podem observar-se dados sobre a eficácia atualizada da vacina.

**Tabela 6-1** - Número de infeções por SARS-CoV-2 no período de 7 dias após a 2ª dose da Comirnaty® no grupo de intervenção e grupo de controlo e por subgrupo de acordo com evidência ou não de infeção por SARS-CoV-2 prévia (111).

	Nº de casos no grupo de intervenção	Nº de casos no grupo de controlo	Eficácia da vacina (%)
Ocorrência de casos positivos em doentes sem evidência de infeção por SARS-CoV-2 prévia	8 (N = 18198)	162 (N = 18325)	95,0
Ocorrência de casos positivos em doentes com ou sem evidência de infeção por SARS-CoV-2 prévia	9 (N = 19965)	169 (N = 20172)	94,6

Análises suplementares demonstram que a eficácia se mantém semelhante em diferentes subgrupos caracterizados por idade, sexo, etnia, raça, obesidade e presença

de comorbilidades. Na tabela 6-2 podem-se observar dados sobre a eficácia da vacina em subgrupos caracterizados por diferenças etárias.

**Tabela 6-2** - Eficácia da Comirnaty® de forma geral e em diferentes subgrupos etários (111).

	Nº de casos no grupo de intervenção	Nº de casos no grupo de controlo	Eficácia da vacina (%) (Intervalo de Confiança 95%)
<b>Total</b>	8	162	95,0
<b>Idade por grupo:</b>			
<b>16 aos 55 anos</b>	5	114	95,6
<b>&gt; 55 anos</b>	3	48	93,7
<b>≥ 65 anos</b>	1	19	94,7

Assim de acordo com os dados relativos a este ensaio clínico pode-se concluir que a administração de duas doses da Comirnaty pode conferir uma proteção de 95,0% contra a COVID-19 em pessoas com idade igual ou superior a 16 anos.

#### 6.1.4. Eficácia Spikevax®

O estudo para avaliar a eficácia da vacina em adultos foi um estudo de fase III, controlado por placebo, aleatorizado e com ocultação para observadores (112). Neste estudo participaram cerca de 30 000 indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos. Estes indivíduos foram distribuídos em dois grupos, o grupo que recebeu as duas doses da vacina e o grupo controlo que recebeu placebo, a distribuição em número de indivíduos foi semelhante em ambos os grupos, sendo que para a análise de eficácia final foram tidos em conta 14073 participantes no grupo de controlo e 14134 no grupo de intervenção. O objetivo primário do estudo foi determinar a eficácia da vacina na prevenção da COVID-19 num período de 14 dias após a administração da segunda dose da vacina. De uma forma geral a eficácia foi semelhante entre os diferentes subgrupos existentes sendo estes subgrupos caracterizados por diferenças etárias, sexo, risco de desenvolver doença grave e raça/etnia.

Na tabela 6-3 encontram-se os dados relativos à eficácia da Spikevax® nos diferentes subgrupos, podendo-se observar também que no que toca à avaliação global no grupo controlo foram reportados 185 casos de doença enquanto no grupo que recebeu a vacina, apenas 11 pessoas foram reportadas enquanto tendo a doença.

**Tabela 6-3** - Eficácia da vacina Spikevax® e número de casos de infeção em cada grupo e subgrupo (112).

Subgrupo	Nº de casos no grupo de controlo (N = 14073)	Nº de casos no grupo de intervenção (N = 14134)	Eficácia (%) (Intervalo de Confiança 95%)
<b>Geral</b>	185/14073	11/14134	94,1
<b>Idade</b>			
≥18 a <65 anos	156/10521	7/10551	95,6
≥65 anos	29/3552	4/3583	86,4
<b>Idade, risco de COVID-19 grave</b>			
≥18 a <65 anos, sem risco	121/8403	5/8396	95,9
≥18 a <65 anos, com risco	35/2118	2/2155	94,4
≥65 anos	29/3552	4/3583	86,4
<b>Sexo</b>			
Masculino	87/7462	4/7366	95,4
Feminino	98/6611	7/6768	93,1
<b>Risco de COVID-19 grave</b>			
Sim	43/3167	4/3206	90,9
Não	142/10906	7/10928	95,1
<b>Raça/Etnia</b>			
Branca	144/8916	10/9023	93,2
Comunidades de cor	41/5132	1/5088	97,5

Observando outros dados divulgados de acordo com um objetivo secundário que consistia na determinação da eficácia na prevenção da doença grave, verificou-se que existiram 30 casos de doença grave no estudo e que todos estes foram registados no grupo de controlo, tendo inclusivamente sido reportada uma morte.

Assim sendo, a Spikevax® demonstrou neste ensaio clínico uma eficácia de 94,1% ( $p < 0,001$ ) na prevenção da COVID-19, bem como do desenvolvimento de doença severa em pessoas com 18 ou mais anos de idade.

## 6.2. Vaxzevria® e JCOVDEN®

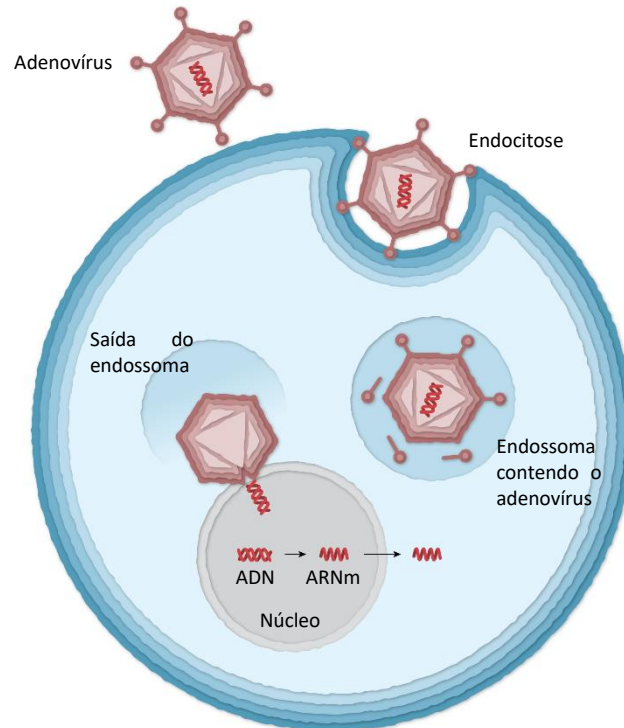
Para além das vacinas baseadas em ARNm, outras foram autorizadas de forma condicional para serem usadas na população da União Europeia. A Vaxzevria®, desenvolvida pela Farmacêutica anglo-sueca AstraZeneca em conjunto com a Universidade de Oxford, foi inicialmente usada no Reino Unido tendo vindo a expandir-se a sua utilização para o resto da União Europeia após ter sido emitida, no dia 29 de janeiro de 2021, a sua autorização de introdução no mercado (113). Já a JCOVDEN® foi desenvolvida pela Janssen Pharmaceuticals, uma farmacêutica subsidiária da norte-americana Johnson & Johnson, tendo conseguido autorização condicional no mercado da União Europeia a 11 de março de 2021 (114). Ambas as vacinas utilizam o adenovírus como vetor para a veiculação do material genético capaz de codificar a proteína S do SARS-CoV-2.

### 6.2.1. Mecanismo de Ação

O mecanismo de ação é semelhante em ambas as vacinas, a única diferença reside no tipo de adenovírus que é utilizado. A Vaxzevria® utiliza um adenovírus de chimpanzé não replicativo, enquanto que a JCOVDEN® utiliza um adenovírus de humano tipo 26 geneticamente modificado (115,116).

Os adenovírus modificados para codificarem a proteína S são injetados por via intramuscular. Após entrarem no organismo, os vírus injetam o seu material genético no citoplasma das células do hospedeiro. Este material genético irá migrar para o núcleo das células onde será transcrito para ARNm que irá ser transferido de novo para o

citoplasma para ser traduzido em proteína S com o auxílio dos ribossomas (Figura 6.5) (117).



**Figura 6.5** - Processo de entrada do adenovírus na célula e da transcrição de ADN em ARNm. Adaptado de (117).

A partir daqui o processo será semelhante ao já descrito anteriormente para as vacinas de ARNm (108).

