

até evoluir com insuficiência respiratória aguda, disfunção de múltiplos órgãos e óbito. Há necessidade de internação em 3%–20% e, destes, 10%–30% cuidados intensivos. Desta forma, há uma preocupação com a saturação dos serviços de saúde. A infecção grave parece estar associada a um desequilíbrio imune, desta forma, a melhor identificação do perfil imune é fundamental para definição prognóstica e terapêutica. **Materiais e Métodos:** Avaliação de adultos em UTI com COVID-19 grave, realizada de maio de 2020 a maio de 2021. Foram coletadas amostras de sangue total nas primeiras 24 horas de admissão (D0) na UTI e após, a cada 4 dias por no máximo 20 dias. O grupo controle incluiu doadores de sangue voluntários. Avaliamos 17 citocinas, dados clínicos e laboratoriais. O desfecho primário foi sobrevida livre de Ventilação Mecânica (VM). Este projeto foi aprovado no Comitê de ética em pesquisa. **Resultados:** Foram incluídos 62 pacientes com idade mediana de 58,7 anos e alta prevalência de comorbidades. Observamos linfopenia associada a aumento na relação neutrófilo-linfócito (NLR=9.8), níveis elevados de D-Dímero, DHL e PCR. A mortalidade foi de 8%, sendo necessário VM com uma mediana de 4 dias após admissão UTI em 55%. A análise das citocinas no D0 em comparação com o grupo controle evidenciou aumento nos níveis de sCD137, IL-10, Granzima-B, sFAS, IL-6, CCL-4, TNF α e perforina. Através da curva ROC foi possível avaliar o papel preditivo para VM nos níveis de IL-6, TNF α , sCD137, sFAS, Perforina e Granzima-B. **Discussão:** O desequilíbrio imune e o papel das citocinas vem sendo avaliado como fator causal da forma grave do COVID-19. A tempestade de citocinas é potencialmente fatal, uma doença imune em que há liberação descontrolada destas células ativadas que desencadeia infiltrados celulares e liberação de mediadores químicos. É responsável pela febre, fadiga e contribui também com extravasamento vascular, CIVD, disfunção de múltiplos órgãos, choque e óbito. Em nosso estudo houve o aumento das citocinas IL-6, CCL4, TNF α , Granzima-B e perforina que são marcadores pró inflamatórios, a IL-10 anti-inflamatória e ainda, o sFAS e sCD137 responsáveis pela redução da resposta celular T, por conseguinte, anti inflamatórios. Desta forma, representando a hiperativação desequilibrada do sistema imune associada ao aumento de marcadores inflamatórios como D-Dímero e PCR. O aumento da NRL representa a gravidade da população, já que estudos prévios demonstraram como corte, acima de 3,63. O mecanismo de bloqueio imune através da ativação de anti inflamatórios e apoptose de células auto reativas pode contribuir com o aumento de infecções secundárias tardias. O aumento das citocinas foi relacionado ao desfecho desfavorável em diversos estudos, especialmente na manifestação grave, sendo potenciais marcadores prognósticos. **Conclusão:** Nosso estudo ratifica a importância das citocinas e o desequilíbrio imune na forma grave do COVID-19. Além disso, evidenciamos alguns potenciais marcadores preditivos de desfecho desfavorável como TNF α , Perforina, Granzima-B, IL-6, sCD137 e sFAS. E ainda, estes podem ser estudados como potenciais alvos terapêuticos.

APOPTOSE NO COVID-19 GRAVE E POTENCIAIS BIOMARCADORES PROGNÓSTICOS

MO Marques^{a,b}, A Abdo^b, PB Silva^a, AS Junior^b, LBO Alves^b, P Bachour^b, OCG Baiocchi^{a,b}

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

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

Objetivos: A COVID-19 apresenta alta taxa de infectividade e um amplo espectro clínico no qual, aproximadamente 3%–20% dos infectados necessitam de internação hospitalar sendo destes, 10%–30% cuidados intensivos. A forma grave parece estar associada a um descontrole da resposta imune do hospedeiro, desta forma, a caracterização do perfil imune é fundamental para a definição prognóstica e terapêutica. **Materiais e Métodos:** Estudo prospectivo realizado de maio de 2020 a maio de 2021, recrutou adultos com COVID-19 grave internados em UTI, para a avaliação de 17 citocinas. Foram realizadas coletas laboratoriais na admissão na UTI (D0) e após, a cada 4 dias por no máximo, 20 dias. O grupo controle incluiu doadores de sangue voluntários. O desfecho primário avaliado foi a sobrevida livre de Ventilação Mecânica (VM). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética. **Resultados:** Nos 62 pacientes avaliados a idade mediana foi de 58,7 anos, houve uma predominância no sexo masculino (74.2%), e alta prevalência de comorbidades. A taxa de mortalidade foi de 8%, sendo 55% a necessidade de suporte ventilatório invasivo. Dentre as citocinas avaliadas, se destacaram os níveis séricos elevados de Granzima B, Perforina e sFAS (FAS solúvel) nos doentes em relação aos controles. Os valores medianos de Granzima B no D0 foram maiores quanto menor o tempo de sintomas. A avaliação no D0 através da curva ROC, demonstrou um papel preditivo nos níveis de Perforina, Granzima B e sFAS para a evolução para VM. Não obstante, os níveis de sFAS no decorrer da internação apresentaram correlação direta com pior desfecho sendo um potencial marcador prognóstico. **Discussão:** A apoptose ocorre através de 3 mecanismos: mediada por grânulos (granzimas e perforinas); citotoxicidade através de Fas-FasL; e citotoxicidade através do ligante TRAIL. Maucourant et al. documentaram no diagnóstico de COVID-19 grave, o aumento nos níveis de Perforina, representando a resposta celular NK. Além disso, foi descrito que no decorrer da infecção há uma redução da citotoxicidade NK, decorrente da exaustão imune. Em nossa amostra, os níveis no D0 destas 2 moléculas se relacionaram a gravidade, além disso, foi possível observar o aumento de Granzima B relacionado a precocidade dos sintomas, desta forma, indicando uma redução evolutiva. O receptor Fas e seu Ligante (FasL), integrantes da família TNF, são responsáveis pela apoptose das células infectadas no início da infecção e, mais tardio, dos linfócitos maduros auto-reativos. As formas solúveis dos receptores regulam de forma competitiva as suas partículas de membrana (inibição). No entanto, sFAS e sFasL parecem ter papéis diferentes conforme a patologia e o momento da infecção, podendo inibir seus receptores transmembrana ou desenvolver funções análogas. André et al. encontraram uma relação direta dos níveis de sFasL no COVID-19 grave com

