

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA

ADRIADNE JUSTI BERTOLIN

**Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros
parâmetros da coagulação**

São Paulo

2024



ADRIADNE JUSTI BERTOLIN

**Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros
parâmetros da coagulação**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutora em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Nicolau

São Paulo

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Bertolin, Adriadne Justi

Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação
plaquetária e outros parâmetros da coagulação / Adriadne Justi
Bertolin; José Carlos Nicolau, orientador. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Cardiologia. Faculdade
de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1.COVID-19 2.SARS-COV-2 3.Multiplate 4.Reatividade
plaquetária 5.Coagulação 6.Tromboelastograma I.Nicolau,
José Carlos, orient. II.Título

USP/FM/DBD-264/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

Aos meus pais, Luiz Carlos e Maria de Lourdes, por sempre acreditarem em mim e por terem abdicado de suas vidas em prol das realizações e da felicidade de suas filhas.

À minha irmã Ariadne, por sua preocupação, pelo carinho e pelo incentivo.

Ao meu marido Willterson, por todo amor e incentivo.

Aos demais familiares e amigos, pela compreensão.

Nada disso teria sentido se vocês não existissem na minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de crescimento e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência.

Aos que se voluntariaram a participar deste protocolo em momentos tão incertos e sombrios quanto o início da pandemia da COVID-19.

Ao Prof. Dr. José Carlos Nicolau, pela orientação, pela competência, pelo profissionalismo e pela dedicação.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Luís Henrique Gowdak, Profa. Dra. Tânia Mara Varejão Strabelli, e ao Prof. Dr. Walter Moisés Tobias Braga, que, gentilmente, aceitaram participar e colaborar com esta tese.

Às amigas Talia Dalçóquio, Rocio Salsoso, Alexandra Vieira, Juliana Brandão, pelo comprometimento, pela preocupação e pelo apoio constantes, principalmente durante a execução deste projeto.

À equipe de pesquisa clínica do centro coordenador de pesquisas clínicas CECIC InCor-HCFMUSP, pela convivência e pela oportunidade de constante aprendizado e crescimento.

Aos colegas da equipe médica e multidisciplinar da Unidade Clínica de Coronariopatia Aguda (UCCA) do InCor-HCFMUSP, pelo acolhimento e pelos ensinamentos.

Aos especializandos em Coronariopatia Aguda, pela UCCA, e aos demais pós-graduandos agradeço, pela compreensão e pelo estímulo durante estes anos.

À Francis e Cláudia, por todo auxílio e pela gentileza diária.

À Dra. Célia Strunz e a toda sua primorosa equipe, pela colaboração constante na ajuda e execução das análises laboratoriais deste protocolo.

Aos colaboradores da secretaria do Programa de Pós-graduação, pela receptividade e disponibilidade.

A todos os demais amigos e amigas do Instituto do Coração (InCor/HCFMUSP), pelo convívio, pela amizade e pelo apoio demonstrado.

Agradeço, especialmente, aos meus pais, por todo amor, pelo companheirismo, pela amizade, pela dedicação e pela compreensão. Sinto-me orgulhosa e privilegiada por ter pais tão especiais. E à minha querida irmã, sempre pronta a me apoiar em tudo nesta vida.

Ao meu marido, por todo amor, pelo carinho, pela compreensão e pelo apoio em todos os momentos desta caminhada.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP*; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Maria Claudia Pestana; Maria Cristina Cavarette Dziabas; Eliana Maria Garcia; Maria Fatima dos Santos, Maria Marta Nascimento; Suely Campos Cardoso. 3a ed. ed. amp. mod. São Paulo: SIBI/USP. 2016. (Caderno de estudos).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

RESUMO

Bertolin AJ. Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros parâmetros da coagulação [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024.

