



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

**CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ECOLOGIA E
BIODIVERSIDADE**

**PERFIL GENOTÍPICO DO COMPLEXO HLA E DESCRIÇÃO DE FATORES
CLÍNICOS DE PACIENTES INTERNADOS EM ENFERMARIA POR COVID-19 NA
REGIÃO DE FOZ DO IGUAÇU**

PEDRO HENRIQUE GRIGNET

Foz do Iguaçu
2022



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

**CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ECOLOGIA E
BIODIVERSIDADE**

**PERFIL GENOTÍPICO DO COMPLEXO HLA E DESCRIÇÃO DE FATORES
CLÍNICOS DE PACIENTES INTERNADOS EM ENFERMARIA POR COVID-19 NA
REGIÃO DE FOZ DO IGUAÇU**

PEDRO HENRIQUE GRIGNET

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia Gross

Foz do Iguaçu
2022

PEDRO HENRIQUE GRIGNET

**PERFIL GENOTÍPICO DO COMPLEXO HLA E DESCRIÇÃO DE FATORES
CLÍNICOS DE PACIENTES INTERNADOS EM ENFERMARIA POR COVID-19 NA
REGIÃO DE FOZ DO IGUAÇU**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof. Dra. Maria Claudia Gross
UNILA

Prof. (Titulação) (Nome do Professor)
(Sigla da Instituição)

Prof. (Titulação) (Nome do Professor)
(Sigla da Instituição)

Foz do Iguaçu, 16 de dezembro de 2022.

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Pedro Henrique Grignet

Curso: Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade.

	Tipo de Documento
(X.) graduação	(.....) artigo
(.....) especialização	(.....) trabalho de conclusão de curso
(.....) mestrado	(.....) monografia
(.....) doutorado	(.....) dissertação
	(.....) tese
	(.....) CD/DVD – obras audiovisuais
	(.....) _____

Título do trabalho acadêmico: PERFIL GENOTÍPICO DO COMPLEXO HLA E DESCRIÇÃO DE FATORES CLÍNICOS DE PACIENTES INTERNADOS EM ENFERMARIA POR COVID-19 NA REGIÃO DE FOZ DO IGUAÇU

Nome do orientador(a): Prof. Dra. Maria Claudia Gross

Data da Defesa: ____ / ____ / ____

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a): Pedro Henrique Grignet

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons* **Licença 3.0 Unported**.

Foz do Iguaçu, 16 de dezembro de 2022.

Assinatura do Responsável

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero dizer sou eternamente grato aos meus queridos avós Ernesto e Nilda por todo o amor, carinho e cuidado que sempre me deram de forma genuína e incondicional. Sou grato por todo o apoio, encorajamento e lições que recebi dos meus avós durante toda a minha vida. Eles são a razão de tudo aquilo que eu sou e serei. Eu os amo infinitamente e tudo o que eu desejo é os ver orgulhosos e felizes com a minha caminhada e por agir e ser da forma como eles me ensinaram.

Quero agradecer ao meu querido pai e minha querida mãe por tudo que já fizeram por mim, por todo o carinho e afeto, por todos os momentos de reencontro, os momentos de diversão, mas principalmente por nunca sempre me lembrarem, mesmo com o tempo e com a distância, o quanto eu os amo e quanto me amam de volta.

Também quero muito agradecer as minhas três irmãs, as três Marias, que eu amo absolutamente e que sempre serão minhas irmãzinhas, não importa o quanto cresçam.

Agradeço também a minha avó Maria por sempre me tratar com tanto carinho, me contar histórias incríveis e por sempre afirmar o quanto me ama. Eu te amo!

Agradeço aos meus tios e tias por todos os momentos em família. Agradeço à minha tia Lia, por não ser apenas a melhor tia mundo, mas também a minha terceira mãe que eu tanto amo. Agradeço ao meu tio Rodrigo, por todas as coisas fantásticas que me ensinou e por pelos conselhos que mudaram minha forma de ver o mundo várias vezes. Agradeço ao meu tio Cláudio por ter toda a diversão e aventuras radicais que enfrentamos. Agradeço também a todos os meus primos e primas pelos momentos divertidos, pela companhia e principalmente pela amizade que sempre tivemos.

Agradeço também aos meus amigos Augusto, Osmair, Luciano, Lucas e Gabriel por sempre estarem ao meu lado desde a infância, serem sempre leais e o melhor tipo de amigos que alguém pode desejar. Para mim vocês são e sempre serão meus irmãos.

Agradeço aos meus amigos da faculdade Allan e Giovanni por terem tornado divertidos e leves até os momentos mais difíceis do curso. Obrigado por terem sempre me ajudado, mesmo quando eu estava perdido no meio das disciplinas.

Agradeço a Gabi, por todas as conversas excelentes, por sempre animar e melhorar o meu humor falando coisas boas e sempre me mostrando o lado positivo. E também, por ter sido a minha dupla no primeiro trabalho em grupo que fiz durante o curso e tinha vergonha de falar com qualquer pessoa.

Agradeço muito a Anto, Pauli, e Juli por serem excelentes amigas, por toda a

ajuda e momentos legais e difíceis que passamos durante o curso. Ainda vamos tomar muitos litros de açai!.

