

n.04
2020

Working Paper of Public Health

La serie di Working Paper of Public Health (WP) dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria è una serie di pubblicazioni online ed Open Access, progressiva e multi disciplinare in Public Health (ISSN: 2279-9761). Vi rientrano pertanto sia contributi di medicina ed epidemiologia, sia contributi di economia sanitaria e management, etica e diritto. Rientra nella politica aziendale tutto quello che può proteggere e migliorare la salute della comunità attraverso l'educazione e la promozione di stili di vita, così come la prevenzione di malattie ed infezioni, nonché il miglioramento dell'assistenza (sia medica sia infermieristica) e della cura del paziente. Si prefigge quindi l'obiettivo scientifico di migliorare lo stato di salute degli individui e/o pazienti, sia attraverso la prevenzione di quanto potrebbe condizionarla sia mediante l'assistenza medica e/o infermieristica finalizzata al ripristino della stessa.

Gli articoli pubblicati impegnano esclusivamente gli autori, le opinioni espresse non implicano alcuna responsabilità da parte dell'Azienda Ospedaliera "SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo" di Alessandria.

La pubblicazione è presente in: Directory of Open Access Journals (DOAJ); Google Scholar; Academic Journals Database;

Comitato Scientifico:

Prof. Roberto Barbato
Dott.ssa Manuela Ceccarelli
Dott. Diego Gazzolo
Dott.ssa Federica Grosso
Prof. Marco Krengli
Prof.ssa Roberta Lombardi
Prof. Leonardo Marchese
Prof. Vito Rubino
Dott. Gioel Gabrio Secco
Dott. Paolo Tofanini

Dott. Giacomo Centini
Dott. Gianfranco Ghiazza
Dott.ssa Daniela Kozel
Dott. Marco Ladetto
Dott. Antonio Maconi
Dott. Alessio Pini Prato
Dott.ssa Mara Scagni
Dott.ssa Maria Elena Terlizzi
Dott.ssa Roberta Volpini

Comitato editoriale:

Dott. Antonio Maconi
Dott. Alfredo Muni
Dott.ssa Marinella Bertolotti

Responsabile:

Dott. Antonio Maconi
telefono: +39.0131.206818
email: amaconi@ospedale.al.it

Segreteria:

Mariateresa Dacquino, Marta Betti,
Mariasilvia Como, Laura Gatti
telefono: +39.0131.206192
email: mdacquino@ospedale.al.it; lgatti@ospedale.al.it

Norme editoriali:

Le pubblicazioni potranno essere sia in lingua italiana sia in lingua inglese, a discrezione dell'autore. Sarà garantita la sottomissione di manoscritti a tutti coloro che desiderano pubblicare un proprio lavoro scientifico nella serie di WP dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria, purché rientrino nelle linee guida editoriali. Il Comitato editoriale verificherà che gli articoli sottomessi rispondano ai criteri editoriali richiesti. Nel caso in cui lo si ritenga necessario, lo stesso Comitato editoriale valuterà l'opportunità o meno di una revisione a studiosi o ad altri esperti, che potrebbero o meno aver già espresso la loro disponibilità ad essere revisori per

il WP (i.e. peer review). L'utilizzo del peer review costringerà gli autori ad adeguarsi ai migliori standard di qualità della loro disciplina, così come ai requisiti specifici del WP. Con questo approccio, si sottopone il lavoro o le idee di un autore allo scrutinio di uno o più esperti del medesimo settore. Ognuno di questi esperti fornirà una propria valutazione, includendo anche suggerimenti per l'eventuale miglioramento, all'autore, così come una raccomandazione esplicita al Comitato editoriale su cosa fare del manoscritto (i.e. accepted o rejected).

Al fine di rispettare criteri di scientificità nel lavoro proposto, la revisione sarà anonima, così come l'articolo revisionato (i.e. double blinded).

Diritto di critica:

Eventuali osservazioni e suggerimenti a quanto pubblicato, dopo opportuna valutazione di attinenza, sarà trasmessa agli autori e pubblicata on line in apposita sezione ad essa dedicata.

