

CAPÍTULO 19

PRESENÇA DE AUTOANTICORPOS EM PACIENTES INTERNADOS POR COVID-19 EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Data de submissão: 22/08/2024

Data de aceite: 01/11/2024

Milena Despessiani Kunz

Laboratório de Análises Clínicas, Hospital Universitário do Oeste do Paraná, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2929413873414285>

Janaina Fatima da Roza Cunha

Laboratório de Imunologia Aplicada, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3854672779399360>

Alex Sandro Jorge

Laboratório de Análises Clínicas, Hospital Universitário do Oeste do Paraná, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2353170679649213>
0000-0002-4813-349X

Rafael Andrade Menolli

Laboratório de Análises Clínicas, Hospital Universitário do Oeste do Paraná, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Laboratório de Imunologia Aplicada, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
0000-0003-2728-8318

RESUMO: Introdução: A infecção causada pelo SARS-CoV-2, o membro de maior patogenicidade da família dos coronavírus, provoca impactos significativos na saúde dos indivíduos afetados pela doença, e os autoanticorpos parecem estar envolvidos na gravidade da doença. Objetivos: Nesse estudo foi realizada uma análise quanto a presença de autoanticorpos, por meio de imunofluorescência indireta, em pacientes internados com diagnóstico de Covid-19 durante o ano de 2021 em um hospital de alta complexidade, localizado no Oeste do Paraná. Métodos: Trata-se de um estudo transversal, descritivo e não controlado realizado por meio de revisão de prontuários e análise sorológica de pacientes. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) sob parecer de número 4.517.274. Os autoanticorpos foram determinados utilizando o teste de anticorpos antinucleares (ANA). Foram utilizadas células HEp-2 e a reatividade lida por imunofluorescência indireta. Os dados dos prontuários (sexo, idade, tempo de internamento) dos pacientes foram catalogados em planilha específica. Resultados: Ao total foram analisadas 52

amostras de pacientes internados (26 pacientes) nas alas de isolamento para Covid-19 do hospital. Dentre os pacientes analisados, metade foi do sexo feminino ($p>0,05$) com idade média de $59,92\pm18,66$ anos ($p>0,05$). Quanto ao tempo de internamento, a maioria (73,08%) permaneceu menos de 30 dias no hospital ($p=0,019$), sendo que 8 (30,77%) evoluíram a óbito ($p=0,049$). Das amostras analisadas 3 foram positivas para ANA, sendo duas da mesma paciente, uma coletada na admissão e outra 5 dias após ($p<0,0001$). Conclusão: A análise dos autoanticorpos antinucleares (ANA) revelou uma baixa incidência, com apenas 3 amostras positivas, diferindo de outros estudos que encontraram quantidades superiores. A detecção de autoanticorpos em pacientes recuperados destaca a importância da compreensão dos mecanismos imunológicos e a necessidade de investigações adicionais para orientar estratégias terapêuticas futuras.

PALAVRAS-CHAVE: Covid-19, autoanticorpos, anticorpos antinucleares (ANA).

ABSTRACT: Introduction: The infection caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the most pathogenic member of the coronavirus family, significantly impacts the health of individuals affected by the disease, and autoantibodies are involved in the severity of the disease. Objectives: In this study, indirect immunofluorescence analysis of the presence of autoantibodies in patients admitted with a diagnosis of COVID-19 during 2021 at a highly complex hospital located in Western Paraná was carried out. Methods: This was a cross-sectional, descriptive and uncontrolled study carried out through a review of medical records and serological analysis of patients. The project was submitted and approved by the Ethics and Research Committee on Human Beings of the State University of Western Paraná (UNIOESTE) under opinion number 4,517,274. The presence of autoantibodies was determined using the antinuclear antibody (ANA) test. HEp-2 cells were used, and reactivity was assessed by indirect immunofluorescence. Data from the patients' medical records (gender, age, length of stay) were cataloged in a specific spreadsheet. Results: In total, 52 samples from patients admitted (26 patients) to the hospital's COVID-19 isolation wards were analyzed. Among the patients analyzed, half were female ($p>0,05$), with a mean age of $59,92\pm18,66$ years ($p>0,05$). Regarding length of stay, the majority (73,08%) spent less than 30 days in the hospital ($p=0,019$), with 8 (30,77%) dying ($p=0,049$). Of the samples analyzed, 3 were positive for ANA, two were from the same patient, one was collected on admission, and the other was collected 5 days later ($p<0,0001$). Conclusion: The analysis of antinuclear autoantibodies (ANAs) revealed a low incidence, with only 3 positive samples, differing from other studies that found higher quantities. The detection of autoantibodies in recovered patients highlights the importance of understanding immunological mechanisms and the need for additional investigations to guide future therapeutic strategies.