### 6.2.2. Segurança

Durante os ensaios clínicos da Vaxzevria® foram notificados alguns efeitos adversos, sendo a gravidade destas reações de ligeira a moderada e geralmente solucionados em poucos dias. Os efeitos adversos mais frequentes ocorreram em indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos e consistiram em sensibilidade no local da injeção (>65%), dor no local da injeção (>55%), fadiga (>50%), cefaleias (>50%), mal-estar (>40%), mialgia (>40%), pirexia (>40%), arrepios (>30%), artralgia (>25%) e náuseas (>20%) (115). É importante realçar que esta foi a vacina que mais foi associada a efeitos adversos numa fase inicial, nomeadamente devido a coagulopatias (118).

Quanto às coagulopatias, as notificadas foram trombocitopenia (frequente), síndrome de trombose com trombocitopenia (muito raro) e trombose venosa e do seio cerebrovascular (frequência desconhecida). A maioria dos casos aconteceram no período de três a quatro primeiras semanas após a vacinação e resultaram em casos fatais, no entanto com uma frequência muito rara (115).

No que diz respeito aos efeitos adversos registados relativos à JCOVDEN®, um ensaio clínico reportou que os mais frequentes foram dor no local da injeção (>45%), cefaleias (>35%), fadiga (>35%), mialgia (>30%) e náuseas (>10%) (116). Foram reportados também casos de perturbações da coagulação, tais como síndrome de trombose com trombocitopenia com ocorrência de eventos fatais, tromboembolismo venoso e trombocitopenia imune em que se verificaram casos de hemorragia e também fatais. A vacina também foi correlacionada com a síndrome de transudação capilar que também levou em alguns casos a um desfecho fatal (116). Esta síndrome caracteriza-se pela extravasação de fluidos dos capilares para os tecidos adjacentes causando edemas, hipotensão, hipoalbuminémia e hemoconcentração. A síndrome de Guillain-Barré também foi associada à vacina. É importante realçar que estes efeitos indesejáveis aconteceram raramente ou muito raramente (116,119).

### 6.2.3. Eficácia Vaxzevria®

A eficácia da Vaxzevria® foi determinada num estudo de fase III, aleatorizado, com dupla ocultação e controlado por placebo realizado no Chile, Estados Unidos e Perú. A este estudo foi dado o nome de D8110C00001, tendo sido patrocinado pela AstraZeneca (120). O objetivo do estudo foi compreender qual a eficácia, segurança e imunogenicidade das duas doses da vacina em estudo no que toca à prevenção da COVID-19 ligeira e grave. O rácio entre os participantes que receberam vacina e placebo foi de 2:1, sendo que para a análise final da eficácia foram tidos em conta 17662 no grupo de intervenção e 8550 no grupo controlo. Os participantes do estudo tinham 18 ou mais anos e receberam duas doses da vacina espaçadas por 28 dias, tendo sido acompanhados por um período de 12 meses para avaliação de eficácia (115,120).

Na tabela 6-4 podem ser observados os dados relativos à eficácia da Vaxzevria® relacionados com o estudo. É possível constatar que no grupo de voluntários que receberam as duas doses da Vaxzevria®, apenas 73 foram considerados como casos COVID-19 durante o estudo. Por outro lado, no grupo do placebo, dos 8550 participantes, 130 foram considerados casos COVID-19. Após a elaboração da análise estatística verificou-se que, de um modo geral, a eficácia clínica da vacina em termos de prevenção da doença foi de 74% ( $p < 0,001$ ) e que de uma forma mais pormenorizada varia de subgrupo para subgrupo (Tabela 6-4).



**Tabela 6-4** - Eficácia da vacina Vaxzevria® e número de casos de infecção em cada grupo e subgrupo (120).

<b>Subgrupo</b>	<b>Nº de casos no grupo de controlo (N = 8550)</b>	<b>Nº de casos no grupo de intervenção (N = 17662)</b>	<b>Eficácia (%) (Intervalo de Confiança 95%)</b>
<b>Geral</b>	130/8550	73/17662	74,0
<b>Idade</b>			
<b>≥18 a 64 anos</b>	116/6738	68/13966	72,8
<b>≥65 anos</b>	14/1812	5/3696	83,5
<b>Raça ou grupo étnico</b>			
<b>Negra</b>	12/706	2/1401	91,8
<b>Branca</b>	99/6755	58/14011	73,1
<b>Índios americanos ou Nativos do Alasca</b>	9/373	9/744	50,1
<b>Outros</b>	10/716	4/1506	81,6
<b>Hispânicos ou latinos</b>			
<b>Sim</b>	30/2064	26/4035	57,5
<b>Não</b>	98/6370	45/13351	79,0
<b>Sexo</b>			
<b>Masculino</b>	84/4829	41/9922	77,2
<b>Feminino</b>	46/3721	32/7740	68,2
<b>Comorbilidades</b>			
<b>≥1</b>	82/5105	43/10376	75,2
<b>Nenhuma</b>	48/3444	30/7285	71,8

Outros dois estudos foram feitos para determinar a eficácia clínica da Vaxzevria<sup>®</sup>, designados por COV002 e COV003, tendo sido ambos patrocinados pela Universidade de Oxford (121–123).

Os dois estudos decorreram de forma aleatória, com ocultação e com um grupo de controlo. Ambos integraram adultos com idade igual ou superior a 18 anos, incluindo idosos. O COV002 é um estudo de fase II/III realizado no Reino Unido e o COV003 é um estudo de fase III realizado no Brasil. Aos participantes do grupo de intervenção foram administradas duas doses da vacina Vaxzevria<sup>®</sup> e no caso do grupo controlo foram administradas a vacina meningocócica ou salina. O rácio entre participantes no grupo da Vaxzevria<sup>®</sup> e o grupo controlo foi de 1:1 e o intervalo entre a administração das duas doses da vacina anti-COVID-19 foi de 4 a 12 semanas na maioria dos participantes (86,1%). Para se determinar o número final de casos positivos, os estudos contaram com o apoio de um comité da OMS.

Os dados relativos à eficácia geral destes estudos estão representados na tabela 6-5.

**Tabela 6-5** - Eficácia estimada da Vaxzevria<sup>®</sup> ≥ 15 dias após a administração da segunda dose, de acordo com os dados obtidos nos estudos COV002 e COV003 (123).

	Nº de casos no grupo de controlo (N = 5807)	Nº de casos no grupo de intervenção (N = 17662)	Eficácia (%) (Intervalo de Confiança 95%)
<b>Geral</b>	101/5829	30/5807	70,4
<b>COV002</b>	68/3804	18/3744	73,5
<b>COV003</b>	33/2025	12/2063	64,2

Os dados demonstraram uma eficácia geral de 70,4%, uma vez que no grupo de controlo foram registados 101 casos e no grupo da Vaxzevria<sup>®</sup> foram contabilizados 30 casos (123).

6.2.4. Eficácia JCOVDEN®

A eficácia da JCOVDEN® foi determinada através de um estudo, designado por COV3001, aleatorizado, multicêntrico, duplo cego e controlado por placebo (124). Este estudo foi de fase III e contou com a participação de cerca de 44000 voluntários que numa razão de 1:1 foram distribuídos entre o grupo que recebeu a dose da JCOVDEN® e o grupo placebo. Os participantes eram de diversas nacionalidades, sendo que a maioria eram norte americanos, um grande grupo era de diversos países da América Central/Sul e havia ainda um grupo da África do Sul.

O objetivo primário do estudo foi a análise da eficácia primária da vacina contra a COVID-19 dividida em dois quadros temporais diferentes, após 14 e 28 dias da vacinação. A eficácia após os 28 dias foi de aproximadamente 66%. Para a análise da eficácia da vacina foram tidos em conta 19514 participantes no grupo de intervenção e 19544 participantes no grupo de controlo. Na tabela 6-6 pode-se observar os dados relativos à eficácia da vacina 14 e 28 dias após a vacinação.

**Tabela 6-6** - Análise da eficácia da JCOVDEN® contra a COVID-19 considerando os resultados obtidos após a administração de uma dose única de vacina (124).