Questa iniziativa assume importanza nel confronto scientifico poiché stimola la dialettica e arricchisce il dibattito su temi d'interesse. Ciascun professionista avrà il diritto di sostenere, con argomentazioni, la validità delle proprie osservazioni rispetto ai lavori pubblicati sui Working Paper of Public Health.

Nel dettaglio, le norme a cui gli autori devono attenersi sono le seguenti:

- I manoscritti devono essere inviati alla Segreteria esclusivamente in formato elettronico all'indirizzo e-mail dedicato
- A discrezione degli autori, gli articoli possono essere in lingua italiana o inglese. Nel caso in cui il manoscritto è in lingua italiana, è possibile accompagnare il testo con due riassunti: uno in inglese ed uno in italiano, così come il titolo;
- Ogni articolo deve indicare, le Keywords, nonché il tipo di articolo (i.e. Original Articles, Brief Reports oppure Research Reviews);
- L'abstract è il riassunto dell'articolo proposto, pertanto dovrà indicare chiaramente: Obiettivi; Metodologia;
- Risultati; Conclusioni;
- Gli articoli dovrebbero rispettare i seguenti formati: Original Articles (4000 parole max., abstract 180 parole max., 40 references max.); Brief Reports (2000 parole max., abstract 120 parole max., 20 references max., 2 tabelle o figure) oppure Research Reviews (3500-5000 parole, fino a 60 references e 6 tabelle e figure);
- I testi vanno inviati in formato Word (Times New Roman, 12, interlinea 1.5). Le note, che vanno battute in apice, non possono contenere esclusivamente riferimenti bibliografici. Inoltre, la numerazione deve essere progressiva;
- I riferimenti bibliografici vanno inseriti nel testo riportando il cognome dell'Autore e l'anno di pubblicazione (e.g. Calabresi, 1969). Nel caso di più Autori, indicare nel testo il cognome del primo aggiungendo et al; tutti gli altri Autori verranno citati nei riferimenti bibliografici alla fine del testo.
- I riferimenti bibliografici vanno elencati alla fine del testo in ordine alfabetico (e cronologico per più opere dello stesso Autore).

Nel sottomettere un manoscritto alla segreteria di redazione, l'autore accetta tutte le norme qui indicate.

titolo

**IL PROFILO AUTOIMMUNOLOGICO IN
PAZIENTI COVID-19 POSITIVI: PROPOSTA DI
UNO STUDIO PILOTA, OSSERVAZIONALE,
RETROSPETTIVO.**

title

**AUTOIMMUNE PROFILE IN COVID-19
POSITIVE PATIENTS: A PILOTE,
OBSERVATIONAL, RETROSPECTIVE
PROPOSAL STUDY.**

autori

**Maria Cristina Sacchi¹, Stefania Tamiazzo¹, Paolo Stobbione²,
Roberto Guaschino¹**

¹ Settore di Autoimmunologia, Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria

² SSD Reumatologia, Azienda Ospedaliera SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria

tipologia

Articolo - Original Article

keywords

Covid-19, autoimmunità, citochine

ABSTRACT

Obiettivo: lo studio valuterà il profilo autoimmunologico di pazienti Covid-19 positivi ospedalizzati.

Metodologia: sono stati eseguiti presso il laboratorio analisi della nostra azienda esami di chimica clinica, coagulazione e test di autoimmunità a pazienti ospedalizzati con tampone nasofaringeo positivo per SARS-CoV-2.

Risultati: verranno arruolati 40 pazienti, di cui saranno valutati i risultati degli esami di laboratorio. Particolare attenzione sarà posta ai test di autoimmunità per capire se in corso di malattia da SARS-CoV-2, l'agente patogeno determina una variazione dell'assetto autoimmunologico.

