



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

an improved disease control (n = 11) vs MRD+ patients with no M-Len (n = 21): median PFS NR vs 16 months (p = 0.002) and median OS of NR vs NR (p = 0.02). In our cohort, the majority of patients admitted to the public HS had access to CTD induction without M-Len (n = 24; 45%), while in the private HS they were covered for Bortezomib induction and M-Len post-transplant (n = 15; 28%) with some patients having other mixed situations with VCD induction without M-Len (n = 11; 22%) or CTD+M-Len (n = 3; 5%). Firstly, the comparison between the strategies available by drug access CTD/no-M-len in public vs VCD/M-len in private had an impact on both PFS (median of 16 months vs NR; p = 0.003) and OS (median NR vs NR; p = 0.02). Similarly, patients that had access to PI in induction without M-len also had different outcomes: median PFS NR vs. 21 months for VCD/M-Len vs VCD/no M-Len, respectively (p = 0.01), with a trend in OS (p = 0.06). Finally, different induction regimens (CTD vs VCD without M-Len) showed no impact on PFS (median: 16 vs.21 months; p = 0.6). In real-life, the use of M-Len post-ASCT is associated with better survival outcomes, MRD-NGF was a reproducible and powerful tool to discriminate patients at higher and earlier relapse risk. Inequity of drug access remains a hurdle in countries with constraints, particularly in public HS with a negative impact on survival of MM.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.366>

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: BIOLOGIA

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DA BARREIRA ENDOTELIAL E SUA RELAÇÃO COM AS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS NA COVID-19



IT Borba-Junior, CRP Moraes, F Lima, MS Barbosa, JM Annichino-Bizzacchi, E Mansour, LA Velloso, FTM Costa, FA Orsi, EV Paula

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: Os mecanismos fisiopatológicos que determinam a gravidade da Covid-19 estão associados a ativação da hemostasia e da imunidade inata, em um processo coletivamente referido como imunotrombose, e que envolve ativação plaquetária, geração de NETs (do inglês, *Nucleo extracelular traps*), expressão de fator tecidual, ativação do complemento e ativação endotelial. Um elemento importante da ativação endotelial é a quebra da barreira endotelial (BE), que ocorre para facilitar o acesso de leucócitos aos tecidos, onde contribuem para erradicação dos patógenos. No entanto, a avaliação da integridade da BE é desafiadora, exigindo o uso de modelos celulares. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do soro de pacientes com Covid-19 sobre a integridade da BE em monocamadas de células endoteliais, e sua correlação com características clínicas da doença. **Materiais e métodos:** A população do estudo consistiu em 30 pacientes com Covid-19 que apresentavam comprometimento pulmonar confirmado por tomografia de tórax, e necessidade de internação

hospitalar por hipoxemia e 30 controles saudáveis pareados por sexo e idade. Os pacientes recrutados fizeram parte de um estudo clínico (REBEC: U1111-1250-1843), e as amostras utilizadas nesta avaliação foram obtidas no momento da internação, antes de qualquer intervenção. Monocamadas de células endoteliais de duas fontes (HUVECs: células de cordão umbilical; HULECs: células endoteliais pulmonares) foram estimuladas com soro de pacientes e indivíduos saudáveis (diluição 15% em meio de cultura) e a integridade da BE foi avaliada por um sensor de impedância celular (ECIS; Electric Cell-substrate Impedance Sensing System) continuamente por 36 horas. Biomarcadores de gravidade e relacionados à ativação da hemostasia foram avaliados por kits comerciais. Dados clínicos foram obtidos a partir dos prontuários digitais. **Resultados:** O soro de pacientes com Covid-19 induziu quebra de BE significativamente mais acentuada que o de indivíduos saudáveis em HUVECs nos tempos 15 min (p < 0,01); 30 min (p ≤ 0,001); 1h (p ≤ 0,0001); 2h (p ≤ 0,0001); 3h (p ≤ 0,0001); 4h (p ≤ 0,01) e 5h (p ≤ 0,05). Estes resultados foram confirmados no modelo de células endoteliais pulmonares (HULECs). A magnitude da quebra apresentou correlação significativa com desfechos clínicos relevantes como tempo de internação total (R_s até 0.57) e tempo de UTI (R_s = 0,47). Em relação a biomarcadores de interesse na Covid-19, a quebra da BE apresentou correlação significativa com neutrofilia, relação neutrófilo/linfócito, fator de Von Willebrand, fatores IX e XI, fibrinogênio, D-dímero e uPAR (Receptor de Uroquinase). **Discussão:** Através de um método considerado padrão-ouro para avaliação *in vitro* da integridade da BE nós demonstramos que componentes presentes no soro de pacientes com Covid-19 são capazes de promover a quebra da BE, e que a magnitude deste processo está relacionada à gravidade desta doença. A correlação com outros marcadores inflamatórios corrobora a conexão entre os mecanismos envolvidos na imunotrombose em pacientes com Covid-19. **Conclusão:** nossos resultados apontam a quebra da BE como um alvo terapêutico atrativo nestes pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.367>