Subgrupo		≥ 14 dias após a administração	
	Nº de casos no grupo de controlo	Nº de casos no grupo de intervenção	Eficácia (%) (Intervalo de Confiança 95%)
<b>Geral</b>	348	116	66,9
<b>≥18 a 59 anos</b>	260	95	63,7
<b>≥65 anos</b>	88	21	76,3
Subgrupo		≥ 28 dias após a administração	
<b>Geral</b>	193	66	66,1
<b>≥18 a 59 anos</b>	152	52	66,1
<b>≥65 anos</b>	41	14	66,2

Os dados demonstraram que a eficácia geral da vacina foi de 66,9% ao fim de 14 dias após a vacinação e de 66,1% passados 28 dias.

É de realçar que a JCOVDEN® foi a única das quatro vacinas abordadas que apenas utilizou uma dose em vez de duas para se considerar um esquema vacinal completo.

### 6.3. Benefícios da Vacinação

Após o início dos programas de vacinação intensiva em diversos países, rapidamente se percebeu que estes foram fundamentais para diminuir a pressão que existia nos hospitais e para além disso, para reduzir a enorme quantidade de mortes que se registava de dia para dia. Se as vacinas não tivessem existido ou se o seu desenvolvimento tivesse sido mais demorado, certamente que a realidade em termos de impactos a nível de mortalidade seria diferente daquele que existiu.

Um estudo conduzido nos países da região europeia da OMS entre o final de 2020 e o final de 2021 demonstrou a importância que as vacinas tiveram na prevenção da mortalidade em pessoas com 60 ou mais anos (125). Na tabela 6-7 pode-se observar a percentagem de mortes que foram evitadas graças à vacinação em alguns países da região europeia da OMS.

A Evolução da Abordagem Terapêutica Farmacológica da COVID-19

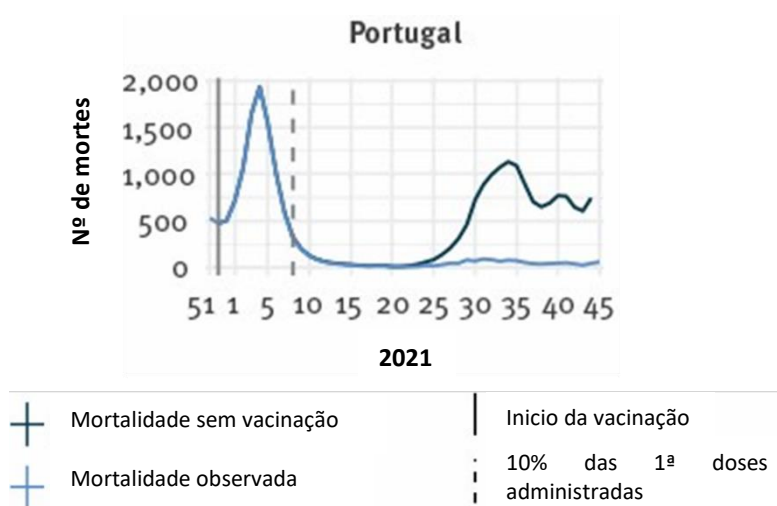
**Tabela 6-7** - Número cumulativo de mortes observadas e evitadas pela vacinação contra a COVID-19, taxas de mortalidade e taxas de mortalidade esperadas por 100000 habitantes com 60 anos ou mais, usando o cenário básico de eficácia da vacina, por país (125).

País	Vacinas usadas	Vacinação (%)		Número de mortes				Taxa de mortalidade por 100000 habitantes		
		Parcial	Total	Observadas	Evitadas após uma dose	Evitadas após duas doses	Total de evitadas	Observada	Total esperada	% de mortes esperadas evitadas pela vacinação
Islândia	COM-JAN-SPV-VAX	100	100	4	0	52	52	5,4	76,0	93
Israel	COM-SPV-VAX	97	93	3972	925	14737	15662	263,1	1300,7	80
Espanha	COM-JAN-SPV-VAX	99	97	34032	2102	87413	89515	277,1	1006,1	72
Portugal	COM-JAN-SPV-VAX	100	98	12050	503	13719	14222	402,4	877,3	54
Ucrânia	COM-CVAC-CSH-JAN-SPV-VAX	29	20	51337	561	2495	3056	496,5	526,0	6
Média entre os países pertencentes à região europeia da OMS										51

COM – Comirnaty®; CVAC- CoronaVac®; CSH- CoviShield®; SPV- Spikevax®; VAX- Vaxzevria®; JAN- JCOVDEN®

Assim, segundo este estudo pode-se constatar que em Portugal teria havido mais de 50% de mortes caso não existissem as vacinas. A média da região europeia foi de 51%, e tendo-se evitado um número tão elevado de mortes, certamente muita pressão foi reduzida dos sistemas de saúde tanto a nível europeu como mundial.

Na figura 6.6 pode-se observar a evolução positiva que ocorreu em Portugal com a diminuição da mortalidade graças à vacinação, evitando-se assim uma segunda vaga de mortes em 2021.



**Figura 6.6** - Mortalidade observada e esperada caso não existisse vacinação em Portugal entre a semana 51/2020 e 45/2021. Adaptado de (125).

Foi fundamental para muitos países ter sido possível alcançar uma elevada cobertura de vacinação de modo a prevenir a morbidade e mortalidade associadas à COVID-19 com a elevada taxa de transmissão de SARS-CoV-2 à medida que o inverno de 2021/22 se aproximava (125).

## 7. Perspetivas Futuras

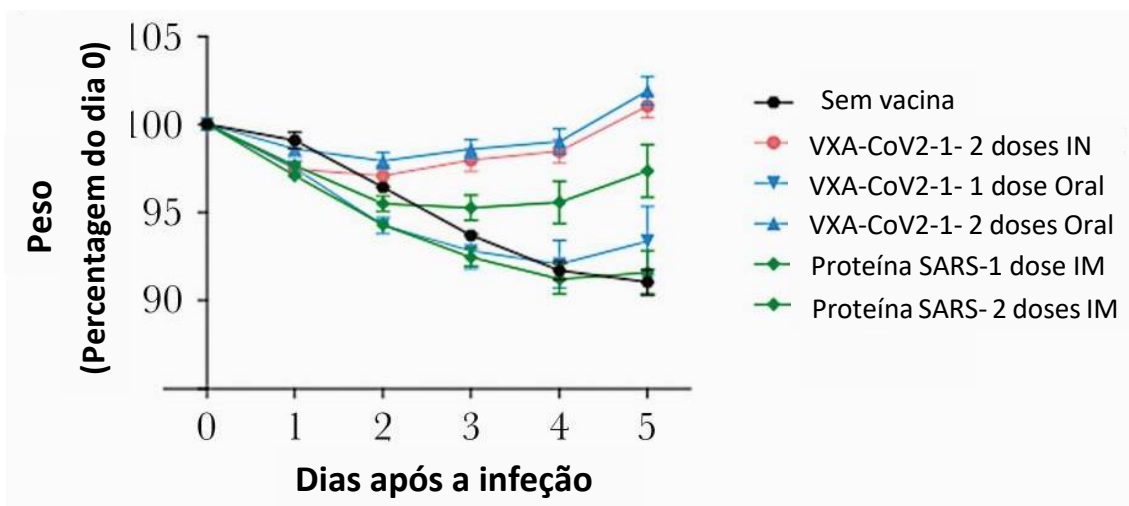
Atualmente, ao contrário do que se achava no final do ano 2019 a humanidade possui vacinas poderosas capazes de garantir uma boa imunidade, no entanto esta imunidade é limitada no tempo e por outro lado a efetividade das vacinas pode ser posta em causa quando surgem novas variantes causadas por mutações que geram novas variantes do vírus SARS-CoV-2.

É necessário encontrar-se novas ferramentas capazes de destruir o vírus ou que possuam uma proteção mais duradora. Assim sendo vários ensaios clínicos continuam a ser feitos com o objetivo de encontrar novas terapêuticas contra a COVID-19.

