Mecanismos envolvidos na trombogênese em pacientes com COVID-19

Parte 1 – Trombogênese em SARS-CoV2: mecanismo da doença

Rodrigo Luppino Assad¹

DOI: <https://doi.org/10.46833/reumatologiasp.2020.19.3.19-21>

Resumo A infecção por coronavírus causadora da COVID-19 afetou milhões de pessoas em todo o mundo, com impacto no cotidiano da sociedade como um todo. Enfrentar com sucesso o desafio clínico da COVID-19 exige e continuará exigindo novos conhecimentos sobre a patogênese da doença e novos tratamentos para pacientes. Múltiplos acometimentos e características clínicas têm sido descritas relacionadas com a doença, e dentre estas a trombogênese está entre as mais prevalentes e associada a quadros mais graves, incluindo óbito. Achados necroscópicos de fenômenos trombóticos e embólicos têm sido descritos com frequência relativamente alta nestes pacientes. Os mecanismos envolvidos neste processo podem ser resumidos em ativação da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) e lesão de células endoteliais, “tempestade de citocinas”, imunotrombose (pelos linfócitos ou neutrófilos) ou até mesmo pela eventual formação de anticorpos antifosfolípidos (SAF). Portanto, conforme conhecemos mais a fisiopatologia da COVID-19, maiores são as evidências de fenômenos trombóticos, e o conhecimento destes mecanismos nos remete a melhores opções de abordagem e maior sucesso terapêutico.

Unitermos COVID-19. Trombose. SAF. NETs.

INTRODUÇÃO

A infecção por coronavírus causadora da COVID-19 afetou milhões de pessoas em todo o mundo, com impacto no cotidiano da sociedade como um todo¹.

Enfrentar com sucesso o desafio clínico da COVID-19 exige e continuará exigindo novos conhecimentos sobre a patogênese da doença e novos tratamentos para pacientes².

Múltiplos acometimentos e características clínicas têm sido descritas relacionadas com a doença, e dentre estas a trombogênese (Figura 1) está entre as mais prevalentes e associada a quadros mais graves, incluindo óbito^{3,4}. Achados necroscópicos de fenômenos trombóticos e embólicos têm sido descritos com frequência relativamente alta nestes pacientes^{5,6}.

Em recente estudo, realizado em 13 pacientes graves acometidos com o vírus, foi documentada a trombose *in vivo*, demonstrando participação da trombose de pequenos vasos⁷.

ATIVAÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA 2 (ECA2) E LESÃO DE CÉLULAS ENDOTELIAIS

A infecção pelo vírus SARS-CoV2 de células dos hospedeiros é a hipótese mais aceita a entrada do vírus pelos receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2)⁸. A ativação anormal dos receptores pode levar ao estresse oxidativo, à agregação plaquetária e à trombose⁹.

1. Médico reumatologista pela Sociedade Brasileira de Reumatologia. Assistente da Disciplina de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP), Ribeirão Preto-SP, Brasil.

Correspondência: rodruppinoassad@gmail.com.

Como citar este artigo: Assad RL. Mecanismos envolvidos na trombogênese em pacientes com COVID-19. Parte 1 – Trombogênese

em SARS-CoV2: mecanismo da doença. Rev Paul Reumatol. 2020 jul-set;19(3):19-21. DOI: <https://doi.org/10.46833/reumatologiasp.2020.19.3.19-21>.

O autor não contou com apoio financeiro.

O autor declara não ter interesses associativos, comerciais, de propriedade ou financeiros que representem conflito de interesse nos produtos e empresas descritos neste artigo.

Esses receptores estão presentes de forma abundante em células pulmonares, cardíacas, renais, intestinais e endoteliais¹⁰. O acometimento de células endoteliais, com lesão e exposição de fosfolípidos da membrana, pode ativar o sistema de coagulação, levando à agregação plaquetária e à formação de trombos¹¹.

O aumento de produtos de degradação de fibrina, como o dímero D, pode ser reflexo desta ativação do sistema de coagulação. Níveis aumentados nos pacientes estão relacionados com maior gravidade¹².

Além disso, a lesão endotelial pode ser o gatilho para a formação de anticorpos contra esses fosfolípidos, potencialmente os aPLs, questão discutida mais adiante, na Parte 2 deste estudo.

“TEMPESTADE DE CITOCINAS”

O processo inflamatório desencadeado pela infecção é a resposta imune para controle do processo infeccioso. Contudo, se este processo inflamatório não é controlado, ocorre processo contínuo inflamatório, com elevação de citocinas, em especial IL1b, IL6 e IL8.