Agradeço também ao Samuel por ser um colega de trabalho tão dedicado, por ter uma maneira de trabalhar tão profissional e por ter me ajudado inúmeras vezes.

Agradeço ao professor Leonardo por ter sido um dos melhores professores que já tive e por ter me mostrado o quanto a biologia era realmente o caminho que eu deveria seguir. Muito obrigado!

Agradeço a professora Thatiana, por ser uma professora e amiga extraordinária e ter confiado em mim desde o início. Obrigado por mostrar o meu rumo na biologia quando eu estava perdido.

E por fim agradeço a minha orientadora Maria Cláudia, por ter confiado e em mim mesmo com todos os problemas e por sempre estar disposta a ajudar, mesmo nas situações mais difíceis.

RESUMO

A pandemia de COVID-19 causou grandes mudanças no estado socioeconômico mundial, não apenas afetando as dinâmicas econômicas e interações sociais, como também prejudicando os sistemas de saúde e causando milhões de fatalidades. Nesse cenário trágico e complexo, conhecer o comportamento da doença, seus mecanismos biológicos e os fatores que podem influenciar a sua expressão é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficientes. Neste contexto, este estudo teve como objetivo verificar o perfil genotípico do complexo HLA, um componente genético crucial do sistema imunológico, de pacientes acometidos pela COVID-19 que foram internados na enfermaria do Hospital Municipal Padre Germano Lauck em Foz do Iguaçu através de sequenciamento de DNA e também descrever as características clínicas desses pacientes incluindo idade, sexo, peso e a presença de comorbidades. Os dados foram obtidos através de prontuários eletrônicos, preservando a identidade dos pacientes. Foram identificados grupos alélicos de HLA classe I locus B de 19 pacientes, internados de outubro a novembro de 2020. Os grupos alélicos B*44 e B*15 apresentaram maior frequência nestes pacientes. A média de idade dos internados foi de 67,7 anos, sendo que a média de dias na enfermaria de 8,2 dias e 74% dos desfechos foi de alta. Os cinco pacientes que foram a óbito eram portadores de hipertensão arterial sistêmica e quatro destes também eram diabéticos.

Palavras-chave: COVID-19; Antígeno leucocitário humano; genótipo; perfil clínico.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic has caused major changes in the world's socio-economic state, not only affecting economic dynamics and social interactions, but also undermining health systems and causing millions of fatalities. In this tragic and complex scenario, understanding the behavior of the disease, its biological mechanisms, and the factors that can influence its expression is essential for the development of effective strategies. In this context, the objective of this study was to verify the genotypic profile of the HLA complex, a crucial genetic component of the immune system, of COVID-19 patients hospitalized in the Municipal Hospital Padre Germano Lauck in Foz do Iguaçu through DNA sequencing, and also to describe the clinical characteristics of these patients including age, sex, weight, and the presence of comorbidities. The data were obtained through electronic medical records, preserving the identity of the patients. In this preliminary study, the HLA class I locus B allelic groups of 19 patients hospitalized from October to November 2020 were identified. The B44 and B15 allelic groups had the highest frequency in these patients. The average age of the hospitalized patients was 67.7 years, with an average of 8.2 days in the hospital ward and 74% of the outcomes being discharge. The five patients who died were carriers of systemic hypertension and four of these were also diabetic.

Keywords: COVID-19; Human leukocyte antigen; genotype; clinical profile.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 COVID-19	10
1.2 ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO – HLA.....	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 METODOLOGIA	14
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	14
3.2 COLETA DE DADOS E SELEÇÃO DOS PACIENTES.....	14
3.3 EXTRAÇÃO DE DNA DAS AMOSTRAS.....	14
3.4 SEQUENCIAMENTO DE DNA.....	15
3.5 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS.....	15
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DESCRITIVA.....	15
4 RESULTADOS	17
4.1 PERFIL GENOTÍPICO E DADOS CLÍNICO DOS PACIENTES SELECIONADOS.....	17
4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
5 DISCUSSÃO	20
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1 INTRODUÇÃO

1.1 COVID-19

A pandemia de Coronavírus (COVID-19), foi oficialmente declarada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020, com epicentro provável na cidade de Wuhan na China com suas causas relacionadas ao vírus SARS-CoV-2, patógeno este pertencente à família Coronaviridae, (SINGH *et al.*, 2021).

Os primeiros casos confirmados na cidade de Wuhan ocorreram entre novembro e dezembro de 2019, sendo que o primeiro caso no Brasil foi confirmado em fevereiro de 2020. Após um ano, mais de 11 milhões casos já haviam sido confirmados no Brasil, com cerca de 270 mil óbitos e após dois anos os números de óbitos já haviam superado 650 mil (WORLDMETERS, 2022). Contudo, em abril de 2022, com o avanço da vacinação do país, cerca de 80% da população brasileira já estava parcialmente imunizada e 37% totalmente imunizada (MATHIEU *et al.*, 2022).

