



XXVI Congresso

Sociedade Portuguesa de Estatística

Longitudinal antibody kinetics in kidney transplant recipients who recovered from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection

Maria J. Polidoro^{1,2}, Ana Pinho³, Manuela Bustorf³, Natércia Durão⁴ e Rui Martins^{2,5}

12 de outubro de 2023

¹Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico do Porto

²CEAUL - Centro de Estatística e Aplicações da Universidade de Lisboa

³**Departamento de Nefrologia, Centro Hospitalar Universitário de São João, Porto**

⁴Universidade Portucalense, REMIT, Porto

⁵Departamento de Estatística e Investigação Operacional da FCUL

O problema

- Os transplantados renais (KTR) correm um risco elevado de morte devido à infecção COVID-19, que é causada pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2).
- Avaliar a resposta imunitária dos KTR que recuperaram da infecção por SARS-CoV-2 e os fatores que a podem influenciar, nomeadamente o papel da imunossupressão (medicação relacionada com o transplante renal), é crucial para compreender a qualidade e a durabilidade da resposta imunitária à infecção natural (primeira infecção).
- Neste trabalho, apresentamos um estudo longitudinal dos níveis de dois anticorpos de resposta imunitária em KTR que recuperaram da primeira infecção COVID-19, nomeadamente o anti-N IgG e o anti-S1 IgG.

Os dados

- Todos os KTR adultos (77 indivíduos) com infeção primária por SARS-CoV-2 na ausência de vacinação, seguidos no Centro Hospitalar Universitário de São João, Porto, entre 04 de março de 2020 e 8 de março de 2021.
- As características demográficas e clínicas dos KTR foram recolhidas retrospectivamente dos registos médicos eletrónicos.
- A severidade da COVID-19 foi definida pela necessidade de oxigénio (insuficiência respiratória).

Os dados

Tabela 1: Características demográficas e clínicas dos 77 KTR

Características

Idade em anos, média (dp)	57.1 (11.6)
Idade ≥ 60 anos, <i>n</i> (%)	31 (40.3)
Sexo Masculino, <i>n</i> (%)	49 (63.6)
Número de transplantes, <i>n</i> (%)	
Primeiro transplante	68 (88.3)
Retransplante	9 (11.7)
Severidade COVID-19	
Não severo, <i>n</i> (%)	52 (67.5)
Severo, <i>n</i> (%)	25 (32.5)
Indução utilizada	
IL-2, <i>n</i> (%)	34 (45.9)
ATG, <i>n</i> (%)	22 (29.7)
Sem indução, <i>n</i> (%)	18 (24.3)
Comorbilidades	
IMG ≥ 30 kg/m ² , <i>n</i> (%)	17 (22.4)
Hipertensão, <i>n</i> (%)	65 (84.4)
Doença cardiovascular, <i>n</i> (%)	18 (23.4)
Diabetes, <i>n</i> (%)	25 (32.5)
Doença pulmonar crónica, <i>n</i> (%)	9 (11.7)
Baseline eGFR (ml/min/1.73m²), média (dp)	59.5 (21.8)
Tempo desde o transplante até à infeção, em meses, mediana (Q1-Q3)	97 (37-165)

