

AVALIAÇÃO DA ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO NA COVID-19 COM D-DÍMERO SUPERIOR A 3.000 NG/ML FEU

DGM Catarino ^a, JO Bordin ^{a,b}, FR Moreira ^b

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Alemão Oswaldo Cruz, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Na COVID-19 o D-dímero aumentado é um marcador de gravidade e foi observado que o sistema complemento está ativado em alguns pacientes com pior evolução clínica. Ambos os sistemas compartilham proteases ativas com possibilidade de sobreposição entre os mesmos. **Objetivo:** Avaliar a via do complemento em pacientes com COVID-19 e D-dímero aumentado. **Método:** Entre 12/02 a 02/06/2021 foi realizado, em pacientes internados com COVID-19 confirmado e D-dímero maior 3.000 ng/mL FEU, após assinatura do TCLE, coleta sanguínea única para dosagem sérica para dosagem de D-dímero, ativação da via clássica (CH50), ativação da via alternativa (AH50), componentes C2, C3, C4 C5, fator H (fH) do complemento; trombotomodulina (TM), além de Interleucina 6 (IL-6); fibrinogênio; haptoglobina; ferritina e coombs direto **Resultados:** Cinquenta pacientes foram incluídos no estudo; idade mediana (Q1, Q3) 62 anos (53,8, 68,0); 72% sexo masculino; 52% hipertensos; 46% obesos; 34% diabéticos; 26% doença cardíaca; 10% asmáticos e 6% diagnóstico prévio de neoplasia. A mediana entre o início dos sintomas da COVID-19 e a coleta de sangue foi de 15 dias (13,0, 19,0); No momento da coleta, 94% estavam internados na UTI, 64% em ventilação mecânica invasiva (VM); 72% em uso de antimicrobianos; 100% em uso de corticoide; 98% anticoagulados; 37% em uso de droga vasoativa e 6% em diálise. Em relação ao resultado laboratoriais, 89% apresentavam aumento da dosagem de IL-6; 77% de fibrinogênio; 59% de haptoglobina; 85% de ferritina e 100% coombs direto negativo. Na internação hospitalar, 42% tiveram confirmação diagnóstica de TVP/TEP por meio de exames de imagem. Em relação ao desfecho vital, 28% foram a óbito sendo que, no momento da coleta, 100% desses pacientes apresentavam haptoglobina aumentada ($p = 0.0082$), 67% fibrinogênio normal ($p = 0.0093$) e 93% linfopenia ($p = 0.0211$). Dosagem de CT e/ou AH50 alterada (fora do valor de referência (VR) do teste) foi observada em 44% dos pacientes da amostra que foi dividida em três grupos de acordo com a dosagem de CH50 e AH50 com resultado normal (dentro do VR do teste) ou alterado: G1: CH50 e AH50 normais; G2: CH50 alterado e AH50 normal e G3- AH alterado e CH50 normal ou alterado. Foi observado entre os 3 grupos independentes diferença estatisticamente significativa na mediana das dosagens de CH50 ($p < 0.001$), AH50 ($p < 0.001$) e C3 ($p = 0,023$). Em comparações múltiplas de proporções 2 a 2 grupos houve diferença significativa em relação a mediana das dosagens de CT entre os grupos 1vs 2 ($p < .001$), 1vs 3 ($p = 0,005$) e 2vs 3 ($p = 0,002$); de AH50 nos grupos 1vs3 ($p < .001$), 2vs 3 ($p < .001$); e de C3: 2vs 3 ($p = 0,038$). **Discussão:** Dessa forma, no G3 foi observado maior ativação da AH50 e tendência na redução do nível de C3. Os dados demonstram que i) pacientes com maior ativação da AH50 (G3) precisaram de maior suporte respiratório (91%) quando comparado aos do

G1 (46%) e G2 (77%), $p = 0.0109$; ii) Pacientes com níveis mais elevados de TM e fH (G2) apresentaram menor mortalidade (11%) quando comparado aos pacientes dos G1 (32%) e G3 (25%). **Conclusão:** A mortalidade foi consideravelmente mais alta que a registrada na instituição em pacientes COVID-19 confirmado no mesmo período, corroborando com os critérios de gravidade da amostra. Outros estudos precisam ser realizados para melhor entendimento da interação da via da coagulação e do complemento na COVID-19. Os achados do estudo podem ser úteis para guiar o uso de medicações no tratamento desses pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.834>

MODULATION OF NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS (NETS) RELEASE BY CYCLIC NUCLEOTIDES STIMULATORS

J Oliveira ^a, L Silva ^a, G Damiani ^b, G Leonardi ^a,
C Vaz ^a, B Cardoso ^a, B Mazetto ^a, F Monica ^a,
E Paula ^a, F Orsi ^a

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

^b Instituto Federal de São Paulo (IFSP), São Paulo, Brazil

Introduction: The release of neutrophil extracellular traps (NETs) is a key factor contributing to the severity of acute respiratory distress syndromes (ARDS). Identifying potential new pathways that can be targeted to modulate this pathological process will offer insights and open up new treatment possibilities for managing this condition. **Aim:** To evaluate if cyclic nucleotides stimulators are capable of modulating NETs release in vitro. **Methods:** We stimulated healthy neutrophils with phorbol myristate acetate (PMA) or serum from severe COVID-19 patients ($n = 15$) as a model of ARDS condition in the presence and in absence of three different cyclic nucleotides stimulators drugs: the guanylyl cyclase activator cinaciguat (0.5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ and 5 $\mu\text{g/mL}$), the phosphodiesterase 5 (PDE5) inhibitor sildenafil (10 μM , 50 μM and 100 μM) or the inhibitor of phosphodiesterase-3 (PDE-3) milrinone (100 μM , 250 μM and 500 μM). Cell incubation images were captured using Incucyte after a duration of 1.5 hours. The number of cells that underwent netosis and those that did not were determined and the percentage of netosis was calculated. Images were analyzed by fluorescence. **Results:** In PMA-stimulated neutrophils, cinaciguat reduced NETs release by 35% at 1 μM and 49% at 5 μM , but not at the lower concentration of 0.5 μM . Sildenafil reduced NETs release by 14% at 50 μM and 62% at 100 μM , but showed no effect at the lower concentration of 10 μM . Milrinone reduced NETs release by 51% at 500 μM but not at the lower concentrations of 100 μM and 250 μM . When neutrophils were stimulated with COVID-19 serum, cinaciguat at 5 μM reduced NETs release by 30%, sildenafil at 100 μM by 19%, and milrinone at 500 μM by 24%, but there was no effect at the lower concentrations of all three drugs. **Conclusion:** Cinaciguat, sildenafil and milrinone were capable of “in vitro” reducing netosis induced by PMA and COVID-19 serum. Such findings indicate an involvement of