A COVID-19 expressa diferentes quadros de sintomas e níveis de gravidade entre os infectados. Os casos podem variar entre assintomáticos, em que nenhum sintoma se manifesta, casos leves com ocorrência de tosse seca, cefaleia, congestão nasal e fadiga até casos mais graves indicando pneumonia como febre, respiração curta, dispneia e insuficiência respiratória com necessidade de internação com respiração mecânica, podendo resultar em óbito (XAVIER *et al.*, 2020).

Uma das características da COVID-19 que contribui para progressões mais graves é relacionado a descarga de citocinas inflamatórias em resposta à presença do vírus no parênquima pulmonar que em situações mais graves geram significativas alterações que podem impossibilitar a capacidade ventilatória de ocorrer de forma adequada (XAVIER *et al.*, 2020). A COVID-19 possui um padrão de secreção de citocinas heterogêneo que necessita de investigação detalhada (HUANG *et al.*, 2020).

Estudos mostram que aproximadamente 5% dos casos de COVID-19 envolvem a internação da pessoa adoecida. Esta porcentagem resulta, considerando a quantidade de casos e a velocidade da transmissão, em um número muito alto de pacientes internados em períodos muito curtos causando a superlotação de hospitais e a falta de recursos para tratar os doentes (ISER *et al.*, 2020). Ao longo da pandemia, a superlotação dos hospitais foi um dos principais desafios logísticos enfrentados devido ao fato de que, em um cenário onde todos os leitos se encontram ocupados, as internações por acidentes, cirurgias de emergência, e

o tratamento de outros diversos problemas de saúde são severamente prejudicados (BRASIL, 2021). Com este quadro epidêmico relacionado à superlotação dos sistemas de saúde a COVID-19 acabou causando vítimas de forma indireta.

A gravidade dos sintomas da COVID-19 é multifatorial, entre eles está a faixa etária dos indivíduos infectados, onde indivíduos com idades mais avançadas demonstram ser mais prevalentes e correm maior risco de desenvolver formas mais graves da doença. Evidências demonstram que outro fator importante que determina a gravidade da expressão da doença são comorbidades incidentes, como obesidade, hipertensão e diabetes (ISER *et al.*, 2020). A identificação destas comorbidades em pacientes com COVID-19, inclusive por serem questões de saúde relativamente comuns na população e principalmente entre indivíduos com mais de 60 anos, é extremamente importante para que o tratamento seja feito de maneira assertiva com redução de riscos e danos ao portador da doença.

Contudo, além destes fatores, há também os fatores genéticos das populações e indivíduos que precisam ser avaliados. Esses fatores genéticos podem influenciar indiretamente no estadiamento e progressão da doença como em casos que exista a presença de comorbidades congênitas, ou diretamente na maneira como o organismo reconhece e produz uma resposta imunológica diante da infecção pelo SARS-CoV-2 (ALSAIED *et al.*, 2020). Um dos elementos que regulam essa interação vital entre o organismo e o patógeno é o complexo gênico antígeno leucocitário humano (HLA).

1.2 ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO - HLA

O complexo HLA, que está localizado no braço curto do cromossomo 6, é um conjunto de genes que codificam proteínas de superfície celular que tem a principal função de apresentar peptídeos de antígenos ou da própria célula provenientes do citosol ou do meio extracelular para células de defesa. Após essa apresentação das sequências peptídicas as células de defesa iniciam a resposta imunológica específica e adequada contra o agente que será combatido. Os genes que compõem o complexo HLA são divididos em três classes: I, II e III. Os genes HLA classe I são responsáveis pela codificar as proteínas HLA-A, -B e -C, sendo que estas proteínas estão presentes em todas as células nucleadas do organismo e são responsáveis por essa função crucial de apresentação de peptídeos de origem viral (KLEIN & SATO, 2000)

Os genes do complexo HLA apresentam o maior número de polimorfismos genéticos observados em humanos. Esta enorme quantidade de alelos é provavelmente

resultado da corrida evolutiva entre os inúmeros agentes infecciosos e as defesas imunológicas das populações ao longo da história (BORGHANS; BELTMAN; DE BOER, 2004). O *locus* HLA-B possui mais de 3000 alelos conhecidos e pode ser considerado como hiperpolimórfico ao ser comparado com outros genes em humanos (ROBINSON *et al.*, 2015). Porém, essa alta variabilidade também pode ser notada nos vírus e suas altas taxas de mutação características (DUFFY, 2018). Essa alta variação nos genes HLA gera o interesse em verificar se as diferenças nos perfis genéticos dos indivíduos podem resultar em respostas imunológicas menos ou mais eficientes contra o SARS-CoV-2, podendo estar relacionadas com as expressões mais leves até as mais graves da COVID-19 (LANGTON *et al.*, 2021).

Estudos até o momento indicam proteínas codificadas pelos alelos HLA possuem capacidades diferentes de se ligarem aos peptídeos do SARS-CoV-2. O alelo HLA-B*46:01 aparenta proporcionar maior vulnerabilidade à COVID-19 devido a sua baixa afinidade com peptídeos de SARS-CoV-2 e de SARS-CoV similares, resultando na apresentação de poucos peptídeos. Porém, o alelo HLA-B*15:03 mostrou maior capacidade de apresentação de peptídeos altamente conservados entre os coronavírus humanos, sugerindo uma possível imunidade por proteção cruzada (NGUYEN *et al.*, 2020). Outro estudo, realizado na Itália, também apresentou evidências de que as diferenças no perfil HLA dentro populações podem influenciar na incidência e mortalidade regionais (PISANTI *et al.*, 2020).