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS CIRCULANTES DE MEDIADORES DA INTEGRIDADE DA BARREIRA ENDOTELIAL NA COVID-19 E SUA RELAÇÃO COM A ATIVAÇÃO DA HEMOSTASIA



CRP Moraes, F Lima, IT Borba-Junior, MS Barbosa, SC Huber, E Mansour, JM Annichino-Bizzacchi, LA Velloso, FA Orsi, EV Paula

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: a imunotrombose consiste no processo que envolve a ativação concomitante da imunidade inata, hemostasia e endotélio como parte da resposta a patógenos, e vem sendo colocada no centro da fisiopatologia da Covid-19. Um elemento menos explorado da imunotrombose é a ruptura da barreira endotelial (BE), que permite o acesso dos leucócitos aos tecidos inflamados. Entre os reguladores da integridade

da BE destacam-se as vias que envolvem a angiopoietina (Ang) 1 e 2 e seu receptor Tie2, e a via do VEGF-A/VE-caderina (VEC). Além deste papel, foi recentemente demonstrado que a ativação da via Ang/Tie2 inibe a ativação endotelial e a expressão de fator tecidual, estabilizando o endotélio no estado quiescente. Neste estudo determinamos os níveis circulantes de mediadores da integridade da BE na Covid-19, e exploramos sua associação com a gravidade da doença, assim como com a ativação da hemostasia através de um painel abrangente de biomarcadores. **Materiais e métodos:** as amostras foram obtidas de 30 pacientes internados por Covid-19 devido à hipoxemia e achados tomográficos típicos, e recrutados para um estudo clínico (REBEC: U1111-1250-1843). As amostras foram coletadas em até 24h do diagnóstico, antes de qualquer intervenção terapêutica. Os níveis de reguladores da BE foram medidos por métodos imunológicos (Elisa ou multiplex), e o de biomarcadores da hemostasia por kits comerciais específicos. Um grupo de 30 indivíduos saudáveis pareados por idade e sexo foram utilizados como controle. Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos dos prontuários digitais. **Resultados:** o tempo médio de internação foi de $12,9 \pm 9,8$ dias, e 12 pacientes (40%) necessitaram de UTI. O dímero D médio foi de 3.609 ± 14.440 ng/mL. Os níveis circulantes de todos reguladores da integridade da BE encontraram-se aumentados em pacientes, quando comparado com controles (Ang1: 463.2 ± 194.6 vs 237.4 ± 104.9 pg/mL, $p < 0.0001$; Ang2: 1.926 (1.275-3.134) vs 1.215 (9-1.444) pg/mL, $p < 0.0001$; Tie2: 10.753 ± 2.377 vs 8.603 ± 1.851 pg/mL, $p < 0.0001$ e VEGF-A: 94.7 (73.4-116.0) vs 45.9 (39.7-57.0), $p < 0.0001$. Além disso, os níveis de alguns destes reguladores se associaram significativamente a desfechos de relevância clínica, a saber: (i) extensão da lesão pulmonar na tomografia: Ang2 e VEGF-A; (ii) tempo de internação em UTI: VEGF-A. Interessantemente, observamos correlações consistentes e significativas entre os níveis de reguladores da BE a proteínas envolvidas na ativação da hemostasia (fibrinogênio, VWF: Ag, uPAR, PAI-1 e P-selectina). **Discussão:** o interesse no estudo de reguladores da integridade da BE na Covid-19 já se justifica pelo fato de a doença envolver tanto o comprometimento da barreira alvéolo-capilar quanto a ativação da angiogênese, como demonstrado por outros autores. Nossos resultados reforçam a relevância destas vias através da associação observada com desfechos clínicos. Além disso, os resultados mostram pela primeira vez uma associação entre mediadores da integridade da BE e um painel amplo de biomarcadores da ativação da hemostasia, sugerindo um *crossstalk* entre estas vias na Covid-19, como demonstrado recentemente no contexto da sepse. **Conclusões:** nossos resultados apontam que a via Ang/Tie2 deve ser considerada um alvo terapêutico atrativo na Covid-19, por representar um elemento central da imunotrombose nestes pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.368>