### 7.1. Vaxart - Vacina Oral

A vacina oral da Vaxart (VXA-CoV2-1) é uma vacina direcionada ao SARS-CoV-2 com o objetivo de estimular a imunidade das mucosas que são as principais portas de entrada para vírus que causam infeções respiratórias como a COVID-19. As mucosas possuem secreções que podem conter IgA produzidas por plasmócitos e que podem ter um papel muito importante na defesa do organismo não só por as mucosas serem as principais portas de entrada de vírus que causam infeções respiratórias, como já foi referido, mas também por a secreção de IgA ser superior à combinação de todas as outras isoformas de imunoglobulinas juntas (126,127). Esta vacina é direcionada às proteínas S, tal como todas as já abordadas anteriormente, e também à proteína N. Acredita-se que esta proteína seja a que sofre menos mutações entre todas as proteínas virais dos coronavírus (128). Devido ao facto de esta proteína ser mais conservada torna-se uma excelente ferramenta para impedir a perda de eficácia para novas variantes que possam emergir (129). As vacinas recombinantes que são produzidas pela Vaxart são formuladas de modo a possuírem um revestimento capaz de proteger a substância ativa do pH ácido do estômago para que esta possa estimular a imunidade sistémica e das mucosas, no geral, via intestino delgado (129). Esta vacina utiliza adenovírus tipo 5 como vetor da informação genética das proteínas S e N (130). Num estudo feito em 48 hámsteres sírios, que possuem uma ACE2 homologa à dos humanos, comparou-se a perda de peso, lesão pulmonar e a carga viral. Estes foram divididos em seis grupos, ou

seja, um grupo de controlo que não foi imunizado e cinco outros restantes grupos que se diferenciavam pela via da administração da vacina (oral, intranasal e intramuscular) e pelo número de doses administradas. É de realçar que os grupos que receberam a vacina por via intramuscular foram inoculados com uma proteína recombinante do SARS-CoV-1. Passadas oito semanas da imunização inicial, os hámsteres foram expostos a uma administração intranasal de SARS-CoV-2 com o objetivo de os infetar, e ao fim de cinco dias foram sacrificados de modo a se concluírem os ensaios finais (130). Mantendo o foco na via oral, percebe-se que esta via se demonstrou promissora no que diz respeito à perda de peso, lesão pulmonar e carga viral porque se verificou que o grupo que recebeu uma dose teve resultados mais favoráveis em todos os aspetos a serem avaliados do que o grupo que não foi imunizado, e que o grupo que recebeu as duas doses orais ainda teve melhores resultados. Na figura 7.1 pode-se observar a comparação entre a variação de peso 5 dias após a infeção.



**Figura 7.1** - Variação da percentagem do peso dos hámsteres nos diferentes grupos caracterizados pela via de administração da vacina (intranasal [IN], oral e intramuscular [IM]) bem como pelo número de doses administradas, 5 dias após a infeção pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda severa (SARS-Cov-2). Adaptado de (130).

Atualmente, a VXA-CoV2-1 encontra-se em ensaios clínicos de fase II (129). Esta vacina para além de poder ter um potencial de estimular de uma forma mais potente o sistema imunitário, mantendo uma imunidade contra o SARS-CoV-2 pode também ter várias vantagens por a administração ser realizada por via oral. A administração é mais facilitada e com a ausência de dor para além de não ser invasiva. Por outro lado, evita-



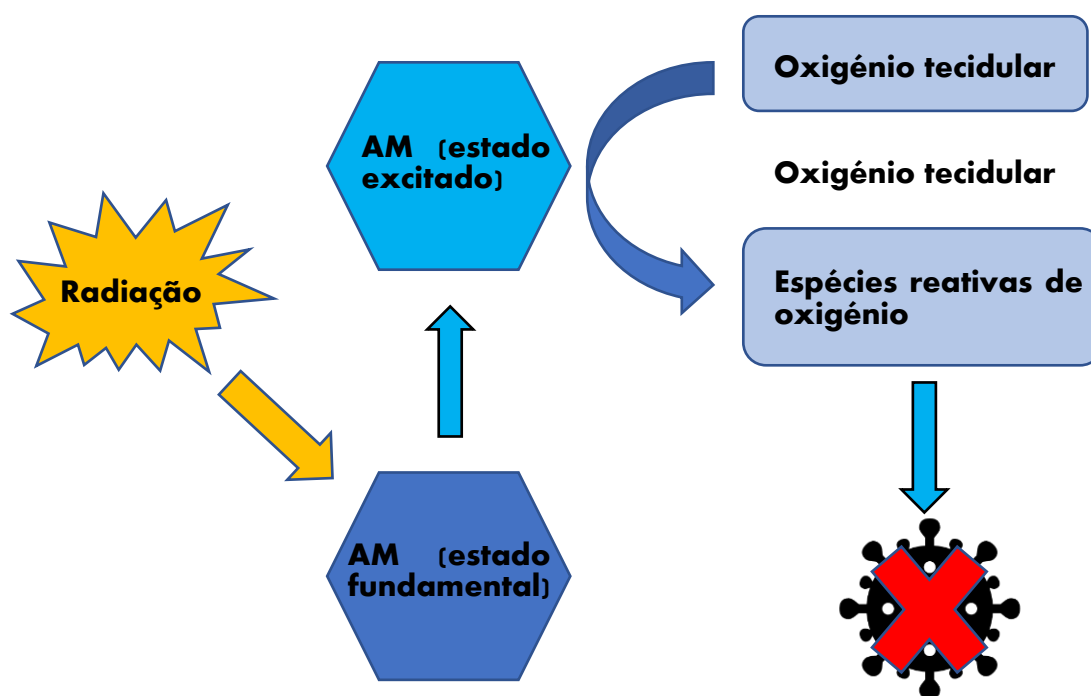
se a necessidade de refrigeração a temperaturas muito reduzidas como aconteceu com as vacinas intramusculares e isto pode ser uma vantagem para que a administração da vacina oral seja efetuada de uma forma global não exigindo medidas rigorosas de controlo de temperatura aquando do transporte e armazenamento, constituindo assim uma mais-valia principalmente em países menos desenvolvidos, que de uma forma geral possuem uma tecnologia, infraestruturas e meios mais escassos (130).

## 7.2. SNG001

O SNG001 é um fármaco que contém uma citocina antiviral, o interferão  $\beta - 1A$ , e que é administrado por via intranasal (131). O interferão  $\beta$  é uma citocina normalmente produzida por células do organismo que possui uma regulação negativa da resposta inflamatória e também uma atividade antiviral (132,133). No entanto, infeções por certos vírus, entre os quais o SARS-CoV-2, inibem a expressão desta citocina, o que pode contribuir para o despoletar de uma resposta inflamatória exagerada bem como uma fuga destes ao sistema imunitário (131,133). Recentemente, em junho de 2022, este fármaco encontrava-se em ensaios clínicos de fase II e fase III (134). Foi realizado um ensaio clínico de fase II, aleatorizado, controlado por placebo cujo objetivo foi verificar se existia mudança na condição clínica dos participantes durante o período de tratamento (135). O SNG001 foi administrado através de nebulização onde o grupo de intervenção contou com a participação de 48 doentes que foram admitidos em hospital, enquanto o grupo controlo recebeu placebo e contou com um total de 50 pessoas. Do total de participantes, 29 estavam a receber suplementação de oxigénio no grupo do placebo no início do estudo, enquanto no grupo de intervenção eram 37 a receber oxigénio. Os dados demonstraram que os doentes a receber SNG001 ao longo de 14 dias tiveram uma evolução mais favorável no seu estado clínico quando avaliada ao 15<sup>o</sup> ou 16<sup>o</sup> dia a comparar com o grupo a receber placebo. O SNG001 foi bem tolerado ao longo do estudo e verificou-se que não ocorreram mortes no grupo de intervenção, enquanto o grupo do placebo contou com a morte de três participantes. Os resultados do estudo com SNG001 demonstraram-se positivos e encorajadores para se prosseguir para ensaios de fase III, que atualmente já estão a decorrer contra as variantes Delta e Ómicron (135,136).