Os dados

Tabela 1 (cont.): Características demográficas e clínicas dos 77 KTR

Características

KT \leq 1 ano, <i>n</i> (%)	7 (9.1)
Imunossupressão aquando do diagnóstico	
Esteróides, <i>n</i> (%)	76 (98.7)
Dose diária esteróides, mg, mediana (Q1-Q3)	5 (5-5)
Tacrolimus, <i>n</i> (%)	63 (81.8)
Níveis mínimos de tacrolimus (ng/ml), mediana (Q1-Q3)	6.6 (5.5-7.6)
Ciclosporina, <i>n</i> (%)	10 (13.0)
Micofenolato, <i>n</i> (%)	67 (87.0)
Dose diária de micofenolato, mg, mediana (Q1-Q3)	1080 (720-1080)
Dose de micofenolato > 720 mg, <i>n</i> (%)	36 (53.7)
Azatioprina, <i>n</i> (%)	2 (2.6)
Everolimus, <i>n</i> (%)	6 (7.8)
Nível mais elevado de suporte respiratório	
Ar ambiente, <i>n</i> (%)	52 (67.5)
Oxigénio suplementar, <i>n</i> (%)	9 (11.7)
Ventilação não invasiva/oxigénio de alto fluxo, <i>n</i> (%)	12 (15.6)
Ventilação mecânica, <i>n</i> (%)	4 (5.2)
Nível mais elevado de apoio médico	
Ambulatório, <i>n</i> (%)	40 (51.9)
Enfermaria, <i>n</i> (%)	22 (28.6)
Admissão na UCI, <i>n</i> (%)	15 (19.5)
Seropositivo, <i>n</i> (%)	65 (84.4)

Os dados

- Para os **77** KTR com infecção por SARS-CoV-2:
 - Foram observadas 193 amostras de sangue, entre o 7º dia e o dia 395 (mediana 72 dias, IIQ 30-133) após a infecção primária;
 - **24** (31%) KTR forneceram uma amostra de sangue num único momento (uma observação longitudinal);
 - **53** (69%) KTR forneceram pelo menos duas amostras de sangue;
 - **65** (84,4%) KTR foram seropositivos (anti-N > 1.4 e/ou anti-S1 > 1.1):
 - **52** (67,5%) foram seropositivos para anti-N;
 - **64** (83,1%) foram seropositivos para anti-S1.