Conclusioni: l'analisi dei dati ottenuti da questa ricerca ci permetterà di descrivere il profilo autoimmunologico di pazienti Covid-19 positivi in corso di malattia. Sulla base dei risultati ottenuti si potrà valutare la fattibilità di uno studio osservazionale prospettico per capire se è presente una correlazione tra variazione dell'assetto autoimmunologico dei pazienti covid-19 positivi e fasi di malattia.

ABSTRACT

Objectives: the aim of this study is to evaluate the autoimmune profile in Covid 19 positive hospitalized patients.

Methodology: hospitalized patients with pharyngeal nose swab positive for SARS-CoV-2 will be assessed for normal clinical practice and autoimmunity tests.

Results: 40 Covid 19 positive hospitalized patients will be enrolled. Laboratory and autoimmunity tests will be analyzed. Particular attention will be paid to autoimmunity tests to understand if during the course of SARS-CoV-2 disease, the pathogen determines a change in the autoimmune structure.

Conclusion: the analysis of the data obtained from this research will allow us to describe the autoimmunological profile of Covid-19 positive patients during disease. On the basis of the results obtained, it will be possible to evaluate the feasibility of a prospective observational study

to understand if there is a correlation between the variation of the autoimmunoassay of Covid-19 positive patients and disease phases.

INTRODUZIONE

Il sistema immunitario, in un individuo sano, è costituito da vari tipi di cellule effettrici che sono programmate, da un lato per eliminare le invasioni da patogeni esterni, dall'altro per mantenere uno stato di tolleranza verso le proprie molecole. Se per qualche motivo questa complessa situazione della **tolleranza immunitaria** finemente regolata si altera, anche le molecole proprie dell'organismo possono venire riconosciute come estranee ed innescare un processo autoimmune.

Una caratteristica fondamentale del sistema immunitario, infatti, è proprio la capacità di distinguere le strutture *self*, endogene o esogene, che non costituiscono un pericolo e che possono, o vanno preservate da quelle non-*self* che devono invece essere eliminate. Pertanto, se il sistema immunitario funziona correttamente reagisce contro le molecole estranee all'organismo ritenute in grado di danneggiarlo: ad esempio quelle associate a virus, batteri e parassiti mentre le strutture che costituiscono l'organismo sono riconosciute come *self* e, come tali, non vengono aggredite e sono tollerate. Purtroppo, quando il sistema immunitario fallisce e non riconosce come *self* le proprie componenti, può produrre degli anticorpi diretti contro cellule, tessuti o organi dell'organismo stesso, gli autoanticorpi, provocando così un'inflammatione che porta alla **malattia autoimmune** vera e propria (Betterle et al, 2009).

In passato i virus ed altri **agenti infettivi** sono stati tra i fattori più indiziati nell'eziologia delle malattie autoimmuni. Oggi sappiamo che, in effetti, i patogeni di natura virale sono tra i **fattori esogeni** più comunemente chiamati in causa nella patologia autoimmune (Pesce et al, 2009). E' noto che alcuni virus sono capaci di causare un'attivazione diffusa, non specifica, dei linfociti B inducendoli a produrre vari autoanticorpi; altri, invece, attivano i linfociti T determinando la produzione di particolari sostanze chiamate citochine. Anche se non è ancora stata individuata

alcuna relazione stabile di causa ed effetto tra una determinata infezione e una specifica patologia autoimmune, tuttavia numerosi dati circostanziali depongono per una possibile relazione. Ad esempio, EBV e parvovirus B19 con la tiroidite di Hashimoto (*Tomer et al, 1993*), HTLV-1 e HNF (*Human Foamy Virus*) con il morbo di Graves (*Rueda et al, 1999*), mentre sono discordi i dati sull'infezione da HCV (*Lindberg et al, 1999; Pugliatti et al, 2008*). Sembra quindi verosimile che specifici agenti infettanti possano giocare un ruolo nello scatenamento di talune malattie autoimmuni, ma le evidenze disponibili sono sostanzialmente indirette.