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE MARCADORES DA VIA HEME/HEMOPEXINA/HEME-OXIGENASE 1 E SUA ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS NA COVID-19



F Lima, CRP Moraes, MS Barbosa, IT Borba-Júnior, E Mansour, LA Velloso, EV Paula

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: A heme-oxigenase 1 (HO-1) é uma enzima intracelular cuja expressão é fortemente induzida por estímulos como inflamação, infecção e hemólise, e que compõe uma resposta anti-inflamatória e antioxidativa ampla, relevante para a proteção e homeostase celular em diversas condições patológicas. Sua ação específica consiste no metabolismo intracelular do heme em ferro, biliverdina e monóxido de carbono, após a captura do heme livre pela hemopexina (HPX) no meio extracelular, e a translocação deste complexo para dentro do hepatócito. Embora sugestões iniciais de uma ação direta do SARS-CoV-2 sobre a hemoglobina ou o heme já tenham sido refutadas, a ativação da HO-1 é reconhecida como parte da resposta do hospedeiro e como potencial alvo terapêutico em diversas doenças envolvendo trombose e inflamação. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis circulantes de hemopexina, heme e heme-oxigenase 1 na Covid-19, e avaliar a associação destes parâmetros com marcadores tromboinflamatórios e desfechos clínicos relevantes. **Material e métodos:** A população deste estudo consistiu em 30 pacientes com diagnóstico confirmado de Covid-19 e indicação de internação hospitalar devido a hipoxemia. O grupo controle consistiu em 30 voluntários saudáveis pareados por sexo, idade e região geográfica. A dosagem dos níveis de HO-1 e HPX foi realizada por método imunoenzimático (ELISA) utilizando kits comerciais e os níveis de heme foram medidos por método colorimétrico. A dosagem de marcadores de ativação da hemostasia foi feita por kits comerciais específicos. **Resultados:** Pacientes com Covid-19 apresentaram níveis aumentados de HO-1 quando comparados com controles (5.741 ± 2.696 vs 1.953 ± 612 pg/mL respectivamente, $p < 0.0001$), assim como uma tendência ao aumento dos níveis de HPX (3.724 ± 0.8804 vs 3.254 ± 1.022 mg/mL, respectivamente; $p=0.06$). Além disso, observamos uma redução nos níveis de HO-1 e HPX da admissão até o 4º dia de internação. Não foram observadas diferenças nos níveis de heme no plasma de pacientes e controles em nenhum dos dois momentos. Além disso, observamos que os níveis de HO-1 na admissão estão positivamente correlacionados com parâmetros da hemostasia como TP, TTPa, fibrinogênio, FVIII: C, FVW:Ag e receptor de uroquinase (u-PAR), mas não apresentam associação evidente com parâmetros clínicos de gravidade. **Discussão:** Nossos dados descrevem a cinética de variação dos níveis séricos de heme, HPX e HO-1 em pacientes com Covid-19, demonstrando que à semelhança de outras infecções, a Covid-19 também se associa à indução desta via como parte da resposta anti-inflamatória. Não observamos associação entre a magnitude desta indução e a gravidade da Covid-19. **Conclusão:** A HO-1 pode representar um biomarcador relevante para a Covid-19, mas novos dados são necessários para subsidiar o seu uso como alvo terapêutico para estes pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.368>