Os dados

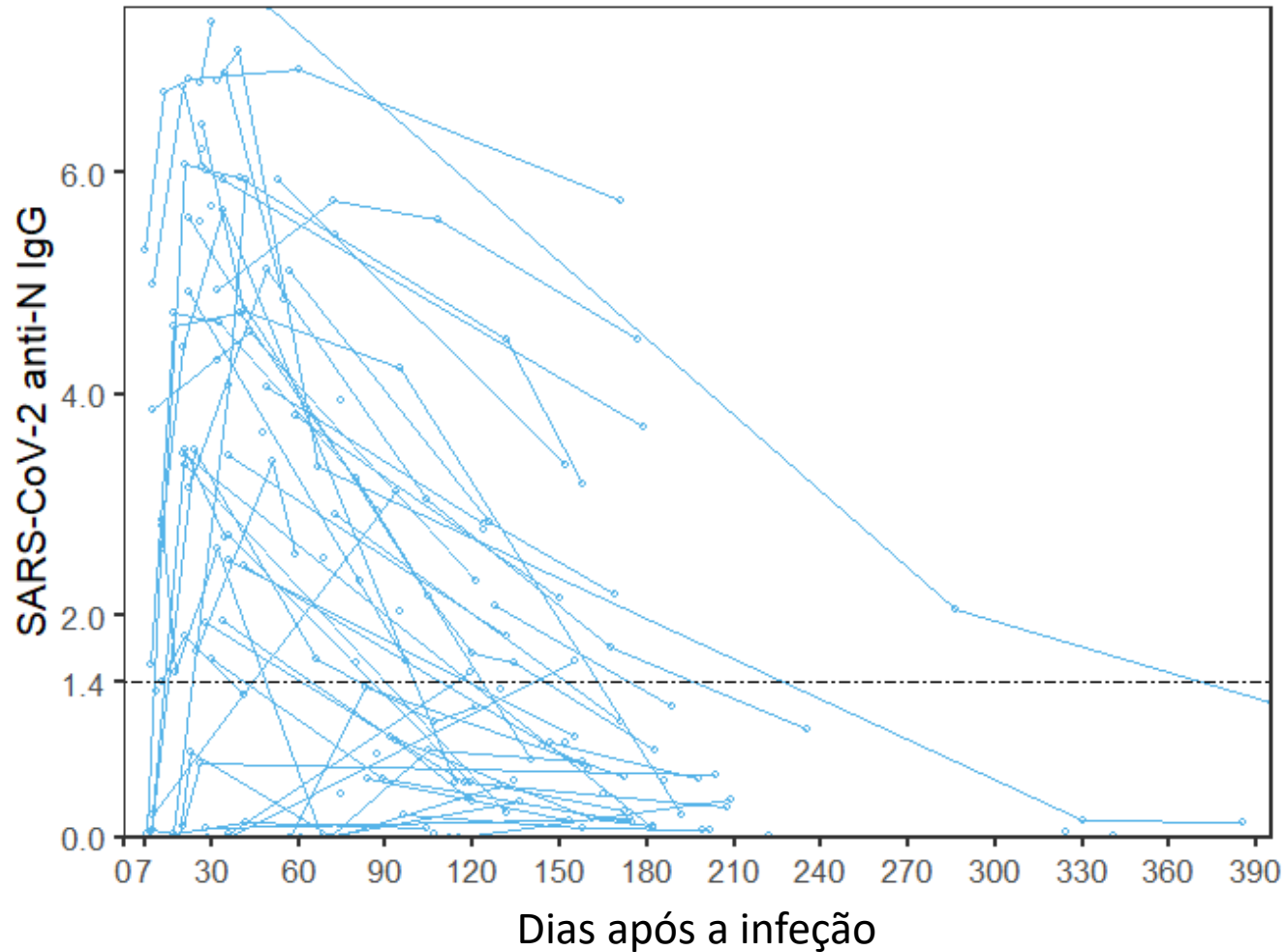


Figura 1. Resposta imunitária do anticorpo anti-N ao longo do tempo. Valores observados (pontos), trajetórias (linhas).