Estas citocinas estão presentes em doenças inflamatórias agudas e crônicas e podem, por meio de estresse oxidativo e produção de espécies de reativas de oxigênio (ROS), causar hipercoagulabilidade por ativação plaquetária e aumento de trombopoitina¹³.

A IL-8 pode ser produzida por macrófagos, células epiteliais, do músculo liso das vias aéreas e células endoteliais. Existem muitos receptores na superfície da membrana capazes de se ligar à IL-8, inclusive em plaquetas, podendo ser esta uma das vias de ativação¹⁴.

Já a IL6 é uma citocina pleomórfica, e também tem potencial para ativar fibrinogênio e trombopoitina¹⁵.

IMUNOTROMBOSE

A ativação da coagulação pode ocorrer também de forma direta pela ativação de leucócitos¹⁶, ou pela formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (em inglês *neutrophil extracellular trap* – NET) (Figura 2).

Veras *et al.* demonstraram que o vírus SARS-CoV-2 viável foi capaz de induzir neutrófilos a produzirem NETs, com antígenos virais sendo detectados dentro dos neutrófilos¹⁷.

Os neutrófilos ativados e, em particular, a formação de NET, contribuem para a propagação de trombos que afetam os leitos arteriais, venosos e vasculares microscópicos. Os eventos trombóticos são frequentes nos pacientes com COVID-19 e podem ser explicados somente pela formação de NETs². Mas as NETs têm sido também associadas e implicadas à SAF, portanto, além dos possíveis eventos trombóticos diretos causados por estas armadilhas, a ativação de anticorpos tem sido aventada¹⁸.

FIGURA 2 Exemplo de formação de NETs – Análise confocal representativa da liberação de NETs por neutrófilos isolados cultivados por 4 h a 37°C. As células foram coradas para núcleos (DAPI, azul), mieloperoxidase (MPO, verde) e histona H3 citrulinada (H3Cit, vermelho). A barra de escala indica 50 µm¹⁷.

FIGURA 1 Esquema de dois possíveis mecanismos de trombose relacionada com a COVID-19.

NETS E SAF

Outro possível mecanismo de associação entre as doenças talvez esteja relacionado com a fisiopatologia da SAF, em especial no processo inflamatório da SAF na gestação. Em modelos animais, a administração em camundongos grávidas de anticorpos policlonais IgG de indivíduos que têm SAF com altos títulos ou anticorpos antifosfolípidos humanos monoclonais resulta em reabsorção fetal e restrição de crescimento¹⁹.

Os anticorpos anti- β 2-glicoproteína-1 desencadeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas (como IL-1, IL-7 e IL-8) via TLR4 em modelos animais, além da ativação do complemento e o recrutamento e estimulação de neutrófilos²⁰.

Os neutrófilos também podem ser ativados diretamente por anticorpos anti- β 2-glicoproteína 1 que reconhecem a β 2-glicoproteína ligada à sua superfície celular e estimulam a formação de armadilha extracelular de neutrófilos (NET) por meio de mecanismos dependentes de espécies reativas de oxigênio e TLR4¹⁸.

Pacientes com SAF apresentam formação aumentada de NET, depuração de NET prejudicada e maior número de granulócitos circulantes de baixa densidade, que têm uma capacidade

aumentada de produzir citocinas e interferons tipo 1²¹. Este processo de produção de citocinas e quimiocinas é similar ao descrito na COVID-19, com ativação do inflamassoma²², assim como a formação de NETs¹⁷, e eferocitose inadequada destas células, com estimulação contínua do processo inflamatório.

Tais achados têm implicação na prática clínica, com eventuais proposições para tratamento, e eventual bloqueio do processo, como no uso de colchicina²³.

Apesar destas concordâncias entre os mecanismos fisiopatológicos entre as doenças, que embasam o raciocínio para melhor entendimento das doenças, como é sabido, achados concomitantes podem ser somente epifenômenos. Portanto, apesar dos recentes e grandes avanços no entendimento das duas doenças (SAF e COVID-19), é necessária a análise crítica das evidências, abordadas na Parte 2 deste estudo, apresentada a seguir.

Quanto à trombogênese em SARS-CoV2, melhores e mais confiáveis evidências têm sido apresentadas sobre o mecanismo da doença. Com o maior conhecimento da etiopatogenia, mais clara fica a associação com os fenômenos trombóticos. O conhecimento destes mecanismos nos remete a melhores opções de abordagens e maior sucesso terapêutico.