KEYWORDS: COVID-19, autoantibodies, antinuclear antibodies (ANAs).

INTRODUÇÃO

No fim de 2019 a pandemia causada pelo SARS-CoV-2, o membro de maior patogenicidade da família dos coronavírus, provocou impactos significativos não só na saúde dos indivíduos afetados pela doença, mas também em todo o sistema de saúde e na economia global. O vírus infecta as células do sistema imunológico levando a uma

liberação excessiva de citocinas o que causa os sintomas característicos da patologia, como o desconforto respiratório agudo (1).

A imunidade tem papel crucial no prognóstico do paciente, tanto a inata quanto adaptativa. A Covid-19 afeta a imunidade antiviral causando linfopenia (diminuição de células T CD4+, T CD8+, NK e B), superprodução de citocinas pró-inflamatórias e aumento dos anticorpos. Tendo em vista que os vírus podem afetar o mecanismo de tolerância imunológica, contribuindo para reações autoinflamatórias, e sabendo que doenças autoimunes estão relacionadas com estas condições, o SARS-CoV-2 pode levar a diversos sintomas autoimunes (2).

Uma parte significativa dos pacientes recuperados da infecção causada pelo SARS-CoV-2 permanece com sintomas, denominados PASC (Post-acute sequelae of Covid-19). Estudos sugerem relação entre os autoanticorpos com o PASC, evidenciando citocinas inflamatórias residuais. Também são relatados casos de pacientes que desenvolveram autoimunidade pós-Covid, sem histórico prévio (3). Nesse estudo foi realizada uma análise quanto a presença de autoanticorpos, por meio de imunofluorescência indireta, em pacientes internados por Covid-19 no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP) durante o ano de 2021 na pandemia de Covid-19.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e não controlado realizado por meio de revisão de prontuários e análise sorológica de pacientes internados por Covid-19 no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), em Cascavel-PR. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) sob parecer de número 4.517.274. Os pacientes eram provenientes de enfermaria e de Unidade de Terapia Intensiva (UTI) destinadas ao tratamento de pacientes com Covid, sendo internados durante a onda de casos de infecção por SARS-CoV-2 causada pela variante ômicron (B.1.1.529) (entre fevereiro e abril de 2022). Todos os pacientes tinham o teste de RT-PCR (reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa) positivo para SARS-CoV-2. Os dados epidemiológicos e clínicos individuais foram obtidos por meio do prontuário eletrônico dos pacientes no sistema Tasy®, sendo coletados dados de sexo, idade, tempo de internamento total, quantidade de dias de sintomas antes do internamento, se havia doença pregressa e se o internamento evoluiu para óbito. Foram coletadas duas amostras sanguíneas de cada paciente, uma no internamento e a segunda após ao menos três dias de internamento. As amostras de sangue foram coletadas em tubos com acelerador de coagulação da marca BD Vacutainer®, aguardado o tempo para formação do coágulo e, em seguida, centrifugadas. O soro foi separado e armazenado em freezer -80 °C até o momento da realização dos testes. Os autoanticorpos foram determinados utilizando o teste de anticorpos antinucleares (ANA) com o soro diluído (1:80) em ambas

as amostras de cada paciente. Foram utilizadas células HEp-2 e a reatividade lida em imunofluorescência, de acordo com o protocolo do fabricante (Immuno Concepts, NA Ltd., Sacramento, CA). As lâminas foram observadas em microscópio Olympus BX60, acoplado à lâmpada de vapor de mercúrio em epifluorescência, em aumento de 400X e classificadas conforme seu padrão de fluorescência. A análise estatística para os parâmetros coletados foi realizada por meio do teste de bondade de ajuste multinomial de Qui-quadrado. Foi adotado um alfa 0,05 ($p < 0,05$) e as análises foram realizadas no software Microsoft Office Excel versão 365 com o pacote XLSTAT. Para isso, os dados foram organizados em tabelas de contingências com os valores absolutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao total foram analisadas 52 amostras de 26 pacientes internados nas alas de isolamento para Covid-19 no HUOP. Na Tabela 1 podemos observar as características clínicas e demográficas dos pacientes.