Fas-FasL linfocitários, a linfopenia e o pior prognóstico. Sendo responsáveis, portanto, pela apoptose de linfócitos T ativados. Diante disso, avaliaram o uso de um inibidor de caspase-1 para bloquear o Fas, o qual aumentou a resposta antiviral. **Conclusão:** O sFAS é um potencial biomarcador para a avaliação preditiva prognóstica, desta forma, nossos dados sugerem que as vias da apoptose devem ser estudadas a fim de confirmar estes dados e ainda, explorar seu potencial como alvo terapêutico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.1129>

ALTERED PLASMA CYTOKINE CONCENTRATIONS ARE ASSOCIATED WITH THE CLINICAL SEVERITY OF PATIENTS WITH COVID-19

AE Alagbe^a, GA Pedrosa^a, AS Justo-Junior^b, E Costa^c, BB Oliveira^c, GAF Maia^c, DM Albuquerque^d, JLP Módena^e, FF Costa^d, MNND Santos^a

^a Departamento de Patologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), Campinas, SP, Brazil

^c Laboratório de Hematologia e Hemoterapia, Divisão de Patologia Clínica, Hospital das Clínicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^e Departamento de Genética, Evolução, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: The novel Coronavirus (SARS-CoV-2), responsible for severe acute respiratory syndrome, has emerged as a threat to humans since December 2019, and the search for a better understanding of the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19) and its definitive treatment is still in progress. **Objective:** To evaluate the plasma pro- and anti-inflammatory cytokines in COVID-19 patients and their associations with the disease severity and outcome. **Methods:** Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)-confirmed COVID-19 unvaccinated patients at the Hospital de Clínicas (HC), UNICAMP, Campinas, SP, were enrolled. Clinical and laboratory data were extracted from the medical records, and the plasma cytokines levels were quantified using LUMINEX and ELISA. **Results:** There were 154 COVID-19 patients (99 survivors and 55 non-survivors) with male:female of 1.4:1, and a median age of 60 years. The non-survivors were older than survivors (65 vs. 55 years, $p < 0.0001$); and coronary artery disease and autoimmunity, disease severity, and oxygen therapy, intensive care, and intubation were associated with mortality. Non-survivors had higher leukocyte and

neutrophil counts, and RDW and lower lymphocyte count at diagnosis. Non-survivors had higher levels of pro-inflammatory (TNF- α , IL-6, IFN- γ , CCL3, IL-17/IL-17A, IL-8, G-CSF, CCL2/MCP-1) and anti-inflammatory (IL-1ra and IL-27) cytokines, but lower TGF- β levels than the survivors. TNF- α levels were positively correlated with all studied cytokines except TGF- β , while TGF- β levels were negatively correlated with TNF- α , IL-6, CCL3, G-CSF, and IL-27. IL-27 levels were significantly correlated with all the cytokines except IL-37 and IL-17E. More than half (55.2%) of our patients had severe COVID-19, 18.8% had moderate, 16.2% had critical, 5.2% had mild, and 4.5% were asymptomatic. Majority of the patients (68.2%) required ICU care and had higher TNF- α , IL-6, IL-8, IL-17, CCL3, CCL2, IL-1ra, and IL-27 than others. 59.7% of the patients required endotracheal intubation and had higher TNF- α , IL-6, IL-8, CCL3, CCL2, and IL-1ra than those who did not have intubation. TNF- α , IL-6, and IL-8 had the highest Area Under the Receiver Operating Characteristics (AUROC) curve, sensitivity, and specificity for predicting mortality in these COVID-19 patients. **Discussion and conclusion:** The altered levels of pro- and anti-inflammatory cytokines support the role of SARS-CoV-2 in inducing cytokine storm, and higher concentrations seen in the deceased patients meant a more severe storm. Also, the increased leukocytes and neutrophils in our patients could have led to the release of reactive oxygen species, and end-organ damage, thus leading to poor outcomes. This study showed that the levels of these cytokines could be used as markers of mortality in COVID-19. It is possible to suggest that TNF, IL-6, and IL-8 levels at diagnosis could be efficient predictors of fatal outcomes in COVID-19 patients. If properly measured at diagnosis, these markers could be useful for triaging and predicting the outcome of COVID-19, thus guiding the treatment of the COVID-19. **Funding:** CNPq (#190374/2017-9), CAPES, FAPESP and FAEPEX (#338619).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.1130>

AValiação por Citometria de Fluxo de Células no Sangue Periférico de Gestantes e Puérperas com Suspeita de COVID-19

MLL Machado^a, ATB Souza^b, RD Lima^c, FCM Theodoro^b, MDGP Araújo^d, JDAS Camargo^e, AJM Vale^f, GHM Oliveira^d, GBC Junior^g, RN Cobucci^h

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Mulher, Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC/EBSEH), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

^b Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

^c Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil