



# ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA PULMONAR DE CASOS FATAIS DE COVID-19 DE PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ

*Camila Dinegri Machado<sup>1</sup>, Elique Marques Rios Neto<sup>2</sup>, Rodrigo Vargas<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Medicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/ICETI-UniCesumar. camiladm@icloud.com

<sup>2</sup>Acadêmico do Curso de Medicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. ra-21169048-2@alunos.unicesumar.edu.br

<sup>3</sup>Orientador, Doutor, Docente no Curso de Medicina, UNICESUMAR. Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. Rodrigokockvargas@gmail.com

## RESUMO

Em 2020 a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a pandemia da COVID-19, causada pelo vírus Sars-Cov-2, inicialmente identificado pelo Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). O vírus tem grande afinidade pelo sítio ativo do receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA-2), que tem grande expressão no tecido pulmonar, dessa forma, geralmente o primeiro órgão a ser afetado é o pulmão, visto que a ligação com o receptor na membrana alveolar faz a internalização do vírus no organismo. A patogênese tem início nos efeitos diretos causados pela replicação viral e evolui para inflamação sistêmica e tempestade de citocinas, que causam danos mais duradouros nos sistemas orgânicos, como lesão endotelial e fibrose pulmonar. Devido aos impactos causados pela gravidade da doença e suas complicações, este estudo tem como objetivo analisar as amostras pulmonares obtidas de casos fatais de COVID-19 atendidos no Hospital Universitário de Maringá (HUM), identificando as alterações histopatológicas e quantificando a expressão de marcadores de apoptose. A metodologia utilizará tecidos armazenados em parafina no biobanco do laboratório de Patologia Geral da Universidade Estadual de Maringá – PR, com a utilização da coloração de hematoxilina e eosina e a marcação de TGFβRI pela técnica de imunohistoquímica, analisados no microscópio óptico acoplado a câmera com sistema de documentação de imagens (Opticam). Assim, espera-se compreender melhor a fisiopatologia da COVID-19 e fomentar estudos para desenvolvimento de futuras técnicas diagnósticas e terapêuticas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Imuno-Histoquímica; Infecções por SARS-CoV-2; Lesão Pulmonar Aguda.

## 1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, o Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) emitiu um comunicado sobre casos de pneumonia que, até então, eram de causa desconhecida. Posteriormente o vírus foi nomeado de Síndrome Respiratória Aguda Severa do Coronavírus 2 (Sars-Cov-2), causador da doença COVID-19 (MERAD et al, 2022). Desde então o mundo precisou se adequar à nova realidade, lidando com a enfermidade que, em meados de março de 2023, já havia afetado mais de 700 milhões de pessoas e causado cerca de 6,8 milhões de mortes (WHO, 2023).

No processo infeccioso da COVID-19, o primeiro sistema a ser afetado é o respiratório. Esse tropismo se deve ao tecido pulmonar apresentar alta expressão de receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA-2) na membrana alveolar. Devido ao Sars-Cov-2 ter grande afinidade ao sítio ativo da ECA-2, o vírus utiliza esta associação como forma de entrada no organismo. Esse fato também explica sua ação viral em outros órgãos que expressam o mesmo receptor (ACHUA et al, 2021).

Com a infecção, a patogênese da COVID-19 pode ser dividida em duas fases: na fase primária ocorre a multiplicação viral, em que a replicação causa danos diretos aos tecidos. A gravidade desta fase inicial determina a progressão para fase secundária e sua intensidade (MERAD et al, 2022; CAMPOROTA et al, 2022).



A inflamação começa logo no início da infecção, com infiltrado linfocitário no nível alveolar que progride para deposição intra-alveolar de fibrina e lesão na microvasculatura, ao mesmo tempo em que se inicia a hiperplasia de células alveolares do tipo 2 e os capilares intersticiais formam redes mais densas (MERAD et al, 2022; CAMPOROTA et al, 2022).

A fase secundária é caracterizada por danos consequentes do fenômeno conhecido como tempestade de citocinas, onde o recrutamento das células imunes produz resposta inflamatória local e sistêmica. Assim, nesse ponto da doença, o dano causado pela inflamação se sobrepõe aos efeitos diretos do vírus (MERAD et al, 2022; CAMPOROTA et al, 2022).