Dentre os pacientes analisados, metade foi do sexo feminino com idade média de $59,92 \pm 18,66$ anos. Relatório de dados da Global Health 50/50 mostrou números de casos confirmados de Covid-19 semelhantes entre homens e mulheres (4). Outro estudo realizou uma meta análise de estatísticas globais em larga escala, com mais de 3 milhões de casos de pacientes infectados pelo vírus, que demonstrou um risco equivalente de infecção entre ambos os sexos, entretanto a mortalidade hospitalar foi maior em homens (5) caused by the coronavirus SARS-CoV-2, exhibits differences in morbidity and mortality between sexes. Here, we present a meta-analysis of 3,111,714 reported global cases to demonstrate that, whilst there is no difference in the proportion of males and females with confirmed COVID-19, male patients have almost three times the odds of requiring intensive treatment unit (ITU).

Pesquisa realizada por Hernandez-Hernandez et al. (2022) (6), apesar de realizada com pacientes internados na primeira onda de Covid19 (ano 2020), teve uma prevalência do sexo masculino e média de idade dos pacientes analisados de 55. Apresentou um risco maior de admissão na UTI e intubação no sexo masculino, entretanto demonstrou ser mais comum as mulheres apresentarem comorbidades como hipertensão, diabetes, obesidade e DPOC, fatores associados ao Covid-19 grave. Dentre os 8 óbitos apresentados no presente estudo 5 (30,77%) eram mulheres e todas apresentavam ao menos uma das comorbidades citadas.

Quanto ao tempo de internamento, a maioria (73.08%) permaneceu menos de 30 dias no hospital, com uma média de $25,23 \pm 27,99$ dias, tempo superior ao demonstrado por Kemper et al. (2023) (7), de em média 10,64 dias, os quais utilizaram em seu trabalho pacientes internados no ano de 2020. Esse dado é contrário ao relatado por outros autores, que afirmam ser a variante ômicron causadora de infecção menos grave (8).

Das amostras analisadas 3 (5,77%) foram positivas para ANA, sendo duas da mesma paciente, uma coletada na admissão e outra 5 dias após. Estudo realizado por Pascolini et al. (2021) (9) there is insufficient knowledge on the presence of autoimmune serological markers in patients with COVID-19. We analyzed the presence and role of autoantibodies in patients with COVID-19-associated pneumonia. We prospectively studied 33 consecutive patients with COVID-19, 31 (94%, com pacientes (n=33) encaminhados ao hospital com suspeita de infecção pelo vírus, obtiveram 33,3% (11 pacientes) de positividade para ANA, desses indivíduos 4 apresentaram padrão nucleolar, 4 pontilhados, 2 indeterminados e 1 homogêneo, dado superior ao presente trabalho que obteve positividade em apenas 7,69% (2 pacientes), sendo que 1 (um) destes apresentando padrão nuclear pontilhado e o outro citoplasmático fibrilar.

Estudos mostram uma taxa maior de positividade para anticorpos antinucleares entre pacientes com Covid-19, com eles variando de 33,3 a 71% de positividade (10–12).

A paciente ANA positivo nas duas amostras, 68 anos, apresentava comorbidades (acamada, múltiplos AVCs, DM e HAS) mas nenhuma doença autoimune diagnosticada. A segunda paciente, 74 anos, também do sexo feminino e com diagnóstico de DPOC, positivou para ANA apenas na segunda amostra, 3 dias após o internamento, apresentando um padrão citoplasmático fibrilar. Ambas já haviam tomado 3 doses da vacina contra Covid-19 e evoluíram a óbito. Estudo realizado na China por Zhou et al., (2020) (10), concluiu que ocorrem respostas autoimunes em pacientes com Covid-19, justificando o uso de terapia imunossupressora para prevenir uma possível disfunção autoimune.

CONCLUSÃO

Esta pesquisa proporcionou uma visão abrangente do perfil epidemiológico e clínico-laboratorial de pacientes com Covid-19 em um hospital universitário do Oeste do Paraná. A análise dos autoanticorpos antinucleares (ANA) revelou uma baixa incidência, com apenas 3 amostras positivas. A detecção de autoanticorpos em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 destaca a importância da compreensão dos mecanismos imunológicos e a necessidade de investigações adicionais para orientar estratégias terapêuticas futuras.