Il SARS-CoV-2 (Coronavirus 2 della SARS) è un virus appartenente al genere beta Coronavirus, con un diametro di 60-140 nm. e provvisto di un envelope; differisce geneticamente, in modo considerevole, da SARS-CoV e da MERS-CoV (*De Vit et al, 2016*). Questo virus è l'agente eziologico del **Covid-19** (Corona Virus Disease-2019).

Le evidenze sugli stadi di malattia dimostrano che l'infezione da SARS-CoV-2 è caratterizzata dallo stadio replicativo e da quello dell'autoimmunità adattativa. Durante la fase della replicazione virale si manifesta una risposta immune innata che tuttavia non contiene la replicazione del virus e i sintomi lievi propri di questa fase sono da correlare sia alla replicazione virale che alla risposta immune. Nello stadio dell'immunità adattativa si verifica una risposta immune adattativa che può comportare un incremento delle citochine circolanti e danno tessutale.

Questi fenomeni spiegano la peculiarità secondo cui alcuni pazienti sono stabili per diversi giorni ma successivamente vanno incontro ad un rapido peggioramento (*Young et al, 2020*).

Gli studi patofisiologici emergenti mostrano come molti pazienti possano rispondere al SARS-CoV-2 con una risposta citochinica abnorme, la cosiddetta **tempesta citochinica**, una vera e propria tempesta infiammatoria, con caratteristiche analoghe alla sepsi batterica e alla linfocitopenia emofagocitica.

In questa condizione, nel sangue dei malati, si osservano alti valori di citochine e mediatori vari dell'infiammazione, dall'interleuchina 6 (IL-6) all'interferon-gamma (INF- γ) e al tumor necrosis factor (TNF).

Le osservazioni cliniche sui pazienti Covid-19 ricoverati presso il nostro ospedale mostravano effettivamente, sin dai primi giorni dell'arrivo in ospedale, un aumento di proteina C reattiva (PCR), di lattato deidrogenasi (LDH), di ferritina, una diminuzione del numero assoluto dei linfociti nel sangue mentre i livelli di IL-6 erano alti, in particolar modo in quelli più critici. Sulla base di queste dimostrazioni è plausibile ritenere che nei casi più gravi, questa reazione esageratamente violenta delle difese immunitarie, anziché proteggere dal virus, attacca tutti gli organi del paziente causando danni anche irreparabili come la **disfunzione multiorgano**.

Per questo motivo gli sforzi dei ricercatori, sono rivolti alla ricerca sia di farmaci anti-virali contro il SARS-CoV-2 che nel trovare il modo di controllare l'esagerata risposta immunitaria che rischia di essere letale per il paziente. Si stanno, quindi, prendendo in considerazione tutta una serie di farmaci utilizzati normalmente per curare le malattie autoimmuni come l'anticorpo monoclonale, chiamato **Tocilizumab**, che funziona proprio nell'artrite reumatoide ma anche nei confronti di altre patologie autoimmuni.

Tutte queste considerazioni ci hanno portato a ritenere che una preliminare valutazione dell'assetto autoimmunologico di pazienti ospedalizzati Covid-19 positivi possa essere particolarmente utile nel fornirci informazioni circa eventuali correlazioni cliniche delle espressioni di malattia.

OBIETTIVO

Un numero sempre maggiore di studi mostrano come, in seguito ad infezione da SARS-CoV-2, una percentuale significativa di pazienti reagisce producendo una mole esagerata di citochine infiammatorie andando così incontro ad una tempesta infiammatoria e all'aggravarsi della malattia, mentre altri pazienti producono citochine soltanto in quantità tale da attivare in modo efficace, ma contenuto, il sistema immunitario contro il virus.

Alcune malattie infiammatorie croniche a patogenesi autoimmune sono caratterizzate da un difetto funzionale e, quindi, da una disregolazione del sistema immunitario (sia umorale che cellulare) con aggressione di costituenti propri dell'organismo, portando allo sviluppo e all'automantenimento del processo infiammatorio.