Os genes HLA são descritos como determinantes na indução do perfil de citocinas produzidas em decorrência da apresentação de antígenos (STERN & CALVO-CALLE, 2009). Essa característica vai ao encontro com a chamada “tempestade de citocinas” constatada nos casos mais graves de infecção por SARS-Cov-2 que muitas vezes resulta na hiperinflamação dos tecidos pulmonares e conseqüentemente em lesões no tecido (RAGAB *et al.*, 2020). É possível que algumas variantes alélicas do complexo HLA sejam mais suscetíveis ao desencadeamento de respostas imunológicas exageradas. Se essa relação for constatada, identificar o perfil genético de pacientes pode ajudar a antecipar como o organismo irá reagir frente a infecção e sua propensão para quadros mais severos de inflamação.

Desse modo, considerando a importância dos fatos apresentados, a proposta deste estudo é promover o levantamento de dados clínicos de pacientes acometidos por COVID-19 assim como seus perfis genotípicos para o complexo HLA B, buscando contribuir para o conhecimento sobre essa grave doença que afeta todo o mundo de diversas formas.

2 OBJETIVOS

2.2 OBJETIVO GERAL

Descrever os fatores clínicos dos pacientes acometidos por COVID-19 internados na enfermaria de um Hospital Público na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil e verificar o perfil genotípico do complexo HLA desses pacientes.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar os fatores clínicos relacionados aos pacientes selecionados para o estudo através da plataforma de dados de prontuários do hospital;
- Verificar quais alelos do complexo HLA estão presentes nos pacientes selecionados para o estudo;
- Comparar os padrões genotípicos obtidos neste estudo com os achados bibliográficos sobre HLA relacionados com a COVID-19.

3 METODOLOGIA

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto faz parte do projeto "Perfil da população do Oeste Paranaense acometido de Síndrome Respiratória Aguda Grave entre 2020 a 2022", aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, CAAE 36189220.3.0000.8527, Número do Parecer: 4.250.900.

3.2 COLETA DE DADOS E SELEÇÃO DOS PACIENTES

Todos os dados clínicos dos pacientes foram adquiridos através da plataforma de gestão hospitalar TASY (Koninklijke Philips N.V, Inc., Amsterdam, NL), onde foi possível verificar os prontuários eletrônicos cadastrados de cada paciente (n=19), no período de outubro a novembro de 2020. A partir dos prontuários de cada paciente foram registradas informações sobre idade, sexo, data da internação, motivo da internação, comorbidades, sintomas, características físicas, evoluções, tempo total de internação e desfecho do paciente. Esses dados foram elencados, revistos e organizados em planilhas para a fase de análises laboratoriais.

Para este estudo foram elegidos apenas os pacientes que deram entrada no Hospital Municipal Padre Germano Lauck por suspeita de COVID-19 e que testaram positivo na detecção do SARS-CoV-2. Pacientes que deram entrada por outras razões, mas que acabaram desenvolvendo a doença durante a internação não foram selecionados.

3.3 EXTRAÇÃO DE DNA DAS AMOSTRAS

A extração do ácido desoxirribonucleico (DNA) foi realizada a partir do sangue coletado e armazenados em tubos contendo anticoagulante EDTA, dos pacientes internados na enfermaria. Para o procedimento de extração foram empregados os protocolos utilizados na rotina do laboratório de Ciências Médicas da Unila que usa o kit comercial de extração *Geno Plus Mini* VIOGENE® e segue as recomendações do fabricante. O protocolo de extração consiste na lise das células do sangue através de buffers juntamente com a enzima proteinase K para digerir elementos proteicos auxiliando na purificação. Em

seguida, a amostra passa por etapas de precipitação e lavagem para purificar o DNA. Essa purificação é realizada através da centrifugação do material em colunas. Por fim, o material é eluído em tampão TE e armazenado em uma temperatura de -4°C.

A quantificação do DNA extraído de cada amostra e a verificação da pureza do material foram realizadas através do espectrofotômetro NanoDrop ND2000 (Thermo Fischer Inc., Waltham, MA, EUA). Essa verificação é importante para garantir que o material tem a qualidade necessária para a realização das etapas seguintes do estudo.

3.4 SEQUENCIAMENTO DE DNA

O sequenciamento do material extraído foi realizado com o uso do kit *SeScore Sequencing* GSSP (One Lamda, Inc), tendo como alvo os éxons de HLA classe I *loci* B. A amplificação específica desses éxons foi feita seguindo o protocolo fornecido pela fabricante do kit, consistindo na amplificação por PCR e purificação do material. Em seguida, as amostras passaram pela reação de sequenciamento, foram purificadas novamente e então seguiram para a o sequenciamento no sequenciador automático ABI 3500® da Applied Biosystems.