Introdução: A COVID-19 está associada a um aumento no risco de eventos trombóticos. No entanto, o papel da reatividade plaquetária (RP) no desenvolvimento dessa complicação permanece incerto. O objetivo principal do presente estudo foi o de avaliar a RP em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19 em comparação com um grupo-controle composto por voluntários não hospitalizados com sorologia negativa para COVID-19. **Métodos:** Estudo observacional, de caso-controle, que incluiu pacientes com COVID-19 confirmada (grupo COVID-19, n = 60) e voluntários não hospitalizados com sorologia negativa para COVID-19 (grupo-controle, n = 60) pareados por idade e sexo. A RP foi avaliada em ambos os grupos pelo método “point of care” *Multiple-Electrode Aggregometry (MEA)* com difosfato de adenosina (MEA-ADP, baixa RP definida como AUC <53), ácido araquidônico (MEA-ASPI, baixa RP < 86 AUC) e peptídeo ativador do receptor da trombina (MEA-TRAP, baixa RP < 97 AUC). **Resultados:** As taxas de baixa RP avaliadas por MEA-ADP foram de 27,5% no grupo COVID-19 e 21,7% no grupo de controle (OR = 1,60, p = 0,20); por MEA-ASPI, as taxas observadas foram, respectivamente, 37,5% e 22,5% (OR = 3,67, p < 0,001); por MEA-TRAP, as taxas observadas foram 48,5% e 18,8%, respectivamente (OR = 9,58, p < 0,001). Os níveis de D-dímero, fibrinogênio e inibidor do ativador do plasminogênio 1 (PAI-1) foram significativamente maiores no grupo COVID-19, em comparação com o grupo de controle (todos p < 0,05). A tromboelastometria foi avaliada em um subgrupo de pacientes e mostrou um estado de hipercoagulabilidade no grupo COVID-19, com o processo se iniciando após a fase inicial de adesão/agregação plaquetária. **Conclusão:** Os achados do presente estudo sugerem menor RP no grupo de pacientes hospitalizados com COVID-19 não grave, em comparação com controles, apesar de apresentarem níveis mais elevados de D-dímero, fibrinogênio e PAI-1, e hipercoagulabilidade por tromboelastometria.

Palavras-chaves: COVID-19. SARS-COV-2. Multiplate. Reatividade plaquetária. Coagulação. Tromboelastograma.

ABSTRACT

Bertolin AJ. Effect of SARS-CoV-2 infection on platelet aggregation and other coagulation parameters [tese]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2024.

Introduction: COVID-19 is associated with an increased risk of thrombotic events. However, the role of platelet reactivity (PR) in the development of this complication remains uncertain. The main objective of this study was to evaluate PR in hospitalized patients diagnosed with COVID-19 compared to a control group of non-hospitalized volunteers with negative serology for COVID-19. **Methods:** This observational case-control study included patients with confirmed COVID-19 (COVID-19 group, n = 60) and non-hospitalized volunteers with negative serology for COVID-19 (control group, n = 60) matched for age and sex. PR was assessed in both groups using the "point of care" Multiple-Electrode Aggregometry (MEA) method with adenosine diphosphate (MEA-ADP, low PR defined as AUC <53), arachidonic acid (MEA-ASPI, low PR < 86 AUC), and thrombin receptor-activating peptide (MEA-TRAP, low PR < 97 AUC). **Results:** The rates of low PR assessed by MEA-ADP were 27.5% in the COVID-19 group and 21.7% in the control group (OR = 1.60, p = 0.20); by MEA-ASPI, the observed rates were 37.5% and 22.5%, respectively (OR = 3.67, p < 0.001); by MEA-TRAP, the observed rates were 48.5% and 18.8%, respectively (OR = 9.58, p < 0.001). Levels of D-dimer, fibrinogen, and plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) were significantly higher in the COVID-19 group compared to the control group (all p < 0.05). Thromboelastometry in a subset of patients showed a hypercoagulable state in the COVID-19 group, with the process initiating after the initial phase of platelet adhesion/aggregation. **Conclusion:** The findings of this study suggest lower PR in hospitalized patients with non-severe COVID-19 compared to controls, despite having higher levels of D-dimer, fibrinogen, and PAI-1, as well as hypercoagulability indicated by thromboelastometry.

