

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

cGMP and cAMP in modulating NETs formation and highlight the potential of targeting the production of these cyclic nucleotides as a novel approach for treating ARDS and other inflammatory conditions associated with excessive NETs release.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.835>

CAUSAS DE TROMBOSE E TROMBOCITOPENIA CONCOMITANTE DECORRENTE DA PANDEMIA COVID-19

LF Alves, CCB Silva, SP Silva, PLS Araujo,
LB Almeida, CP Vieira, LKA Rocha

Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

Introdução/Objetivos: Trombose e plaquetopenia podem apresentar-se de maneira síncrona durante a manifestação da doença causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, COVID-19 (do inglês, *Coronavirus disease 2019*), denominada, em inglês, pela sigla TTS (*Thrombosis with thrombocytopenia syndrome*), ou ainda, como manifestação pós-vacinal para esse vírus, situação denominada em inglês, pela sigla VITT (*Vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia*). Em ambos os casos, se trata de uma emergência médica e ainda possui como fatores de confusão outros diagnósticos diferenciais que podem mimetizar tal situação crítica, o que obriga o médico a ser rápido no diagnóstico e no descarte dos diagnósticos diferenciais, e preciso na abordagem clínica. O objetivo do presente trabalho visa evidenciar as características dessa apresentação clínica, bem como apresentar os prováveis diagnósticos diferenciais através de uma revisão bibliográfica. **Materiais e métodos:** Foi realizada uma busca por artigos de revisão sobre o tema na base de dados do PUBMED a partir de janeiro de 2020. Foram utilizados os descritores: *thrombosis*, *thrombocytopenia*, *vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia*, *thrombosis with thrombocytopenia syndrome* e *differential diagnosis*. A busca resultou em 3.071 artigos, dos quais, foram escolhidos 52 artigos por apresentarem o tema de forma mais precisa e abrangente. **Resultados:** Entre as possíveis causas sugeridas, a mais em voga é que a proteína Spike do coronavírus esteja envolvida diretamente, tanto na patogênese da plaquetopenia, quanto nos eventos de trombose. **Discussão:** Durante a infecção pelo vírus, ensaios clínicos têm sugerido que a proteína Spike se liga no receptor da enzima conversora de angiotensina-2, o que desencadearia a ativação da via complemento e, por consequência, vasoconstrição e lesão endotelial. Por outro lado, proteínas do complemento ativariam os neutrófilos, que, por meio de armadilhas extracelulares de neutrófilos (sigla em inglês, NETs), ativariam a cascata de coagulação, o que, na soma dos eventos, poderia provocar trombose. Na situação pós-vacinal, os ensaios clínicos também têm sugerido que a patogênese está associada ao epítipo Spike, que induziria a liberação, pelas plaquetas, do PF4 (sigla em inglês, para *platelet factor 4*). O DNA viral e/ou seu capsídeo formariam um complexo PF4/poliânion, que induziria a formação de anticorpos anti-PF4 e, por

consequência, eventos pró-trombóticos. Estudos sugerem que tanto a trombocitopenia durante a infecção pelo Sars-Cov-2, quanto aquela pós-imunização poderiam ocorrer como resultado da ativação da coagulação ou por consequência de processo inflamatório provocado pela presença da própria proteína Spike, que geraria destruição plaquetária e dano endotelial sistêmico. Diante disso, faz-se necessário o diagnóstico diferencial principalmente com trombocitopenia induzida por heparina, púrpura trombocitopênica trombótica, síndrome do anticorpo antifosfolípido, coagulação intravascular disseminada e hemoglobinúria paroxística noturna. **Conclusão:** A compreensão cada vez maior da relação da proteína Spike com eventos de trombose e de trombocitopenia poderão promover a geração de exames laboratoriais que auxiliem o diagnóstico rápido e preciso desta emergência médica, seja no combate às consequências da infecção pelo vírus Sars-Cov-2, ou seja para prevenção de situações críticas pós-vacinação.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.836>

CORRELAÇÃO ENTRE APC RESISTENCE V X SNP RS6025 (FVL) E ASSOCIAÇÃO DE MUTAÇÕES DE GENES RELACIONADOS AO PAINEL DE TROMBOFILIA EM VOLUNTÁRIOS QUE TIVERAM COVID-19 E SEVERIDADE DA DOENÇA

DRC Silva ^{a,b}, DD Meira ^b, ASS Zetum ^b,
EN Vargas ^a, HN Silva ^a, LS Batista ^b,
VDP Ventorim ^b, HP Rosa ^c, MC Casotti ^b,
ID Louro ^b

^a Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia
Marcos Daniel Santos (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

^b Universidade Federal do Espírito Santo (UFES),
Vitória, ES, Brasil

^c Universidade Vila Velha (UVV), Vila Velha, ES,
Brasil

Introdução: A pandemia de COVID-19 despertou o interesse em estudos que investigaram as mutações do Fator V de Leiden (FVL) e a Protrombina (FII) em pacientes infectados por SARS-Cov-2. **Objetivo:** Avaliar a correlação entre o teste de Resistência à Proteína C Ativada (APCR) e o FVL por biologia molecular em voluntários que tiveram COVID-19 e possível associação dos SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) rs6025 (FVL) e rs1799963 (FII) com a severidade da doença. **Materiais e métodos:** Foram selecionados 226 pacientes (Covid Leve (60), moderado (65) e grave (101)), recrutados entre nov 2020 a dez 2021, seguindo as diretrizes da OMS. Critérios de seleção: sobreviventes de COVID-19 confirmados por RT-PCR, 18-65 anos, sem sintomas agudos há pelo menos 30 dias após infecção e não vacinados (considerando as 2 doses). Os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), responderam um questionário online e tiveram amostras de sangue coletadas. Os testes utilizados foram: resistência à proteína C ativada baseado em TTPA em