3.5 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS

Os resultados foram analisados no software *uTYPE Dx HLA Sequence Analysis* (One Lamda, Inc). Nele é possível fazer as edições necessárias para análise das sequências, e com estes arranjos o software identifica os alelos da amostra ao comparar as sequências obtidas com um banco de dados fornecido pela empresa. Após a identificação dos alelos de cada amostra, foram selecionados para as análises apenas as sequências que não apresentavam ambiguidades.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DESCRITIVA

Para a análise estatística descritiva foi utilizado o programa PAST 4.06b. Realizaram-se análises univariadas de média, mediana e porcentagem com os dados dos pacientes da enfermaria. Para a comparação entre as variáveis sobre: idade, peso, Índice de Massa Corporal (IMC), tempo de internação na enfermaria dos pacientes e gênero (homens,

mulheres) foi aplicado o Teste t de Student e para os dados de óbitos e presença de comorbidades foi aplicado o Teste qui-quadrado de Pearson.

4 RESULTADOS

4.1 PERFIL GENOTÍPICO E DADOS CLÍNICO DOS PACIENTES SELECIONADOS

Com a coleta de dados a partir dos prontuários dos pacientes com COVID-19 que foram internados na enfermaria foi possível estabelecer um perfil para cada paciente com as principais comorbidades e outros fatores descritos na bibliografia como elementos de importante influência na evolução e no desfecho de pacientes acometidos pela doença (ROD; OVIEDO-TRESPALACIOS; CORTES-RAMIREZ, 2020). Ao todo, 19 pacientes da enfermaria foram selecionados por atenderem os protocolos de internação e estarem de acordo com os requisitos estabelecidos pelo estudo.

Com a análise das sequências geradas e analisadas pelo software obteve-se os alelos correspondentes de cada paciente analisado. Cada indivíduo apresenta um alelo de cada grupo alélico do *locus* B. A relação dos pacientes, os dados clínicos e o perfil genotípico podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1: Perfil genotípico e dados clínicos dos pacientes internados na enfermaria do Hospital Municipal Padre Germano Lauck acometidos por COVID-19.

Pacientes (n=19)	Alelos Grupo 1	Alelos Grupo 2	Sexo	Idade	Tempo na enfermaria (dias)	Desfecho	IMC Kg/m ²	HAS	Diabetes
1	B*14	B*44	F	68	7	ALTA	44	Sim	Sim
2	B*07	B*44	F	67	6	ALTA	20,9	Não	Não
3	B*07	B*53	F	55	9	ALTA	20,3	Sim	Sim
4	B*18	B*18	F	62	5	ALTA	21,2	Não	Não
5	B*15	B*57	F	67	3	ALTA	20,3	Não	Não
6	B*49	B*51	F	78	6	ALTA	20,7	Sim	Sim
7	B*15	B*44	F	92	14	ÓBITO	27,2	Sim	Não
8	B*15	B*44	F	59	15	ALTA	24,3	Sim	Sim
9	B*35	B*50	M	59	11	ALTA	24,6	Sim	Sim
10	B*15	B*35	M	51	6	ALTA	22,8	Não	Não
11	B*40	B*51	M	28	2	ALTA	22,7	Não	Não
12	B*18	B*44	M	71	5	ALTA	22,5	Não	Não
13	B*15	B*15	M	77	9	ÓBITO	22	Sim	Sim
14	B*07	B*14	M	88	12	ÓBITO	20,7	Sim	Sim
15	B*40	B*44	M	81	15	ALTA	24,8	Sim	Não
16	B*08	B*48	M	57	5	ÓBITO	28,2	Sim	Sim
17	B*35	B*44	M	73	5	ALTA	23,1	Não	Não
18	B*52	B*58	M	81	5	ALTA	22,8	Sim	Sim
19	B*39	B*52	M	74	16	ÓBITO	22,8	Sim	Sim

Legenda: F: feminino; M: masculino; IMC – índice de massa corporal; HAS - hipertensão arterial sistêmica.

Fonte: o autor, 2022.

4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada em um primeiro momento com os dados de todos os pacientes para estabelecer um panorama geral dos perfis avaliados. Determinou-se a média de idade entre todos os pacientes, a média de peso, média do IMC e o tempo médio em que ficaram hospitalizados. Além disso foi estabelecida porcentagem dos pacientes que possuem comorbidades em geral, os que possuem especificamente HAS, diabetes, e a porcentagem de óbitos (Tabela 2).

Tabela 2: Dados estatísticos descritivos dos pacientes selecionados para este estudo.

Número total de pacientes	19
Média Total de idade	67,7
Mediana da idade	68
Média do peso	66,9
Média do IMC	24 kg/m ²
Média de dias na enfermaria	8,2
Porcentagem com comorbidades	68,42%
Porcentagem com HAS	63,15%
Porcentagem com diabetes	52,63%
Número Total de Óbitos	5
Porcentagem de Óbitos	26,31%

Legenda: IMC – índice de massa corporal; HAS - hipertensão arterial sistêmica.

Fonte: o autor, 2022.

Posteriormente, foram realizadas análises com os mesmos parâmetros utilizando os dados dos pacientes do sexo masculino e feminino separadamente. Também foi calculado o valor de significância na variação dos valores entre os homens e mulheres (Tabela 3).

Foi estabelecido também a frequência em que cada um dos diferentes alelos ocorre entre os pacientes. A frequência de cada alelo pode ser vista na Tabela 4.

Tabela 3: Comparativo dos dados de pacientes homens e mulheres.

Parâmetros	Mulheres	Homens	P
Número total de pacientes	8	11	-
Média de idade total	68,5	67,3	0,864
Média do peso	65,8	67,7	0,795
Média do IMC	24,9	23,4	0,744
Média de dias na enfermaria	8,12	8,3	0,944
Número total de óbitos	1	4	0,243
Com comorbidades	6	7	0,598

Legenda: IMC – índice de massa corporal; P – nível de significância. Valores significantes: $p \leq 0,05$.

Fonte: O autor (2022)

Tabela 4: Frequência dos alelos observados nos pacientes

Alelos	Frequências
B*07	3
B*08	1
B*14	2
B*15	6
B*18	3
B*35	3
B*39	1
B*40	2
B*44	7
B*48	1
B*49	1
B*50	1
B*51	2
B*52	2
B*53	1
B*57	1
B*58	1

Fonte: O autor (2022)

5 DISCUSSÃO

Nos resultados quanto ao gênero, se observa a alta prevalência de comorbidades como a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e a diabetes mellitus (DM) entre os pacientes analisados, fato constatado pelos dados estatísticos para este parâmetro. Em números totais o grupo composto por mulheres com comorbidades foi maior que a dos homens, apesar deste dado não revelar significância. Tal fato corrobora com os achados de Gerbhard *et al.*, (2020) que inferem que a correlação de prevalência entre a infecção e os gêneros não se confirma.

Ao todo foram registrados cinco (5) óbitos entre os 19 pacientes (Tabela 2), e é válido ressaltar que todos aqueles que não possuíam comorbidades tiveram um desfecho de alta, enquanto que os cinco (5) que foram a óbito sofriam com HAS e quatro (4) destes também eram diabéticos. Essa associação entre comorbidades e o COVID-19 está de acordo com o estudo de Malta *et al.*, (2019) que reforçam a presença de alterações hematológicas significativas potencialmente fatais quando relacionada ao curso da patologia associadas a DM e HAS.

Outro fator considerado nas análises realizadas foi o IMC, que é relatado em trabalhos que avaliam sua relação com o prognóstico da COVID-19 como um agente crítico para a evolução apresentada pelos pacientes acometidos pela doença (YU *et al.*, 2021; KWOK *et al.*, 2020).

Neste estudo o IMC médio entre todos os pacientes foi de 24 kg/m², um índice que é classificado como normal, porém, é válido destacar o caso dos pacientes 1, 7 e 16, pois foram os únicos que apresentaram valores para o IMC classificados como acima do normal (acima de 24,9), sendo que os pacientes 7 e 16 tiveram óbito como desfecho. Esse fato indica uma tendência de relação positiva entre quadros graves de COVID-19 e valores elevados para o IMC. Cabe ressaltar que essa constatação tem suporte em dados de pacientes com infecção grave da doença que teve a presença de obesidade como um dos fatores associados, entre eles a hiper-reatividade do sistema de resposta imune, a presença de fatores inflamatórios sistêmicos e a redução significativa da capacidade respiratória (SATTAR; MCINNES; MCMURRAY, 2020).

Também pôde-se notar a partir dos resultados o fato de que, apesar de as pacientes mulheres apresentarem um percentual maior de comorbidade e uma média de peso maior do que a observada entre os homens, apenas 12,5% das mulheres foram a óbito, já entre

os homens a porcentagem de óbitos foi de 36,3% (Tabela 3). A análise estatística não demonstrou variância considerável neste fator, porém os números tendem a indicar mais óbitos entre pacientes do sexo masculino em números totais. A bibliografia sobre as diferentes taxas de mortalidade entre homens e mulheres acometidos pela COVID-19 demonstra que homens, apresentam mais sintomas, complicações e possuem maior risco de morte, principalmente se tiverem idade mais avançada (NGUYEN *et al.*, 2021; YANEZ *et al.*, 2020; BIENVENU *et al.*, 2020).

Porém, apesar dessa conhecida tendência entre os homens mais velhos, um dos pacientes analisados aqui mostra um caso divergente. O paciente 10 teve um desfecho de óbito em apenas 5 dias de internação, mesmo sendo um dos mais jovens do grupo estudado, com 57 anos (Tabela 1). Contudo, esse caso, assim como os demais, não deve ser analisado com apenas um fator em vista. Esse paciente, apesar de se ser relativamente mais jovem, era hipertenso e diabético, possuía sobrepeso de grau I, além de ser ex-fumante. Casos como este reforçam a importância das comorbidades sobre a evolução dos pacientes internados em decorrência da COVID-19.