Isso pôde ser comprovado através de autópsias de pacientes falecidos com COVID-19, que demonstraram pouca infecção viral ativa, porém com grandes infiltrados de células imunes, sugerindo-se que a falência de órgãos ocorra pela exacerbada atividade do sistema de defesa, em conjunto com danos vasculares (MERAD et al, 2022; MCELVANEY et al, 2020).

A progressão para formas mais graves e potencialmente fatais se deve a diversos fatores somados entre si, tais como: alta carga viral, defeitos na resposta IFN-1, diminuição da imunidade inata e aumento da imunidade adaptativa. Além disso, comorbidades associadas podem influenciar nesse processo, particularmente hipertensão arterial sistêmica, obesidade, diabetes mellitus do tipo 2 e doença renal crônica, visto que essas condições prejudicam a rapidez e a qualidade da resposta inflamatória, ocasionando assim atraso na eliminação do vírus, o que aumenta o tempo da inflamação característica e amplia os danos (MERAD et al, 2022).

Por fim, com a progressão da enfermidade ocorre alteração na perfusão pulmonar, hiper-inflamação, hipercoagulabilidade e embolia pulmonar, seguida por edema inflamatório crescente que evolui para consolidação parenquimatosa progressiva a qual, posteriormente, pode progredir para fibrose pulmonar irreversível (CAMPOROTA et al, 2022).

Assim, o presente estudo, por meio da análise histopatológica e imunohistoquímica das alterações causadas pelo Sars-Cov-2, irá fornecer recursos que possam contribuir na compreensão da fisiopatologia da COVID-19, de modo com que estudos posteriores possam ser feitos, como forma de desenvolver métodos diagnósticos e práticas terapêuticas mais direcionados e eficazes.

Por fim, tem como objetivos analisar os achados histopatológicos de amostras pulmonares, obtidos por meio de biópsias, de pacientes falecidos por COVID-19 atendidos no Hospital Universitário de Maringá, assim como identificar as alterações histopatológicas pulmonares causadas, quantificar qualiquantitativamente a intensidade de cada alteração encontrada e identificar e quantificar a expressão de marcadores de apoptose nos tecidos por meio de análise imunohistoquímica.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os tecidos a serem utilizados foram obtidos por autópsia minimamente invasiva guiada por ultrassom, de casos fatais de COVID-19 do Hospital Universitário de Maringá (HUM), no período que compreende de novembro de 2020 até maio de 2021. Após passarem por processamento histológico, estão armazenados em blocos de parafina no biobanco do laboratório de Patologia Geral da Universidade Estadual de Maringá – PR.

A coleta e armazenamento das amostras foram aprovados pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa – COPEP/UEM, com número de protocolo: 38443420.6.0000.0104.

Os blocos de parafina com fragmentos de tecido pulmonar serão cortados em micrótomo de 3 a 4µm, de forma seriada, com dois a três cortes por lâmina, obtendo três



lâminas por amostra. Aos cortes serão aplicadas as colorações de hematoxilina e eosina (HE). Já a outra lâmina será utilizada para a realização da técnica de Imunohistoquímica, com o objetivo de marcar TGF $\beta$ RI nos tecidos por meio da utilização do anticorpo anti-TGF $\beta$ RI (TGFBR1 Polyclonal Antibody - PA5-81069 – Thermo Fisher Scientific). Posteriormente será feita a leitura e análise das lâminas no microscópio óptico.

### 3 RESULTADOS PARCIAIS

A leitura das lâminas de 48 pacientes internados no Hospital Universitário Regional de Maringá, possibilitou a identificação e categorização de alterações pulmonares causadas pela infecção por COVID-19.

Também foram coletadas informações dos pacientes como sexo, idade, início da sintomatologia, data do óbito, tempo de internação e dados clínicos. Vale ressaltar que nem todos tinham registros completos, dessa forma, alguns resultados serão com base em amostras parciais.

Dos 48 pacientes, 32 (66,6%) eram do sexo masculino e 16 (33,3%) do sexo feminino. Levando em conta a amostra de 40 pacientes, as idades variaram entre 15 e 96 anos, com a média de 67,55 anos, sendo que 67,5% eram idosos, em comparação com apenas 5% que tinham menos de 20. Já sobre o tempo de internação, com base em 42 pacientes, a variação foi entre 1 e 37 dias, em média 14 dias internados com 23 (54,7%) indivíduos tendo o tempo de internação maior que a média.