Lo scopo di questo progetto è valutare il **profilo autoimmunologico** nei pazienti ospedalizzati Covid 19 positivi.

METODI

Lo **studio pilota** a carattere **osservazionale monocentrico retrospettivo** ha coinvolto più strutture appartenenti all'Azienda Ospedaliera SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria:

- Laboratorio analisi, settore Urgenze
- Laboratori analisi, settore Autoimmunità
- Reparti COVID: Malattie Infettive, Pneumologia, Medicina d'Urgenza

Lo studio prevede l'arruolamento di 40 pazienti con tampone SARS-CoV-2 positivo, ricoverati presso l'ospedale dal 17 marzo al 6 aprile. A tutti i pazienti sono stati eseguiti gli esami laboratoristici (chimica clinica, coagulazione, test di autoimmunità).

CONCLUSIONI

Lo studio è stato sottomesso al Comitato Etico Interaziendale per una sua valutazione e approvazione. Quando lo studio verrà autorizzato procederemo con la raccolta dei dati.

I risultati ottenuti ci permetteranno di descrivere l'assetto autoimmunologico in una parte della popolazione affetta da SARS-CoV-2 ospedalizzata. L'analisi di questi dati ci consentirà di valutare la fattibilità di un successivo **studio osservazionale prospettico** per verificare se è presente una variazione dell'assetto autoimmunologico di questi pazienti in base alle fasi della malattia.

BIBLIOGRAFIA

- Betterle C, Resotto F, Zanchetta R. 2019. "Classificazione e fisiopatologia delle malattie autoimmuni organo-specifiche". In: *Il Laboratorio nelle malattie autoimmuni d'organo*, 2009, 1-13. Bologna: Esculapio.
- Lindberg, B., K. Ahlfors, A. Carlsson, U. B. Ericsson, M. Landin-Olsson, A. Lernmark, J. Ludvigsson, G. Sundkvist, and S. A. Ivarsson. "Previous Exposure to Measles, Mumps, and Rubella--but Not Vaccination during Adolescence--Correlates to the Prevalence of Pancreatic and Thyroid Autoantibodies." *Pediatrics* 104, no. 1 (July 1999): e12. <https://doi.org/10.1542/peds.104.1.e12>.
- Pesce G, Bossert I, Bagnasco M. 2019. "Epidemiologia delle malattie autoimmuni organo -specifiche" In: *Il Laboratorio nelle malattie autoimmuni d'organo*, 2009, 14-36. Bologna: Esculapio
- Pugliatti, M., H. F. Harbo, T. Holmøy, M. T. Kampman, K.-M. Myhr, T. Riise, and C. Wolfson. "Environmental Risk Factors in Multiple Sclerosis." *Acta Neurologica Scandinavica. Supplementum* 188 (2008): 34-40. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2008.01029.x>.
- Rueda, F. L., J. M. Palomares, and I. V. Rico. "Atypical Thyroiditis in Huelva, Spain." *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists* 5, no. 3 (June 1999): 109-13. <https://doi.org/10.4158/EP.5.3.109>.
- Tomer, Y., and T. F. Davies. "Infection, Thyroid Disease, and Autoimmunity." *Endocrine Reviews* 14, no. 1 (February 1993): 107-20. <https://doi.org/10.1210/edrv-14-1-107>.
- Wit, Emmie de, Neeltje van Doremalen, Darryl Falzarano, and Vincent J. Munster. "SARS and MERS: Recent Insights into Emerging Coronaviruses." *Nature Reviews. Microbiology* 14, no. 8 (2016): 523-34. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>.
- Young, Barnaby Edward, Sean Wei Xiang Ong, Shirin Kalimuddin, Jenny G. Low, Seow Yen Tan, Jiashen Loh, Oon-Tek Ng, et al. "Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore." *JAMA*, March 3, 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3204>.



pubblicazione
revisionata e
approvata

maggio 2020

disponibile online
[www.ospedale.al.it/
working-papers-wp](http://www.ospedale.al.it/working-papers-wp)