### 7.3. Desinfecção Fotodinâmica com Azul de Metileno

O azul de metileno (AM) é uma molécula sintetizada pela primeira vez nos finais do século XIX e desde então que tem sido utilizada com diversos fins medicinais desde a quimioterapia para o tratamento do cancro até mesmo para tratar doenças de foro psicológico (137). Mais recentemente, tem sido utilizada como uma molécula fotossensibilizante para a prevenção de infeções pelos vírus Influenza e pelo próprio SARS-CoV-2 (138,139). A desinfecção fotodinâmica utiliza moléculas sem atividade farmacológica que são estimuladas através de radiação com um comprimento de onda adequado de modo que estas passem a um estado excitado e transfiram o excesso de energia para oxigénio molecular formando-se assim radicais livres de oxigénio que podem exercer uma atividade tóxica ao reagir com biomoléculas. Na figura 7.2 pode-se observar como o processo ocorre de uma forma simplificada.



**Figura 7.2** - Mecanismo da desinfecção fotodinâmica com azul de metileno (AM).

Uma das maiores vantagens da desinfecção fotodinâmica é a seletividade com que é exercida, aplicando-se apenas à área irradiada. Um estudo que contou com a colaboração do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, onde se recolheram amostras de exsudado nasofaríngeo com recurso a zaragatoas em doentes hospitalizados com COVID-19 demonstrou que a amplificação de alíquotas destas por

RT-PCR foi inibida em >99,999% quando expostas a azul de metileno 1:20 e a radiação por tempos inferiores a 5 minutos (139). Para se compreender melhor como é que a desinfecção fotodinâmica pode afetar a infecção de células por SARS-CoV-2, a mesma equipa fez um teste onde utilizou vetores lentivirais modificados para expressarem a proteína S à sua superfície e codificando uma luciferase. As células utilizadas para sofrerem infecção foram células de rim embrionário humano 293 (HEK-293T) modificadas para expressar ACE2 humana. Estas células sofrem infecção quando são incubadas com os vetores lentivirais por 24h. Passadas estas 24h os viriões podem ser removidos e através da adição de luciferina pode ser analisada a extensão da infecção através da intensidade de quimioluminescência. Como controlo de infecção e da viabilidade celular utilizaram-se células que não foram incubadas na presença de vetores lentivirais. Assim prosseguiu-se para a exposição dos meios de cultura a várias concentrações de azul de metileno e a uma exposição de um minuto de radiação, e concluiu-se que, com baixas concentrações de azul de metileno ( $3,2\mu\text{M}$ ), a viabilidade celular não era alterada em comparação com as células de controlo, ou seja não existiu fototoxicidade celular mas conseguiu-se uma diminuição da intensidade da quimioluminescência em 57 vezes a comparar com um grupo de células que apenas foi exposto aos vetores lentivirais mas que não foi tratado. Isto demonstra que a desinfecção fotodinâmica utilizando o azul de metileno pode ser utilizada para se conseguir uma inibição da replicação do SARS-CoV-2 sem que haja uma grande toxicidade para as células humanas. Conclui-se assim que a inativação do vírus pode ser feita com baixas concentrações de azul de metileno e com uma energia de radiação que não é prejudicial para as células humanas (25,8 J) com períodos de exposição reduzidos. Este estudo abre portas para que se consiga fazer uma desinfecção da mucosa nasal de uma forma rápida e segura em doentes com COVID-19 ou mesmo de uma forma profilática com o intuito de impedir infeções respiratórias.

Atualmente, está a ser feito um estudo que tenta investigar qual o papel de um *spray* nasal de azul de metileno seguido de uma exposição a radiação em doentes infetados com COVID-19 de forma a perceber se existe uma diferença na amplificação por RT-PCR antes e após o tratamento (140). Caso os resultados se mostrem favoráveis pode abrir-se uma porta para uma nova forma profilática de infeções respiratórias que

pode ser muito útil, especialmente em ambientes hospitalares tanto para prevenir infecções de doentes imunocomprometidos como para prevenir infecções de profissionais de saúde.

## 8. Conclusão

Desde o início da pandemia que vários medicamentos contra a COVID-19 têm vindo a ser aprovados. É de louvar todas as estratégias tomadas por entidades como a EMA e a FDA para agilizar o processo de uso destes medicamentos na população. Também é de enaltecer o desenvolvimento de novos fármacos num reduzido período de tempo por parte das indústrias farmacêuticas. Sem dúvida que todos estes processos constituem um marco histórico a nível científico no que diz respeito à história das pandemias.

A descoberta e o uso das vacinas contribuíram para um decréscimo na mortalidade de mais de 50% na região europeia da OMS. Fármacos como a ivermectina e a hidroxicloroquina que foram muito abordados numa fase inicial demonstraram-se inúteis no combate à doença, assim como o soro convalescente que não demonstrou grande potencial terapêutico. Já o uso de outros fármacos como o remdesivir, a associação de nirmatrelvir + ritonavir, a dexametasona, molnupiravir e o tocilizumab demonstrou-se como benéfico a nível clínico conseguindo de uma forma transversal reduzir a taxa de mortalidade e em certos casos diminuir também o número de internamentos ou o tempo de hospitalização.

Prevendo-se que o SARS-CoV-2 venha para ficar é necessário encontrar formas de continuar a proteger a humanidade de uma doença que se poderá tornar endémica e um dos pontos mais fulcrais é tornar possível a equidade do acesso a estes medicamentos. Não só as populações que se encontram mais vulneráveis como as que têm maior dificuldade na sua obtenção, mas também as populações de países em desenvolvimento deveriam ser mais favorecidas no que toca à disponibilidade da medicação de modo a ser possível atuar de uma forma global e não apenas de uma forma localizada do globo. A heterogeneidade de acesso à medicação anti-COVID-19 pode levar a uma maior transmissibilidade nestas populações, o que é sinónimo de uma maior propensão para o desenvolvimento de novas variantes que são atualmente a maior preocupação no que diz respeito à perda de efetividade da medicação. É importante que exista também uma farmacovigilância e monitorização ativas destes medicamentos, de modo a gerar evidência científica que permita garantir as melhores tomadas de decisão numa situação de emergência como é a de um contexto pandémico.

## Bibliografia:

1. Dhama K *et al.* Coronavirus Disease 2019 –COVID-19. *Clin Microbiol Rev.* **2020**; 33(4):e0028-20.
2. World Health Organization (WHO). WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. **2020**. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (Acesso em fevereiro de 2021)
3. Mascellino MT, Di Timoteo F, De Angelis M, Oliva A. Overview of the Main Anti-SARS-CoV-2 Vaccines: Mechanism of Action, Efficacy and Safety. *Infect Drug Resist.* **2021**;14:3459–76.
4. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med.* **2020**;26(4):450–52.
5. Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J, Li X. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J Med Virol.* **2020**; 92(4):433–40.
6. Zhou P, Yang X Lou, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **2020**; 579(7798):270–3.
7. Xiao K, Zhai J, Feng Y, Zhou N, Zhang X, Zou JJ, et al. Isolation and characterization of 2019-nCoV-like coronavirus from malayan pangolins. **2020**; 583(7815), 286–289.
8. Frutos R, Pliez O, Gavotte L, Devaux CA. There is no “origin” to SARS-CoV-2. *Environ Res.* **2022**;207:112173.
9. Liu Y, Gayle AA, Wilder-Smith A, Rocklöv J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *J Travel Med.* **2020**;27(2):1–4.
10. Wassenaar TM, Zou Y. 2019\_nCoV/SARS-CoV-2: rapid classification of betacoronaviruses and identification of Traditional Chinese Medicine as potential origin of zoonotic coronaviruses. *Lett Appl Microbiol.* **2020**;70(5):342–48.
11. Tracking SARS-CoV-2 variants, **2022** Disponível em: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> (Acesso em setembro de 2022)
12. Bouzid D, Visseaux B, Kassasseya C, Comparison of Patients Infected With Delta Versus Omicron COVID-19 Variants Presenting to Paris Emergency Departments. *Ann Intern Med.* **2022**;175(6):831–837.
13. Du L et al. The spike protein of SARS-CoV — a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol.* **2009**;7(3):226–36.
14. Li M-Y, Li L, Zhang Y, Wang X-S. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty.* **2020**;9(1):45.
15. Malone B, Urakova N, Snijder EJ, Campbell EA. Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-