Em relação às comorbidades e hábitos de vida, foram analisadas informações de 40 pacientes, valendo destacar algumas de maior frequência: Hipertensão Arterial Crônica (47,5%); Diabetes Mellitus do Tipo 2 (32,5%); Tabagismo (20%); Doenças Cardíacas (15%); Doenças Pulmonares (12,5%) e Obesidade (12,5%). Além disso, 15% não apresentavam nenhuma comorbidade.

Durante a análise histopatológica foram identificadas as seguintes alterações pulmonares, com suas respectivas frequências: Espessamento das Paredes Alveolares (100%); Hiperplasia de Pneumócitos (100%); Células Descamadas (98%); Edema Pulmonar (96%); Infiltrado Polimorfonuclear (96%); Hemorragia (96%); Fibrose (94%); Membrana Hialina (94%); Infiltrado Mononuclear (94%); Pneumócitos Atípicos (77%); Trombo (45%). Cada alteração foi categorizada de acordo com sua intensidade, sendo intensidade 1 como forma leve, presente em menos de 25% do tecido pulmonar, intensidade 2 como forma moderada, presente entre 25% e 50% do tecido pulmonar e intensidade 3 como forma intensa, presente em mais de 50% do tecido pulmonar.

Posteriormente à categorização, notou-se que a alteração mais identificada e com maior porcentagem da forma intensa foi o espessamento das paredes alveolares, sendo 27% com a forma leve, 38% moderada e 35% intensa, portanto, é relevante levantar os aspectos clínicos dos 17 pacientes com espessamento intenso das paredes.

Analisando os dados deste recorte observa-se que 12 (70,5%) pacientes eram do sexo masculino e 5 (29,5%) do sexo feminino, a média do tempo de internação foi 16,25 dias, cerca de dois dias a mais que a média geral, variando entre 1 e 37 dias e a idade variou entre 46 e 96 anos, com média de 70 anos, sendo que 69,2% eram idosos.

Em relação às comorbidades e hábitos de vida, considerou-se 13 pacientes que continham registros. Destes, 5 (38,4%) tinham Hipertensão Arterial Crônica, 5 (38,4%) tinham Diabetes Mellitus do Tipo 2, 4 (30,7%) eram tabagistas e 2 (15,3%) tinham doenças pulmonares.

### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS



Conclui-se que a realização do presente trabalho faz-se relevante por conta do impacto mundial da infecção do COVID-19, somado ao considerável desconhecimento das alterações pulmonares causadas pela doença. Dessa forma, este trabalho espera contribuir para a elaboração de métodos diagnósticos e terapêuticos futuros.

## REFERÊNCIAS

MCELVANEY, Oliver J.; et al. Characterization of the Inflammatory Response to Severe COVID-19 Illness. **American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine**, [S.L.], v. 202, n. 6, p. 812-821, 15 set. 2020. American Thoracic Society.  
<http://dx.doi.org/10.1164/rccm.202005-1583oc>.

MERAD, Miriam; BLISH, Catherine A.; SALLUSTO, Federica; IWASAKI, Akiko. The immunology and immunopathology of COVID-19. **Science**, [S.L.], v. 375, n. 6585, p. 1122-1127, 11 mar. 2022. American Association for the Advancement of Science (AAAS).  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.abm8108>.

CAMPOROTA, Luigi; et al. Pathophysiology of coronavirus-19 disease acute lung injury. **Current Opinion In Critical Care**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 9-16, 13 dez. 2021. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/mcc.0000000000000911>.

ACHUA, Justin K.; et al. Histopathology and Ultrastructural Findings of Fatal COVID-19 Infections on Testis. **The World Journal Of Men'S Health**, [S.L.], v. 39, n. 1, p. 65, 2021. Korean Society for Sexual Medicine and Andrology.  
<http://dx.doi.org/10.5534/wjmh.200170>.

WHO. World Health Organization. Situação Epidemiológica, Painel do Coronavírus da OMS (COVID-19), acessado em 21/03/2023