Os dados

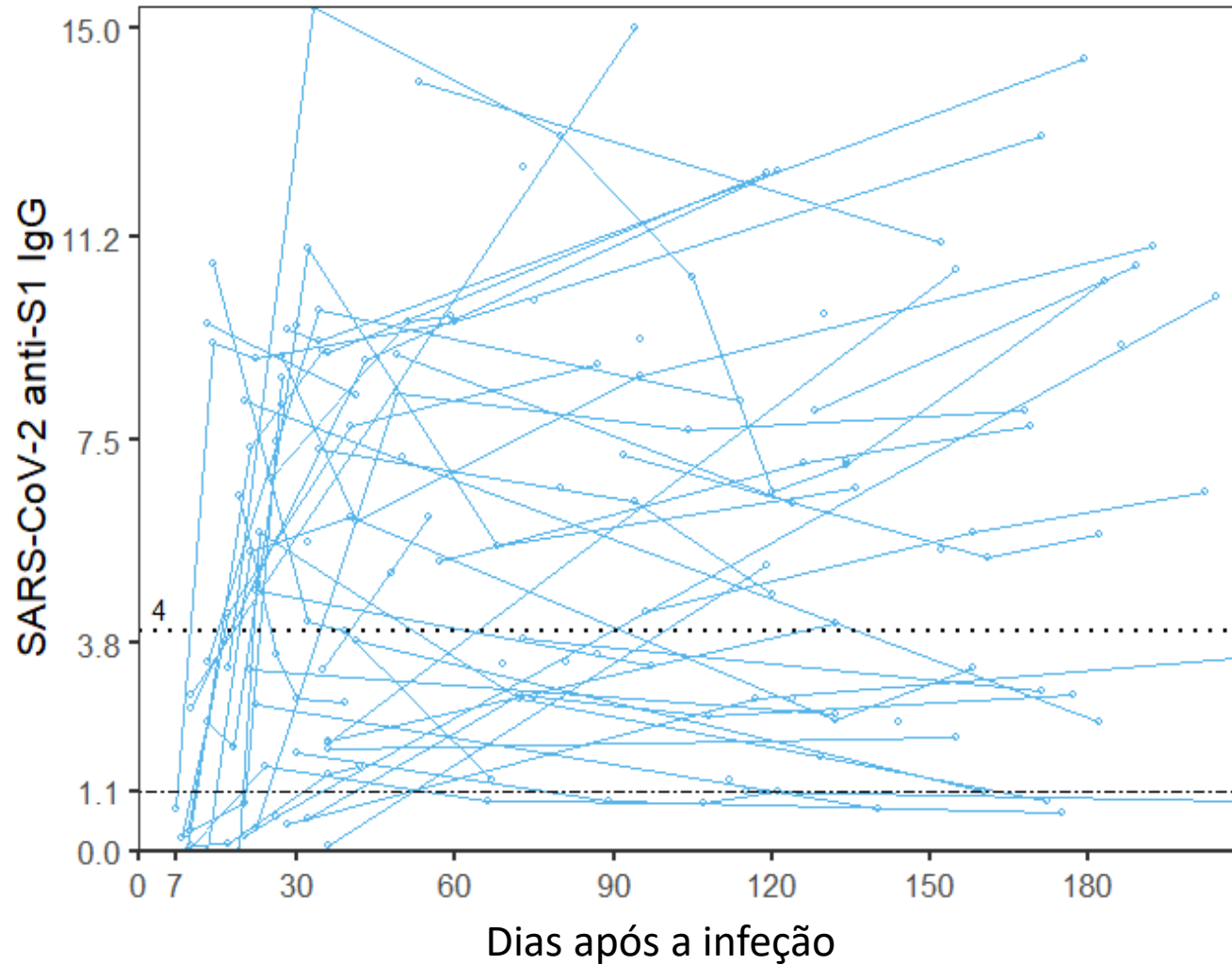


Figura 2. Resposta imunitária do anticorpo anti-S1 ao longo do tempo. Valores observados (pontos), trajetórias (linhas).

Modelagem de dados longitudinais

- O principal objetivo de um estudo longitudinal, é avaliar as mudanças individuais na variável resposta ao longo do tempo e examinar os fatores que influenciam a heterogeneidade entre os indivíduos, observando como eles mudam no tempo.
- Dados longitudinais são um caso especial de medidas repetidas, multivariados por natureza e possuem uma estrutura complexa nos erros, que deve ser considerada na análise.
- Os nossos dados têm ainda a particularidade de serem não balanceados e com observações omissas ao longo do tempo.

Modelos lineares mistos

- Os modelos mistos (ou modelos de efeitos aleatórios) são uma das técnicas utilizadas para a análise de dados longitudinais com as características dos nossos dados.
- Nestes modelos, a resposta de cada indivíduo tem as seguintes componentes:
 - um efeito fixo, que é função das covariáveis;
 - um efeito aleatório, que expressa a variação entre os indivíduos;
 - e um erro.
- Estes modelos também permitem que os coeficientes da regressão (coeficiente angular e intercepto) variem entre indivíduos.

O modelo GAMLSS

Modelos Aditivos Generalizados para localização, escala e forma

- As nossas variáveis resposta (anti-N e anti-S1) apresentam ainda uma grande variabilidade nas medições ao longo do tempo.
- O GAMLSS (Generalized Additive Models for Location Scale and Shape) permite que todos os parâmetros das distribuições da variável resposta sejam modelados por funções paramétricas lineares, não lineares ou funções de suavização não paramétricas (*P-Splines*) de variáveis explicativas.
 - Como particularidade deste modelo, destacamos que a distribuição da variável resposta y não precisa ser da família exponencial mas de uma família de distribuições paramétricas mais geral, \mathcal{D} , podendo conter distribuições de até 4 parâmetros.

O modelo GAMLSS

Modelos Aditivos Generalizados para localização, escala e forma

Stasinopoulos et al. (2017) definem que, y_i são ind., $i = 1, 2, \dots, n$, com f.d.p. $f(y_i | \boldsymbol{\theta})$ condicionais a $\boldsymbol{\theta} = (\boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\sigma}, \boldsymbol{\nu}, \boldsymbol{\tau})^T$.