- CoV-2 drug design. *Nat Rev Mol Cell Biol.* **2022**;23(1):21–39.
16. Parasher A. COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgrad Med J.* **2021**;97(1147):312–20.
  17. COVID-19 CORONAVIRUS PANDEMIC. Worldometer. **2022**. Disponível em: <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (Acesso em agosto de 2022)
  18. Reported Cases and Deaths by Country or Territory (Portugal). Worldometer. **2022**. Disponível em: <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries> (Acesso em agosto de 2022)
  19. Mamede R, Pereira M, Simões A. Portugal : Uma análise rápida do impacto da COVID-19 na economia e no mercado de trabalho. Organização Internacional do Trabalho. **2020**. Disponível em [https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---europe/---ro-geneva/---ilo-lisbon/documents/publication/wcms\\_754606.pdf](https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---europe/---ro-geneva/---ilo-lisbon/documents/publication/wcms_754606.pdf) (Acesso em fevereiro de 2021)
  20. Público. Extrema-direita está a usar pandemia para se expandir, diz estudo encomendado pelo Governo alemão. **2020**. Disponível em: <https://www.publico.pt/2020/11/21/mundo/noticia/extremadireita-usar-pandemia-expandir-estudo-encomendado-governo-alemao-1940148> (Acesso em fevereiro de 2021)
  21. Gustine JN, Jones D. Immunopathology of Hyperinflammation in COVID-19. *Am J Pathol.* **2021**;191(1):4–17.
  22. Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, Cajander S, Shankar-Hari M, Lachmann G, et al. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *Lancet Respir Med.* **2021**; 9(6):622–42.
  23. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol.* **2020**; 215:108427.
  24. Sluimer J, Gasc J, Hamming I, van Goor H, Michaud A, van den Akker L, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and activity in human carotid atherosclerotic lesions. *J Pathol.* **2008**; 215(3):273–9.
  25. Zeng H, Pappas C, Belser JA, et al. Human Pulmonary Microvascular Endothelial Cells Support Productive Replication of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses: Possible Involvement in the Pathogenesis of Human H5N1 Virus Infection. *J Virol.* **2012**; 86(2):667–78.
  26. Wang M, Hao H, Leeper NJ, Zhu L. Thrombotic Regulation From the Endothelial Cell Perspectives. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **2018**;38(6):e90–5.
  27. Wang J, Jiang M, Chen X, Montaner LJ. Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *J Leukoc Biol.* **2020**; 108(1):17–41.
  28. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, et al. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). Pathophysiology. 2022. Em StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

29. Coronavirus disease (COVID-19). OMS. **2021**. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_3) (Acesso em julho de 2022).
30. SNS24. Medidas de saúde pública COVID-19. **2022**. Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/medidas-de-saude-publica-covid-19/#sec-0> (Acesso em outubro de 2022).
31. DGS - Direção Geral da Saúde. Norma 019/2020 - COVID-19 : Estratégia Nacional de Testes para SARS-CoV-2. **2020**; Disponível em: <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0192020-de-26102020-pdf.aspx> (Acesso em julho de 2022)
32. Teste Molecular Rápido (Abbott ID NOW™). Cruz Vermelha Portuguesa. **2021**. Disponível em: <https://testescovidcvp.pt/teste-id-now-covid-19/> (Acesso em julho de 2022).
33. Saah AJ, Hoover DR. “Sensitivity” and “Specificity” Reconsidered: The Meaning of These Terms in Analytical and Diagnostic Settings. *Ann Intern Med*. **1997**; 126(1): 91-94.
34. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, *et al*. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*. **2021**; 34(3):e00228-20.
35. FDA - Food and Drug Administration. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Oral Antiviral for Treatment of COVID-19. **2021**. Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-oral-antiviral-treatment-covid-19> (Acesso em maio de 2022).
36. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. Bethesda (MD): National Institutes of Health. **2021**. Disponível em <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/> (Acesso em maio de 2022).
37. Katzourakis A. COVID-19: endemic doesn’t mean harmless. *Nature*. **2022**; 601(7894):485.
38. Dhama K, Sharun K, Tiwari R, *et al*. COVID-19, an emerging coronavirus infection: advances and prospects in designing and developing vaccines, immunotherapeutics, and therapeutics. *Hum Vaccin Immunother*. **2020**;16(6):1232–38.
39. RECOVERY Collaborative Group. Effect of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. **2020**;383(21):2030–40.
40. FDA - Food and Drug Administration. Coronavirus (COVID-19) | Drugs. **2022** . Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/emergency-preparedness-drugs/coronavirus-covid-19-drugs> (Acesso em agosto de 2022)
41. EMA - European Medicines Agency. COVID-19 treatments. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/covid-19-treatments> (Acesso a julho de 2022)



42. Sheahan TP, Sims AC, Graham RL, *et al.* Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci Transl Med.* **2017**;9(396): eaal3653.
43. EMA - European Medicines Agency. Summary on compassionate use: Remdesivir. **2020.** Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/summary-compassionate-use-remdesivir-gilead\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/summary-compassionate-use-remdesivir-gilead_en.pdf) (Acesso em fevereiro de 2021).
44. Yan VC, Muller FL. Advantages of the Parent Nucleoside GS-441524 over Remdesivir for Covid-19 Treatment. *ACS Med Chem Lett.* **2020**;11(7):1361–66.
45. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, *et al.* Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med.* **2020**;383(19):1813–26.
46. Ader F, Bouscambert-Duchamp M, Hites M, *et al.* Remdesivir plus standard of care versus standard of care alone for the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19 (DisCoVeRy): a phase 3, randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infect Dis.* **2022**;22(2):209–221.
47. WHO Solidarity Trial Consortium. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 — Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med.* **2021**;384(6):497–511.
48. Gottlieb RL, Vaca CE, Paredes R, *et al.* Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *N Engl J Med* [Internet]. **2022**;386(4):305–315.
49. EMA - European Medicines Agency. Resumo das Características do Medicamento - Paxlovid. **2022.** Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/paxlovid-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/paxlovid-epar-product-information_pt.pdf) (Acesso em maio de 2022).
50. Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, *et al.* Coronavirus Main Proteinase (3CL pro ) Structure: Basis for Design of Anti-SARS Drugs. *Science.* **2003**;300(5626):1763–1767.
51. J. Hammond, H. Leister-Tebbe, A. Gardner, *et al.* Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. *N Engl J Med.* **2022**; 386 (15): 1397-1408
52. Pfizer. Pfizer’s Novel COVID-19 Oral Antiviral Treatment Candidate Reduced Risk of Hospitalization or Death by 89% in Interim Analysis of Phase 2/3 EPIC-HR Study. **2021.** Disponível em: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizers-novel-covid-19-oral-antiviral-treatment-candidate> (Acesso em maio de 2022).
53. EMA - European Medicines Agency. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes Pharmacists to Prescribe Paxlovid with Certain Limitations. **2022.** Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-pharmacists-prescribe-paxlovid-certain-limitations> (Acesso em agosto de 2022).
54. Imran M, Kumar Arora M, Asdaq SMB, *et al.* Discovery, Development, and Patent Trends on Molnupiravir: A Prospective Oral Treatment for COVID-19. *Molecules.* **2021**;26(19):5795.