REFERÊNCIAS

1. Antwi I, Watkins D, Pedawi A, Ghrayeb A, Van de Vuurst C, Cory TJ. Substances of abuse and their effect on SAR-CoV-2 pathogenesis. *NeurolImmune Pharmacol Ther*. 2023 Sep; 2(3): 301–16.
2. Mobasher L, Nasirpour MH, Masoumi E, Azarnaminy AF, Jafari M, Esmaeili SA. SARS-CoV-2 triggering autoimmune diseases. *Cytokine*. 2022 Jun; 154: 155873.
3. Son K, Jamil R, Chowdhury A, Mukherjee M, Venegas C, Miyasaki K, et al. Circulating anti-nuclear autoantibodies in COVID-19 survivors predict long-COVID symptoms. *Eur Respir J*. 2022 Sep; 2200970.

4. Global Health 5050. The Covid-19 Sex-Disaggregated Data Tracker. 2021. Available from: <https://globalhealth5050.org/wp-content/uploads/October-2021-data-tracker-update.pdf>
5. Peckham H, de Gruijter NM, Raine C, Radziszewska A, Ciurtin C, Wedderburn LR, et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. *Nat Commun.* 2020 Dec; 11(1): 6317.
6. Hernandez-Hernandez ME, Zee RYL, Pulido-Perez P, Torres-Rasgado E, Romero JR. The effects of biological sex and cardiovascular disease on COVID-19 mortality. *Am J Physiol Circ Physiol.* 2022 Sep; 323(3): H397–402.
7. Kemper BX, Klauck BM, Jorge AS, Menolli RA. Determinação de autoanticorpos em pacientes com covid-19 em um hospital terciário do oeste do Paraná. In: *Doenças Infecciosas e Parasitárias - Edição V.* 2023. p. 23–9.
8. Relan P, Motaze NV, Kothari K, Askie L, Le Polain de Waroux O, Van Kerckhove MD, et al. Severity and outcomes of Omicron variant of SARS-CoV-2 compared to Delta variant and severity of Omicron sublineages: a systematic review and metanalysis. *BMJ Glob Heal.* 2023 Jul; 8(7): e012328.
9. Pascolini S, Vannini A, Deleonardi G, Ciordinik M, Sensoli A, Carletti I, et al. COVID-19 and Immunological Dysregulation: Can Autoantibodies be Useful? *Clin Transl Sci.* 2021 Mar 20; 14(2): 502–8.
10. Zhou Y, Han T, Chen J, Hou C, Hua L, He S, et al. Clinical and Autoimmune Characteristics of Severe and Critical Cases of COVID-19. *Clin Transl Sci.* 2020 Nov 14; 13(6): 1077–86.
11. Vlachoyiannopoulos PG, Magira E, Alexopoulos H, Jahaj E, Theophilopoulou K, Kotanidou A, et al. Autoantibodies related to systemic autoimmune rheumatic diseases in severely ill patients with COVID-19. *Ann Rheum Dis.* 2020 Dec; 79(12): 1661–3.
12. Basic-Jukic N, Pavlisa G, Sremec NT, Juric I, Ledenko R, Rogic D, et al. Autoantibodies in COVID-19, a possible role in the pathogenesis of the disease. *Ther Apher Dial.* 2023 Oct 22; 27(5): 882–9.

Características	N (26) 100%	p
Sexo		>0,05
Homens	(13) 50%	
Mulheres	(13) 50%	
Idade		>0,05
20 – 29	(1) 3,85%	
30 – 39	(3) 11,54%	
40 - 49	(3) 11,54%	
50 – 59	(4) 15,38%	
60 – 69	(7) 26,92%	
70 – 79	(4) 15,38%	
80 - 91	(4) 15,38%	
Tempo de internamento		0,019
< 1 mês	(19) 73,08%	
> 1 mês	(7) 26,92%	

Doença pregressa		NA
DM	(5) 19,23%	
HAS	(14) 53,85%	
Outras doenças	(16) 61,54%	
Óbito		0,049
Sim	(8) 30,769%	
Não	(18) 69,230%	

NA – não avaliado; DM – Diabetes mellitus; HAS – Hipertensão arterial sistêmica

Tabela 1 - Perfil demográfico e clínico-laboratorial dos pacientes com COVID-19 internados no HUOP/ Cascavel-PR

Características	N (26) 100%	p
ANA reagente (1^a amostra)		<0,0001
Sim	(1) 3,85%	
Não	(25) 96,15%	
ANA reagente (2^a amostra)		<0,0001
Sim	(2) 7,69%	
Não	(24) 92,31%	
Padrão ANA		
Nuclear	(2) 7,69%	
Citoplasmático	(1) 3,85%	

Tabela 2 - Perfil de anticorpos antinucleares (ANA) de pacientes com Covid-19 internados no HUOP/ Cascavel-PR