Seja $\mathbf{y}^T = (y_1, y_2, \dots, y_n)$ o vetor da variável resposta, para $k = 1, 2, 3, 4$, considere-se uma função monótona $g_k(\cdot)$, denominada função de ligação, que relaciona as variáveis explicativas a cada um dos parâmetros da distribuição, ou seja,

$$g_k(\boldsymbol{\theta}_k) = \boldsymbol{\eta}_k = \mathbf{X}_k \boldsymbol{\beta}_k + \sum_{j=1}^{J_k} \mathbf{Z}_{jk} \boldsymbol{\gamma}_{jk},$$

sendo $\boldsymbol{\theta}_k^T$ um vetor de quatro parâmetros da distribuição;

$\boldsymbol{\eta}_k^T$ é o preditor linear;

$\boldsymbol{\beta}_k^T = (\beta_{1k}, \beta_{2k}, \dots, \beta_{J'_k k})$ é um vetor de parâmetros de tamanho J'_k ;

\mathbf{X}_k é uma matriz de dados conhecida de efeitos fixos de tamanho $n \times J'_k$;

\mathbf{Z}_{jk} é uma matriz de dados conhecida de efeitos aleatórios e de ordem $n \times q_{ik}$;

$\boldsymbol{\gamma}_{jk}$ é uma variável aleatória q_{ik} dimensional com distribuição Normal M.

O modelo BAMLSS

Uma vez que a nossa abordagem é bayesiana, é necessário atribuir distribuições *a priori* para os coeficientes das regressões β_k^T .

Na maioria das situações, a distribuição *a priori* baseia-se numa função *kernel* normal multivariada para β_k^T e em distribuições gama inversas para cada variância.

No **software R**, este modelo é implementado no pacote `bamlss`.

Considerando para a covariável dias uma função suavizadora *P-Spline* (Eilers and Marx, 1996) com 20 nós, por esta não apresentar um efeito linear na resposta, e considerando um efeito aleatório individual iid Normal. Corremos o seguinte modelo:

```
library(gamlss)
list.withoutCovs.N <- list(
  log.N ~ s(Days, bs="ps", k=20) +
    s(ID, bs="re"),
  sigma ~ s(Days, bs="ps", k=20))

alone.withoutCovs.N <- bamlss(list.withoutCovs.N, family = "gaussian", data = Data_N,
  optimizer = boost, maxit = 1000,      ## Boosting arguments.
  thin = 10, burnin = 5000, n.iter = 10000) ## Sampler arguments

summary(alone.withoutCovs.N )
```