55. Kabinger F, Stiller C, Schmitzová J, *et al.* Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nat Struct Mol Biol.* **2021**;28(9):740–746.
56. Jayk Bernal A, Gomes da Silva MM, Musungaie DB, *et al.* Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients. *N Engl J Med.* **2022**;386(6):509–520.
57. EMA - European Medicines Agency. Assesment Report: Use of molnupiravir for the treatment of COVID-19. **2022**. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/lagevrio-also-known-molnupiravir-mk-4482-covid-19-article-53-procedure-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/lagevrio-also-known-molnupiravir-mk-4482-covid-19-article-53-procedure-assessment-report_en.pdf) (Acesso em agosto de 2022).
58. EMA - European Medicines Agency. EMA reviewing new data on effectiveness of Lagevrio (molnupiravir) for the treatment of COVID-19. **2021**. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-reviewing-new-data-effectiveness-lagevrio-molnupiravir-treatment-covid-19> (Acesso em julho de 2022).
59. FDA - Food and Drug Administration. Fact sheet for healthcare providers: Emergency use authorization for Lagevrio™ (molnupiravir) capsules. **2022**. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/155054/download> (Acesso em agosto de 2022).
60. Yasir M, Goyal A, Sonthalia S. Corticosteroid Adverse Effects. Mechanism of Action. **2022** Em: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
61. Schimmer BP, Funder JW. ACTH, Adrenal Steroids, and Pharmacology of the Adrenal Cortex Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed. Mc Graw Hill; **2015**. Cap.42, pp. 1209–1235.
62. RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *N Engl J Med.* **2021**;384(8):693–704.
63. OMS - Organização Mundial de Saúde. Coronavirus disease (COVID-19): Dexamethasone. **2021**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-dexamethasone> (Acesso em maio de 2022).
64. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. Novo tratamento para a COVID-19: EMA recomenda a utilização de dexametasona nos doentes com COVID-19 que requerem terapia com oxigénio. **2020**. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/3698006/Nota+Informativa+para+profissionais+de+saúde+e+doentes/17698bf8-835b-0d25-056f-aa61a7a76ebd> (Acesso em maio de 2022).
65. Deng R, Boswell CA, Putnam WS, *et al.* Monoclonal Antibodies: From Structure to Therapeutic Application. *Pharmaceutical Biotechnology*. 5th ed. Springer Cham; **2019**. Cap.8, pp. 151–190.
66. Fu B, Xu X, Wei H. Why tocilizumab could be an effective treatment for severe COVID-19?. *J Transl Med.* **2020**; 18(1):164.
67. RECOVERY Collaborative Group. Tocilizumab in patients admitted to hospital with

- COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. **2021**;397(10285):1637–1645.
68. McCarthy J, Loukas A, Hotez PJ. Chemotherapy of Helminth Infections. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed. Mc Graw Hill; **2015**. Cap.51, pp. 1443-1461
  69. OMS - Organização Mundial de Saúde. Malaria. **2022**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria> (Acesso em maio de 2022).
  70. Sábado. Médico aconselhou ivermectina para covid-19 e para a hipertensão. **2022**. Disponível em: <https://www.sabado.pt/ciencia---saude/detalhe/medico-aconselhou-ivermectina-para-covid-19-e-para-a-hipertensao> (Acesso em maio de 2022).
  71. Yang SNY, Atkinson SC, Wang C, *et al*. The broad spectrum antiviral ivermectin targets the host nuclear transport importin  $\alpha/\beta$ 1 heterodimer. *Antiviral Res*. **2020**;177:104760.
  72. Lehrer S, Rheinstein PH. Ivermectin Docks to the SARS-CoV-2 Spike Receptor-binding Domain Attached to ACE2. *In Vivo*. **2020**;34(5):3023–3026.
  73. Vallejos J, Zoni R, Bangher M, *et al*. Ivermectin to prevent hospitalizations in patients with COVID-19 (IVERCOR-COVID19) a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Infect Dis*. **2021** Dec 2;21(1):635.
  74. Abd-Elsalam S, Noor RA, Badawi R, *et al*. Clinical study evaluating the efficacy of ivermectin in COVID-19 treatment: A randomized controlled study. *J Med Virol*. **2021**;93(10):5833–5838.
  75. EMA - European Medicines Agency. EMA advises against use of ivermectin for the prevention or treatment of COVID-19 outside randomised clinical trials. **2021**. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-advises-against-use-ivermectin-prevention-treatment-covid-19-outside-randomised-clinical-trials> (Acesso em agosto de 2022).
  76. Vinetz JM, Clain J, Bounkeua V, Easteman RT, Fidock D. Chemotherapy of Malaria (Cap. 49). Em: Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed. McGraw Hill; **2015**. p. 1383–1418.
  77. Mohandas N, An X. Malaria and human red blood cells. *Med Microbiol Immunol*. **2012**;201(4):593–598.
  78. Chou AC, Fitch CD. Heme polymerase: Modulation by chloroquine treatment of a rodent malaria. *Life Sci*. **1992**;51(26):2073–2078.
  79. Trump says he still thinks hydroxychloroquine works in treating early stage coronavirus. CNBC. **2020**. Disponível em: <https://www.cnbc.com/2020/07/28/trump-says-he-still-thinks-hydroxychloroquine-works-in-treating-early-stage-coronavirus.html> (Acesso em maio de 2022).
  80. A história de Bolsonaro com a hidroxicloroquina em 6 pontos: de tuítes de Trump

- à CPI da Covid. BBC. 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/brasil-57166743> (Acesso em maio de 2022).
81. Yao X, Ye F, Zhang M, *et al.* In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis.* **2020**;71(15):732–739.
  82. Liu J, Cao R, Xu M, *et al.* Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. *Cell Discov.* **2020**;6(1):16.
  83. Khan N, Chen X, Geiger JD. Role of Endolysosomes in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 Infection and Coronavirus Disease 2019 Pathogenesis: Implications for Potential Treatments. *Front Pharmacol.* **2020**;11:595888.
  84. Sperber K, Quraishi H, Kalb TH, *et al.* Selective regulation of cytokine secretion by hydroxychloroquine: inhibition of interleukin 1 alpha (IL-1-alpha) and IL-6 in human monocytes and T cells. *J Rheumatol.* **1993**;20(5):803–808.
  85. White NJ, Watson JA, Hoglund RM, *et al.* COVID-19 prevention and treatment: A critical analysis of chloroquine and hydroxychloroquine clinical pharmacology. *PLoS Med.* **2020**;17(9):e1003252.
  86. Mitjà O, Corbacho-Monné M, Ubals M, *et al.* Hydroxychloroquine for Early Treatment of Adults With Mild Coronavirus Disease 2019: A Randomized, Controlled Trial. *Clin Infect Dis.* **2021**;73(11):e4073–4081.
  87. Groopman J. The History of Blood. The New Yorker. **2019**. Disponível em: <https://www.newyorker.com/magazine/2019/01/14/the-history-of-blood> (Acesso em maio de 2022).
  88. Martins LA-CP, Silva PJC, Mutarelli SR. A teoria dos temperamentos: do corpus hippocraticum ao século XIX. *Memorandum.* **2008**. 14, 9-24.
  89. History of Blood Banking. Community Blood Center. Disponível em: <http://www.givingblood.org/about-blood/history-of-blood-banking.aspx> (Acesso em junho de 2022).
  90. Sarode R. Hemoderivados. MSD. **2020**. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/hematologia-e-oncologia/medicina-transfusional/hemoderivados> (Acesso em junho de 2022).
  91. Rojas M, Rodríguez Y, Monsalve DM, *et al.* Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action. *Autoimmun Rev.* **2020**;19(7):102554.
  92. Wang X, Guo X, Xin Q, *et al.* Neutralizing Antibody Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Coronavirus Disease 2019 Inpatients and Convalescent Patients. *Clin Infect Dis.* **2020**;71(10):2688–2694.
  93. Tian X, Li C, Huang A, *et al.* Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect.* **2020**;9(1):382–385.
  94. Gralinski LE, Sheahan TP, Morrison TE, *et al.* Complement Activation Contributes