Keywords: COVID-19. SARS-COV-2. Multiplate. Platelet reactivity. Coagulation. Thromboelastometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma do estudo.....	32
Figura 2 -	Correlação entre reatividade plaquetária e tempo de hospitalização	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características basais da população global	33
Tabela 2 -	Frequência dos sintomas gripais nos pacientes COVID-19.....	34
Tabela 3 -	Parâmetros de reatividade plaquetária	34
Tabela 4 -	Reatividade plaquetária no grupo COVID-19 e controle	35
Tabela 5 -	Reatividade plaquetária nos grupos COVID-19 e controle	36
Tabela 6 -	Prevalência ajustada de baixa reatividade plaquetária nos grupos COVID-19 e Controle.....	36
Tabela 7 -	Reatividade plaquetária ajustada em COVID-19 (confirmado por RT-PCR quantitativo positivo) e grupos Controle.....	37
Tabela 8 -	Prevalência ajustada de baixa reatividade plaquetária em COVID-19 (confirmado por RT-PCR quantitativo positivo) e grupos Controle	37
Tabela 9 -	Valores de MEA-ADP excluindo medicamentos que poderiam influenciar a reatividade plaquetária	38
Tabela 10 -	Valores de MEA-ASPI excluindo medicamentos que podem influenciar a reatividade plaquetária	38
Tabela 11 -	Valores de MEA-TRAP excluindo medicamentos que podem influenciar a reatividade plaquetária	39
Tabela 12 -	Análises de subgrupo razões de chances para baixa reatividade plaquetária.....	40
Tabela 13 -	Análises laboratoriais.....	41
Tabela 14 -	Resultados de análises realizadas pelo ROTEM™.....	42
Tabela 15 -	Correlação entre reatividade plaquetária e tempo de hospitalização ≤ 7 de >7 dias	42
Tabela 16 -	Correlação entre reatividade plaquetária e índice de plaquetas imaturas com duração da hospitalização	43
Tabela 17 -	Desfechos clínicos e reatividade plaquetária no grupo COVID-19.....	44
Tabela 18 -	Desfechos clínicos e plaquetas imaturas no grupo COVID-19	45

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Ácido Acetilsalicílico
ADP	Difosfato de Adenosina
ASPI	Ácido Araquidônico
AUC	Área sob a Curva
BB	Betabloqueadores
BRAs	Bloqueadores dos Receptores de Angiotensina
DAC	Doença Arterial Coronariana
DAOP	Doença Arterial Obstrutiva Periférica
DCV	Doença Cardiovascular
DRC	Doença Renal Crônica
ECMO	Oxigenação por Membrana Extracorpórea
FA	Fibrilação Atrial
FC	Frequência Cardíaca
FiO ₂	Fração Inspirada de Oxigênio
FR	Frequência Respiratória
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IC	Intervalo de Confiança
IECA	Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina
IMC	Índice de Massa Corporal
Incor/HCFMUSP	Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease Study Group</i>
MEA	Agregometria de Múltiplos Eletrodos
MEA-ADP	Agregometria de Múltiplos Eletrodos Induzida pelo Difosfato de Adenosina
MEA-ASPI	Agregometria de Múltiplos Eletrodos Induzida pelo Ácido Araquidônico
MEA-TRAP	Agregometria de Múltiplos Eletrodos Induzida pela Trombina
OR	<i>Odds-Ratio</i>
PA	Pressão Arterial

PAI-1	Plasminogênio Tipo 1
PAM	Pressão Arterial Média
PTTa	Tempo de Tromboplastina Parcial ativado
RNI	Relação Normatizada Internacional
ROC	<i>Receiver Operating Curve</i>
ROTEM	Tromboelastograma Rotacional
RP	Reatividade Plaquetária
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEP	Tromboembolismo Pulmonar
TP	Tempo de Protrombina
tPA	Ativador do Plasminogênio Tecidual
TRAP	Peptídeo Ativador do Receptor de Trombina
TRS	Terapia Renal Substitutiva
TT	Tempo de Trombina
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado
UCCA	Unidade Clínica de Coronariopatia Aguda
uPA	Serina Protease Uroquinase
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VM	Ventilação Mecânica
VPM	Volume Plaquetário Médio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO PRIMÁRIO	18
2.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS PRINCIPAIS	18
2.3	OUTROS OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	19
3	HIPÓTESE.....	21
4	METODOLOGIA	23
4.1	DESENHO DO ESTUDO.....	23
4.2	SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES	24
4.3	CÁLCULO AMOSTRAL	24
4.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	25
4.5	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	25
4.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	25
4.7	EXAMES E DESCRIÇÃO DA ANÁLISE DESSES	26
4.7.1	Metodologia dos exames	26
5	QUESTÕES ÉTICAS.....	30
6	RESULTADOS	32
6.1	RESULTADOS GRUPO COVID-19 /VS. GRUPO-CONTROLE (OBJETIVO PRIMÁRIO DO ESTUDO).....	32
6.2	REATIVIDADE PLAQUETÁRIA (RP)	34
6.3	ANÁLISES LABORATORIAIS	40
6.4	PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS.....	41
6.4	CORRELAÇÃO ENTRE RP E TEMPO DE HOSPITALIZAÇÃO OU RESULTADOS INTRA-HOSPITALARES	42
7	DISCUSSÃO	47
7.1	DESFECHO PRIMÁRIO	47
7.1.1	Possíveis explicações fisiopatológicas para os achados do presente estudo	48
7.1.2	Implicações clínicas	49
7.2	DESFECHOS SECUNDÁRIOS	50
8	LIMITAÇÕES.....	53
9	CONCLUSÃO	55