Contrastando com o caso paciente 10, o paciente dois (2) de 68 anos de idade, cujo quadro incluía obesidade grau III, HAS, diabetes e que evoluiu para alta após 7 dias de internação (Tabela 1). Situações contrastantes como essa exigem a avaliação de mais fatores que possam explicar as diferentes reações contra a doença. Um dos possíveis fatores que podem explicar isso é a conhecida diferença entre o sistema imunológico de homens e mulheres, em que mulheres em geral apresentam respostas imunológicas mais eficientes contra infecções do que homens. Uma das causas dessa diferença é o efeito modulador dos hormônios femininos sobre o sistema imunológico promovendo resposta coordenadas. Contudo, vale ressaltar que essa maior eficiência pode variar dependendo do patógeno e essas diferenças também resultam em um maior risco de doenças autoimunes entre as mulheres (BIENVENU *et al.* 2020; OERTELT-PRIGIONE, 2012; KLEIN & FLANAGAN, 2016). Além da condição imunológica a investigação dos diferentes alelos do complexo HLA e sua relação com a evolução dos pacientes pode ser um fator chave para explicar a grande variação dos organismos ao responder ao processo infeccioso e como a fisiopatologia da doença e seu curso produz sintomatologia distinta em cada um dos indivíduos afetados (LANGTON *et al.*, 2021). Com isso, se torna evidente a necessidade de utilizar dados como os levantados aqui para a realização de análises estáticas mais robustas que demonstrem relações significativas entre a genética e a evolução do quadro clínico dos pacientes.

Em relação aos alelos verificados no estudo, os que ocorrem com maior frequência entre os pacientes são os alelos B*44 e B*15 (Tabela 4). Estudos envolvendo o alelo B*44 indicam que ele está associado positivamente com a incidência da doença (CORREALE *et al.*, 2020; MIGLIORINI *et al.* 2021). Possivelmente devido a uma menor eficiência de ligação aos peptídeos do SARS-CoV-2, este alelo tende a ser mais prevalente nos casos de COVID-19 (ITURRIETA-ZUAZO *et al.*, 2020). Isso poderia explicar a frequência mais alta desse alelo entre os pacientes neste estudo.

A bibliografia disponível atualmente indica que a prevalência do alelo B*15 está relacionada positivamente com casos assintomáticos da COVID-19 (AUGUSTO *et al.*, 2021), também há evidências de que esse alelo esteja relacionado com manifestações leves da doença, talvez devido a uma maior afinidade de ligação com os peptídeos do vírus (ITURRIETA-ZUAZO *et al.* 2020). Porém, juntamente com evidências como esta é preciso considerar que o SARS-CoV-2 apresenta diversas variantes e é possível que alelos eficientes contra certas variantes podem não ser tão eficientes contra outras (AUGUSTO & HOLLENBACH, 2022).

Além dos alelos que apresentaram as frequências mais altas entre os pacientes, também podemos constatar um possível padrão ao compararmos a frequência dos alelos B*07 e B*35 observada neste estudo com a frequência destes mesmos alelos observada nos pacientes internados na UTI do Hospital Padre Germano Lauck durante o mesmo período em que os dados da enfermagem foram levantados. Entre os pacientes na UTI a frequência os alelos B*07 e B*35 é alta em relação ao observado nos pacientes da enfermaria Estes dados foram levantados paralelamente aos dados deste trabalho e ainda não foram publicados, portanto esta constatação segue apenas como uma perspectiva para estudos futuros

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Cada vez mais estudos estão encontrando evidências sobre como as diferentes formas de evolução da COVID-19 e as características genéticas dos acometidos estão relacionadas e podem ser um fator crítico para um enfrentamento mais eficiente da doença. Para isso, muitos dados específicos ainda precisam ser levantados e analisados para que conclusões mais robustas sejam alcançadas. Este trabalho contribuiu nesse aspecto, agregando e descrevendo dados sobre as evoluções dos pacientes e seus alelos HLA, dados estes que, em conjunto com futuros estudos, podem ajudar na montagem de um panorama mais claro sobre os mecanismos da COVID-19.

Entre as análises realizadas neste trabalho estão os dados estatísticos descritivos e comparações entre diferentes grupos na amostra. Porém, vale ressaltar que um maior número amostral de pacientes pode garantir maior significância e robustez estatística para cálculos como os realizados aqui. Inclusive, outras análises estatísticas além das descritivas também podem ser aplicadas em dados como estes.

Portanto, como perspectiva para trabalhos futuros, os dados aqui levantados podem ser utilizados para estabelecer possíveis relações estatísticas entre o perfil clínico e genotípico dos pacientes, assim como podem ser comparados com os dados de pacientes em diferentes situações, locais e períodos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSAIED, Tarek *et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic implications in pediatric and adult congenital heart disease. **Journal of the American Heart Association**, v. 9, n. 12, p. e017224, 2020.

AUGUSTO, Danillo G. *et al.* HLA-B* 15: 01 is associated with asymptomatic SARS-CoV-2 infection. **MedRxiv**, 2021.

AUGUSTO, Danillo G.; HOLLENBACH, Jill A. HLA variation and antigen presentation in COVID-19 and SARS-CoV-2 infection. **Current opinion in immunology**, p. 102178, 2022.