- to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Pathogenesis. *mBio*. **2018**;9(5): e01753-e01758.
95. Abe Y, Horiuchi A, Miyake M, Kimura S. Anti-cytokine nature of natural human immunoglobulin: one possible mechanism of the clinical effect of intravenous immunoglobulin therapy. *Immunol Rev*. **1994**;139:5–19.
  96. Bégin P, Callum J, Jamula E, *et al*. Convalescent plasma for hospitalized patients with COVID-19: an open-label, randomized controlled trial. *Nat Med*. **2021**;27(11):2012–2024.
  97. O que é a Pólio?. Rotary. Disponível em: <https://www.endpolio.org/pt/o-que-e-a-polio> (Acesso em agosto de 2022).
  98. OMS - Organização Mundial de Saúde. Global polio eradication initiative applauds WHO African region for wild polio-free certification. **2020**. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/25-08-2020-global-polio-eradication-initiative-applauds-who-african-region-for-wild-polio-free-certification> (Acesso em novembro de 2021).
  99. SNS-24. Vacina COVID-19.. **2022**. Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/vacina-covid-19/> (Acesso em agosto de 2022).
  100. OMS - Organização Mundial de Saúde. The Sinovac-CoronaVac COVID-19 vaccine: What you need to know. **2022**. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-sinovac-covid-19-vaccine-what-you-need-to-know?gclid=EAIaIQobChMIImNLlyNG1-QIVxLvVCh10wAgFEAYASAAEgIY9vD\\_BwE](https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-sinovac-covid-19-vaccine-what-you-need-to-know?gclid=EAIaIQobChMIImNLlyNG1-QIVxLvVCh10wAgFEAYASAAEgIY9vD_BwE) (Acesso em agosto de 2022).
  101. Sobre a Sputnik V. Sputnik V. Disponível em: <https://sputnikvaccine.com/prt/about-vaccine/> (Acesso em agosto de 2022).
  102. EMA - European Medicines Agency. Nuvaxovid. **2021**. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/nuvaxovid> (Acesso em agosto de 2022).
  103. DGS - Direção Geral de Saúde. Norma nº 004/2022. Disponível em: <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0042022-de-29042022-pdf.aspx> (Acesso em agosto de 2022).
  104. EMA - European Medicines Agency. COVID-19 vaccines: studies for approval. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-studies-approval> (Acesso em agosto de 2022).
  105. EMA - European Medicines Agency. Comirnaty. **2022**. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/comirnaty> (Acesso em março de 2022).
  106. EMA - European Medicines Agency. Spikevax (previously COVID-19 Vaccine Moderna). **2022**. Disponível em:

- <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spikevax> (Acesso em março de 2022).
107. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines — a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* **2018**;17(4):261–279.
  108. Corum J, Zimmer C. How Moderna’s Vaccine Works. The New York Times. **2021**. Disponível em: <https://www.nytimes.com/interactive/2020/health/moderna-covid-19-vaccine.html> (Acesso em agosto de 2022).
  109. EMA - European Medicines Agency. Resumo das Características do Medicamento - Comirnaty. **2020**. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/comirnaty-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/comirnaty-epar-product-information_pt.pdf) (Acesso em novembro de 2021).
  110. EMA - European Medicines Agency. Resumo das Características do Medicamento - Spikevax. **2021**. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-product-information_pt.pdf) (Acesso em novembro de 2021).
  111. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, *et al.* Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* **2020**;383(27):2603–2615.
  112. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* **2021**;384(5):403–416.
  113. EMA - European Medicines Agency. Vaxzevria (previously COVID-19 Vaccine AstraZeneca). **2022**. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca> (Acesso em março de 2022).
  114. EMA - European Medicines Agency. Jcovden (previously COVID-19 Vaccine Janssen). **2022**. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/covid-19-vaccine-janssen> (Acesso em março de 2022).
  115. EMA - European Medicines Agency. Resumo das Características do Medicamento - Vaxzevria. **2021**. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca-epar-product-information_pt.pdf) (Acesso em março de 2022).
  116. EMA - European Medicines Agency. Resumo das Características do Medicamento - JCOVDEN. **2021**. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/jcovden-previously-covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/jcovden-previously-covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information_pt.pdf) (Acesso em março de 2022).
  117. Corum J, Zimmer C. How the Oxford-AstraZeneca Vaccine Works. The New York Times. **2021**. Disponível em: <https://www.nytimes.com/interactive/2020/health/oxford-astrazeneca-covid-19-vaccine.html> (Acesso em agosto de 2022).

118. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde , I.P. Vacina contra a COVID-19 da AstraZeneca: Conclusões do Comité de Avaliação de Risco em Farmacovigilância. **2021**. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal\\_content/56/15786/4316779](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal_content/56/15786/4316779) (Acesso em outubro de 2022).
119. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde , I.P. COVID-19 Vaccine Janssen: Síndrome de Guillain-Barré incluída como efeito indesejável muito raro. **2021**. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal\\_content/56/15786/4553226](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal_content/56/15786/4553226) (Acesso em abril de 2022).
120. Falsey AR, Sobieszczyk ME, Hirsch I, *et al.* Phase 3 Safety and Efficacy of AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19) Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* **2021**;385(25):2348–2360.
121. Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, *et al.* Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet.* **2021**;396(10267):1979–1993.
122. A Study of a Candidate COVID-19 Vaccine (COV003). **2020**. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04536051> (Acesso em agosto de 2022).
123. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, *et al.* Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet.* **2021**;397(10269):99–111.
124. Sadoff J, Gray G, Vandebosch A, *et al.* Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COVS.S Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med.* **2021**;384(23):2187–2201.
125. Meslé Margaux MI *et al.* Estimated number of deaths directly averted in people 60 years and older as a result of COVID-19 vaccination in the WHO European Region, December 2020 to November 2021. *Euro Surveill.* **2021**;26(47):2101021.
126. Russell MW, Moldoveanu Z, Ogra PL, Mestecky J. Mucosal Immunity in COVID-19: A Neglected but Critical Aspect of SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol.* **2020** 30;11: 611337.
127. Russell MW. Biological Functions of IgA (Cap. 6) Em: Mucosal Immune Defense: Immunoglobulin A. 1st ed. Springer; **2007**. p. 144–172.
128. Zhao P, Cao J, Zhao L-J, *et al.* Immune responses against SARS-coronavirus nucleocapsid protein induced by DNA vaccine. *Virology.* **2005**;331(1):128–135.
129. Vaxart COVID-19 Oral Vaccine. Precision Vaccinations. **2022**. Disponível em: <https://www.precisionvaccinations.com/vaccines/vaxart-covid-19-oral-vaccine> (Acedido em junho de 2022).
130. Johnson S, Martinez CI, Tedjakusuma SN, *et al.* Oral Vaccination Protects Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in a Syrian Hamster Challenge Model. *J Infect Dis.* **2022**;225(1):34–41.
131. Trial of Inhaled Anti-viral (SNG001) for SARS-CoV-2 (COVID-19) Infection. **2021**.

- Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04385095> (Acesso em junho de 2022).
132. F.Hahn A, Hans-Peter Hartung, J.Dyck P. Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy. *Peripheral Neuropathy*. 4th ed. Elsevier B.V; **2005**. Cap.99, pp. 2221–2253.
  133. Health Research Authority. Phase III trial of inhaled anti-viral (SNG001) for SARS-CoV-2 [COVID-19] [UPH]. **2020**. Disponível em: <https://www.hra.nhs.uk/planning-and-improving-research/application-summaries/research-summaries/phase-iii-trial-of-inhaled-anti-viral-sng001-for-sars-cov-2-covid-19-uph/> (Acesso em junho de 2022).
  134. SNG001 Studies. **2022**. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=SNG001&cntry=&state=&city=&dist=> (Acesso em junho de 2022).
  135. Monk PD, Marsden RJ, Tear VJ, *et al*. Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Respir Med*. **2021**;9(2):196–206.
  136. Synairgen. Update on SNG001. **2022**. Disponível em: <https://www.synairgen.com/media/2022-03-03-update-on-sng001> (Acesso em junho de 2022).
  137. Wainwright M, Crossley KB. Methylene Blue - a Therapeutic Dye for All Seasons? *J Chemother*. **2002**;14(5):431–443.
  138. Henry M, Summa M, Patrick L, Schwartz L. A cohort of cancer patients with no reported cases of SARS-CoV-2 infection: The possible preventive role of methylene blue. *Substantia*. **2020**;4(1):888.
  139. Lobo CS, Rodrigues-Santos P, Pereira D, Núñez J, Trêpa JCD, Sousa DL, *et al*. Photodynamic disinfection of SARS-CoV-2 clinical samples using a methylene blue formulation. *Photochem Photobiol Sci*. **2022**; 21(6):1101-1109.
  140. Nasal Photodisinfection COVID-19 Proof of Concept Study. **2021**. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04615936> (Acesso em junho de 2022).