REFERÊNCIAS.....	57
ANEXOS.....	65
ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO INSTITUTO DE INFECTOLOGIA EMÍLIO RIBAS	65
ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS	72

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

É demonstrado que, após infecção viral, há aumento do risco de infarto agudo do miocárdio (IAM)¹. O mecanismo pelo qual a infecção aguda pode ocasionar eventos cardiovasculares isquêmicos pode ser explicado pelo aumento do estado inflamatório e dos níveis de catecolaminas, levando à maior vasoconstrição, lesão endotelial e probabilidade de ruptura da placa aterosclerótica. Além disso, existe demonstração de aumento na ativação plaquetária, tanto por ativação direta por patógenos^{2,3} quanto pelo estado inflamatório secundário à infecção⁴.

Adicionalmente, o processo infeccioso agudo gera um desbalanço no sistema de coagulação com alterações na atividade da antitrombina, nas concentrações de proteína C ativada e no inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1)⁴. Com isso, o estado hiperdinâmico, associado à lesão endotelial e ao microambiente pró-trombótico levariam, em última análise, à instabilização da placa aterosclerótica e formação do trombo, principais responsáveis pelo desencadeamento do evento isquêmico agudo.

Em pacientes com infecções por Influenza A H1N1 complicadas por síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), demonstrou-se maior ativação plaquetária e formação de agregados leucoplaquetários, quando comparados a pacientes hospitalizados por pneumonias bacterianas⁵. Esse achado é de extrema relevância, uma vez que estudos histopatológicos documentaram a presença frequente de trombose microvascular em áreas de perda da integridade da membrana alvéolo-capilar de pacientes com H1N1, mecanismo diretamente envolvido com disfunção orgânica e óbito nesses pacientes². Nesse contexto, demonstrou-se em modelo animal que o uso de antiplaquetários, como inibidor da glicoproteína IIb/IIIa ou clopidogrel, reduziu a incidência de formas graves de injúria pulmonar causadas por Influenza⁶.

Na infecção pelo SARS-CoV-2, apesar dos sintomas iniciais serem majoritariamente respiratórios, demonstrou-se que pacientes com doença cardiovascular (DCV) pré-existente, incluindo doença arterial coronariana (DAC), apresentaram pior prognóstico⁷⁻⁹ em comparação àqueles sem tais comorbidades. Nesses casos, a injúria miocárdica é apontada como um dos mecanismos responsáveis pelo pior desfecho observado em pacientes com DCV pré-existent⁸.

Por outro lado, há forte evidência de que a infecção pelo SARS-CoV-2 também se associa a fenômenos aterotrombóticos. Dados derivados de necrópsia e de observações clínicas destacam o papel potencial das plaquetas na patogênese da COVID-19^{10,11}. Além disso, assim

como observado em outras etiologias infecciosas, demonstrou-se, em pacientes com COVID-19, elevação de d-dímero e níveis mais elevados desse parâmetro se associaram à maior necessidade de Unidade de Terapia Intensiva (UTI)⁹ e maior mortalidade⁷. Outros biomarcadores circulantes que refletem a atividade plaquetária (por exemplo, ligante solúvel de CD40, P-selectina, tromboxano B2) foram independentemente associados ao risco de trombose e morte em pacientes com COVID-19¹².

Embora no momento da elaboração desse projeto houvesse alguma evidência que sugeria maior reatividade plaquetária (RP) em pacientes com COVID-19^{13,14}, inexistia, do que seja do nosso conhecimento, qualquer publicação analisando prospectivamente a RP na COVID-19, objetivo primário do presente estudo.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Comparar a RP induzida pelo ADP e analisada pelo MEA-ADP em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19 (grupo COVID-19) *versus* grupo-controle.