BIENVENU, Laura A. *et al.* Higher mortality of COVID-19 in males: sex differences in immune response and cardiovascular comorbidities. **Cardiovascular research**, v. 116, n. 14, p. 2197-2206, 2020.

BRASIL. FIOCRUZ. **Boletim extraordinário do Observatório Covid-19 aponta maior colapso sanitário e hospitalar da história do Brasil**. 2021. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/documento/boletim-extraordinario-do-observatorio-covid-19-aponta-maior-colapso-sanitario-e>. Acesso em: 10 dez. 2022.

BORGHANS, J. A. M.; BELTMAN, J. B.; DE BOER, R. J. MHC polymorphism under host-pathogen coevolution. **Immunogenetics**, v. 55, n. 11, p. 732–739, 2004.

CORREALE, Pierpaolo *et al.* HLA-B* 44 and C* 01 prevalence correlates with Covid19 spreading across Italy. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 15, p. 5205, 2020.

DUFFY, S. Why are RNA virus mutation rates so damn high? **PLoS Biology**, v. 16, n. 8, p. 1–6, 2018.

HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020.

GEBHARD, Catherine *et al.* Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in

Europe. **Biology of sex differences**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2020.

ISER, B. P. M. *et al.* Definição de caso suspeito da COVID-19: uma revisão narrativa dos sinais e sintomas mais frequentes entre os casos confirmados. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saude do Brasil**, v. 29, n. 3, p. e2020233, 2020.

ITURRIETA-ZUAZO, Ignacio *et al.* Possible role of HLA class-I genotype in SARS-CoV-2 infection and progression: A pilot study in a cohort of Covid-19 Spanish patients. **Clinical immunology**, v. 219, p. 108572, 2020.

KLEIN, J. A. N.; SATO, Akie. The HLA system. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 10, p. 702-709, 2000.

KLEIN, Sabra L.; FLANAGAN, Katie L. Sex differences in immune responses. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626-638, 2016.

KWOK, See *et al.* Obesity: a critical risk factor in the COVID-19 pandemic. **Clinical obesity**, v. 10, n. 6, p. e12403, 2020.

MALTA, Deborah Carvalho *et al.* Prevalência de diabetes mellitus determinada pela hemoglobina glicada na população adulta brasileira, Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, p. E190006. SUPL. 2, 2019.

LANGTON, D. J. *et al.* The influence of HLA genotype on the severity of COVID-19 infection. **HLA** 98 (1): 14–22. 2021.

MATHIEU, E. *et al.* "**Coronavirus Pandemic (COVID-19)**". Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/coronavirus>' [Online Resource], 2022. Disponível em: <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=BRA>. Acesso em: 05 dez. 2022.

MIGLIORINI, Filippo *et al.* Association between HLA genotypes and COVID-19 susceptibility, severity and progression: a comprehensive review of the literature. **European Journal of Medical Research**, v. 26, n. 1, p. 1-9, 2021.

NGUYEN, A. *et al.* Human leukocyte antigen susceptibility map for SARS-CoV-2. **medRxiv**, v. 94, n. 13, p. 1–12, 2020.

NGUYEN, Ninh T. *et al.* Male gender is a predictor of higher mortality in hospitalized adults with COVID-19. **PLoS One**, v. 16, n. 7, p. e0254066, 2021.

OERTELT-PRIGIONE, Sabine. The influence of sex and gender on the immune response. **Autoimmunity reviews**, v. 11, n. 6-7, p. A479-A485, 2012.

PISANTI, S. *et al.* Correlation of the two most frequent HLA haplotypes in the Italian population to the differential regional incidence of Covid-19. **Journal of Translational Medicine**, v. 18, n. 1, p. 1–16, 2020.

RAGAB, D. *et al.* The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. June, p. 1–4, 2020.

ROBINSON, J. *et al.* The IPD and IMGT/HLA database: Allele variant databases. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. D1, p. D423–D431, 2015.

ROD, J. E.; OVIEDO-TRESPALACIOS, Oscar; CORTES-RAMIREZ, Javier. A brief-review of the risk factors for covid-19 severity. **Revista de saude publica**, v. 54, 2020.

SATTAR, Naveed; MCINNES, Iain B.; MCMURRAY, John JV. Obesity is a risk factor for severe COVID-19 infection: multiple potential mechanisms. **Circulation**, v. 142, n. 1, p. 4-6, 2020.

SINGH, Devika; YI, Soojin V. On the origin and evolution of SARS-CoV-2. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 53, n. 4, p. 537-547, 2021.

STERN, L.; CALVO-CALLE, J. HLA-DR: Molecular Insights and Vaccine Design. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 28, p. 3249–3261, 2009.

WORDOMETERS. **Coronavirus Cases: Brazil**. 2022. Disponível em: <https://www.worldometers.info/coronavirus/country/brazil>. Acesso em: 03 dez. 2022.

XAVIER, A. R. *et al.* COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, p. 1–9, 2020.

YANEZ, N. David *et al.* COVID-19 mortality risk for older men and women. **BMC public health**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2020.

YU, Wanqi *et al.* Impact of obesity on COVID-19 patients. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 35, n. 3, p. 107817, 2021.