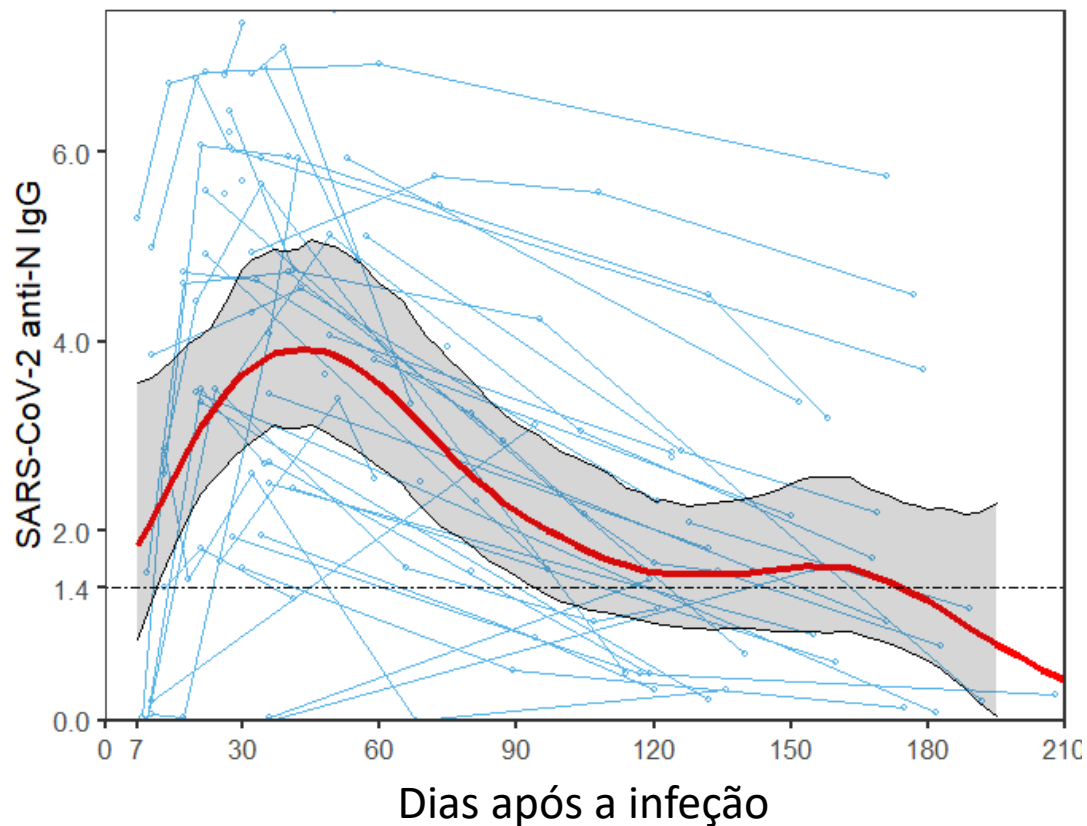


Figura 3. Estimativas da média *a posteriori* (linha vermelha) e intervalo de credibilidade a 95% (área sombreada) para anti-N.

Observamos que a resposta imunitária média do anti-N atingiu o pico no dia 42 após a infecção, com um valor médio máximo de 3,92 (IC, 3,10-4,99), seguindo-se de um decréscimo com o tempo, atingindo o limiar de positividade de 1,4 (CrI 95%, 0,64-2,31) no dia 176.