Referências

- Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(5):533-4. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30120-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1).
- Middleton EA, He X-Y, Denorme F, Campbell RA, Ng D, Salvatore SP, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*. 2020;136(10):1169-79. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007008>.
- Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-7. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>.
- Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(6):1421-4. <https://doi.org/10.1111/jth.14830>.
- Dolnikoff M, Duarte-Neto AN, Monteiro RAA, Silva LFF, Oliveira EP, Saldiva PHN, et al. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020 Jun;18(6):1517-9. <https://doi.org/10.1111/jth.14844>.
- Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Jul 9;383(2):120-8. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432>.
- Espirito-Santo DA, Lemos ACB, Miranda CH. In vivo demonstration of microvascular thrombosis in severe COVID-19. *J Thromb Thrombolysis*. 2020 Nov;50(4):790-4. <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02245-x>.
- Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020 Mar 13;367(6483):1260-63. Epub 2020 Feb 19. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
- Fraga-Silva RA, da Silva DG, Montecucco F, Mach F, Stergiopoulos N, da Silva RF, et al. The angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/mas receptor axis: a potential target for treating thrombotic diseases. *Thromb Haemost*. 2012;108:1089-96. <https://doi.org/10.1160/TH12-06-0396>.
- Bertram S, Heurich A, Lavender H, Gierer S, Danisch S, Perin P, et al. Influenza and SARS-Coronavirus Activating Proteases TMPRSS2 and HAT Are Expressed at Multiple Sites in Human Respiratory and Gastrointestinal Tracts. *PLoS One*. 2012;7(4):e35876. Epub 2012 Apr 30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035876>.
- Spiezia L, Boscolo A, Poletto F, Cerruti L, Tiberio I, Campello E, et al. COVID-19-related severe hypercoagulability in patients admitted to intensive care unit for acute respiratory failure. *Thromb Haemost*. 2020 Jun;120(6):998-1000. Epub 2020 Apr 21. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1710018>.
- Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *J Med Virol*. 2020;92:791-6. <https://doi.org/10.1002/jmv.25770>.
- Bester J, Pretorius E. Effects of IL-1 β , IL-6 and IL-8 on erythrocytes, platelets and clot viscoelasticity. *Sci. Rep.* 6, 32188. <https://doi.org/10.1038/srep32188>.
- Regnault V, de Maistre E, Carreaux J-P, Gruel Y, Nguyen P, Tardy B, et al. Platelet activation induced by human antibodies to interleukin-8. *Blood*. 2003 Feb 15;101(4):1419-21. Epub 2002 Oct 10. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-02-0620>.
- Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy*. 2016;8:959-70. <https://doi.org/10.2217/imt-2016-0020>.
- Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk A, Cools-Lartigue J, Crawford JM, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020 Jun 1;217(6):e20200652. <https://doi.org/10.1084/jem.20200652>.
- Veras FP, Pontelli M, Silva C, Toller-Kawahisa J, Lima M, Nascimento D, et al. SARS-CoV-2 triggered neutrophil extracellular traps (NETs) mediate COVID-19 pathology. *J Exp Med*. 2020 Dec 7;217(12):e20201129. <https://doi.org/10.1084/jem.20201129>.
- Yalavarthi S, Gould TJ, Rao AN, Mazza LF, Morris AE, Núñez-Álvarez C, et al. Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies: a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Nov;67(11):2990-3003. <https://doi.org/10.1002/art.39247>.
- Holers VM, Girardi G, Mo L, Guthridge JM, Molina H, Pierangeli SS, et al. Complement C3 activation is required for antiphospholipid antibody-induced fetal loss. *J Exp Med*. 2002 Jan 21;195(2):211-20. <https://doi.org/10.1084/jem.200116116>.
- Mulla MJ, Brosens JJ, Chamley LW, Giles I, Pericleous C, Rahman A, et al. Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway. *Am J Reprod Immunol*. 2009 Aug;62(2):96-111. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00717.x>.
- Marder W, Knight JS, Kaplan MJ, Somers EC, Zhang X, O'Dell AA, et al. Placental histology and neutrophil extracellular traps in lupus and pre-eclampsia pregnancies. *Lupus Sci Med*. 2016 Apr 27;3(1):e000134. eCollection 2016. <https://doi.org/10.1136/lupus-2015-000134>.
- Rodrigues TS, Keyla SG Sa, Ishimoto AY, Becerra A, Oliveira S, Almeida L, et al. Inflammasome activation in COVID-19 patients. 2020 Aug 6. medRxiv 2020.08.05.20168872. <https://doi.org/10.1101/2020.08.05.20168872>.
- Lopes MIF, Bonjorno LP, Giannini MC, Amaral NB, Benatti MN, Rezek UC, et al. Beneficial effects of colchicine for moderate to severe COVID-19: an interim analysis of a randomized, double-blinded, placebo controlled clinical trial. 2020 Aug 12. medRxiv 2020.08.06.20169573. <https://doi.org/10.1101/2020.08.06.20169573>.