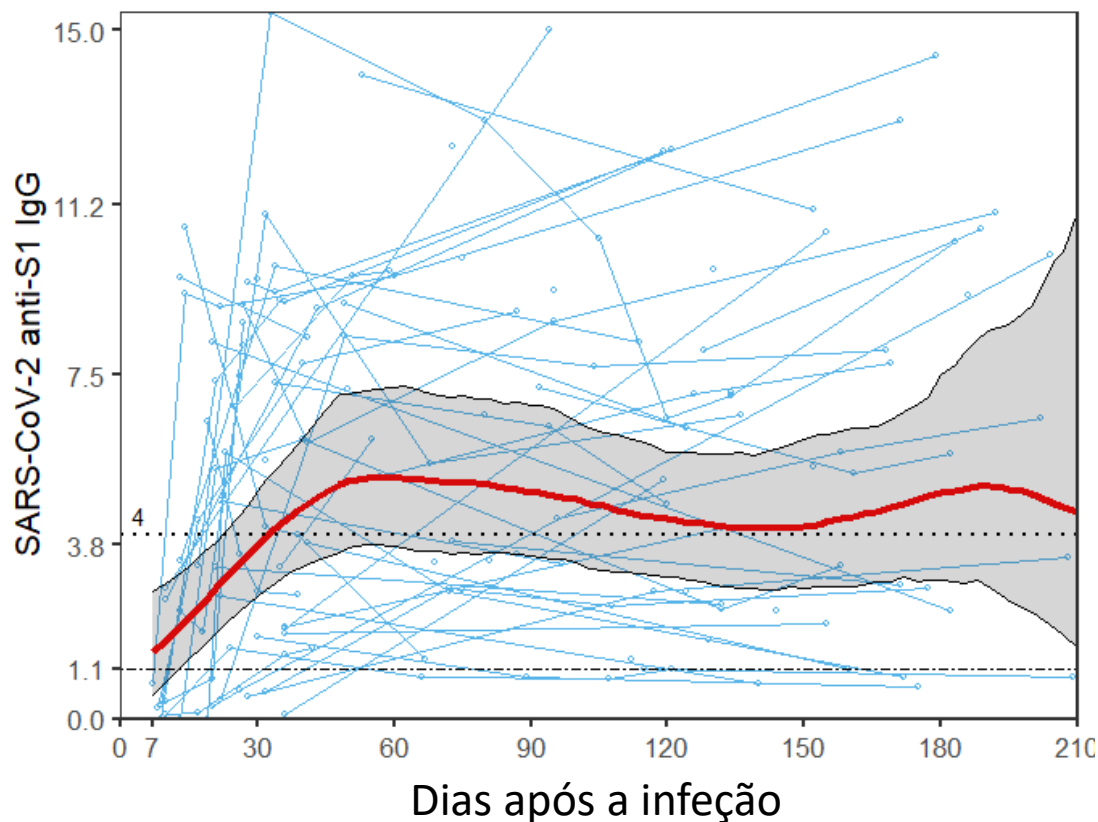


Figura 4. Estimativas da média *a posteriori* (linha vermelha) e intervalo de credibilidade a 95% (área sombreada) para anti-S1.

Relativamente aos valores do anti-S1, as estimativas médias *a posteriori* atingiram um pico mais tarde, no dia 56 após a infecção, com um valor médio máximo de 5,29 (95% CrI, 3,79-7,17), mantendo-se relativamente estáveis ao longo do tempo, com um declínio mínimo durante o período de acompanhamento de 7 meses.

Acrescentado agora ao modelo as seguintes covariáveis

Clas_COVID + Sex + Age + TAC_niveis + Mycoph,

	Posterior mean	95% CrI	
COVID-19 Severity: severe	0,12	0,04	0,20
Sex: male	0,16	0,08	0,24
Age, years	-0,01	-0,11	0,00
Tacrolimus trough levels	-0,02	-0,04	-0,01
Mycophenolate daily dose: >720 mg	-0,11	-0,22	-0,02

Coefficient posterior mean estimates and 95% credibility intervals for the anti-N IgG longitudinal model.
Bolding indicates significant variables.

Os pacientes com doença grave e do sexo masculino apresentaram um anti-N significativamente mais elevado ao longo do tempo, com aumentos de 0,12 e 0,16 em comparação com os doentes não graves e do sexo feminino, respetivamente. Por outro lado, níveis mais elevados de TAC na infeção estão associados a uma diminuição de 0,02 na média *a posteriori* do anti-N ao longo do tempo, por aumento de 1,0 ng/ml nos níveis mínimos de TAC. Além disso, doses mais elevadas de micofenolato (> 720 mg por dia) estão associadas a uma média *a posteriori* mais baixa (-0,11), em comparação com doses mais baixas ou sem utilização de micofenolato.

	Posterior mean	95% CrI	
COVID-19 Severity: severe	0,17	0,07	0,26
Sex: male	0,10	0,00	0,20
Age, years	0,00	-0,01	0,01
Tacrolimus trough levels	-0,01	-0,02	0,01
Mycophenolate daily dose: >720 mg	0,09	-0,04	0,22

Coefficient posterior mean estimates and 95% credibility intervals for the anti-S1 IgG longitudinal model.
 Bolding indicates significant variables.

A gravidade da doença foi o único fator significativo associado a alterações na média α *posteriori* do anti-S1 ao longo do tempo, com um aumento médio de 0,17 quando comparado com os doentes não graves.

Conclusões

No nosso estudo, 84,4% dos KTR foram seropositivos;

A resposta imunitária do anticorpos anti-S1 teve um declínio mínimo ao longo da duração do estudo. Além disso, aos 6 meses após a infecção, a proporção estimada de valores do anticorpo anti-S1 superiores a 4 foi de 80%, sugerindo imunidade funcional numa proporção substancial dos KTR.

Em contrapartida, os anticorpos anti-N diminuíram ao longo do tempo e, seis meses após a infecção, a proporção estimada de seropositividade foi de 37%.



XXVI Congresso

Sociedade Portuguesa de Estatística

Muito obrigada

This work is partially financed by national funds through FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia under the project UIDB/00006/2020.