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS PRINCIPAIS

- Comparar a RP induzida pelo ácido araquidônico (MEA-ASPI) e pela trombina (MEA-TRAP) no grupo COVID-19 *versus* grupo-controle;
- Comparar os níveis da fração de plaquetas imaturas no grupo COVID-19 *versus* grupo-controle;
- Comparar a RP (pelo MEA ADP, ASPI e TRAP) em participantes do grupo COVID-19 com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, necessidade de UTI, necessidade de intubação durante a hospitalização e eventos trombóticos – definidos como trombose arterial ou venosa, como infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral (AVC) e tromboembolismo pulmonar (TEP) diagnosticados de acordo com as diretrizes atuais^{15,16};
- Comparar os níveis da fração de plaquetas imaturas em participantes do grupo COVID-19 com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI e necessidade de intubação durante a hospitalização;
- Comparar os níveis de RP (pelo MEA ADP, ASPI e TRAP), em participantes do grupo COVID-19, com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI;
- Correlacionar os níveis da fração de plaquetas imaturas, em participantes do grupo COVID-19, com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI.

Entre os objetivos secundários principais, estavam previstas análises referentes ao terceiro grupo (grupo COVID-19 negativo). Entretanto, devido a dificuldades burocráticas e técnicas este grupo não foi incluído (conforme descrito no item 4.2 – Seleção dos Participantes).

2.3 OUTROS OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Comparar os seguintes parâmetros nos grupos: COVID-19, grupo-controle:
 - Hemograma;
 - Contagem plaquetária;
 - Volume plaquetário médio (VPM);
 - P-selectina;
 - D-dímero;
 - PAI-1;
 - Fibrinogênio;
 - Interleucina-6 (IL-6)
 - Tempo de Tromboplastina Parcial ativado (PTTa);
 - Tempo de protrombina (TP);
 - Tromboelastograma Rotacional (ROTEM).
- Analisar o objetivo primário do estudo nos seguintes subgrupos (avaliação basal, levando-se em conta parâmetros obtidos na hospitalização):
 - Sexo (masculino/feminino);
 - Idade ≥ 65 anos ou < 65 anos;
 - História de hipertensão arterial (presença ou não);
 - Uso de estatina (sim ou não);
 - Uso de AAS (sim ou não);
 - IMC < 30 ou $\geq 30 \text{ kg/m}^2$;
 - Clearance de creatinina calculado pela fórmula do *Modification of Diet in Renal Disease Study Group* (MDRD)¹⁷ $< 60 \text{ ml/min/m}^2$ ou $\geq 60 \text{ ml/min/m}^2$;
 - Tabagismo atual (sim ou não).

3 HIPÓTESE

3 HIPÓTESE

A infecção pelo SARS-CoV-2 aumenta a RP.

4 METODOLOGIA

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo observacional de caso-controle, no qual foram comparados dois grupos: 1) Pacientes hospitalizados com SARS-Cov-2 positivo (grupo COVID-19) e 2) Voluntários pareados por idade e sexo (grupo-controle).

Pacientes que se apresentaram com menos de 72 horas de hospitalização em enfermaria por sintomas respiratórios, foram avaliados para elegibilidade e, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), foram submetidos à coleta de sangue para avaliação laboratorial. Os exames realizados são descritos na sequência (Item 4.7).

Os seguintes parâmetros foram coletados quando da inclusão do paciente no estudo:

1. Avaliação de dados hemodinâmicos: pressão arterial (PA), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC);
2. Uso de medicação vasoativa; parâmetros respiratórios: frequência respiratória (FR), uso de oxigenioterapia e fração inspirada de oxigênio (FiO₂).

Os participantes foram acompanhados durante toda sua hospitalização, e os seguintes parâmetros de interesse clínico foram coletados:

1. Necessidade de ventilação mecânica (VM);
2. Tempo total (em dias) de VM;
3. Necessidade de internação em UTI;
4. Tempo total (em dias) de internação em UTI (quando aplicável);
5. Tempo total (em dias) de hospitalização;
6. Necessidade de terapia renal substitutiva (TRS);
7. Necessidade de utilização de oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO);
8. Ocorrência de eventos trombóticos, ocorrência de sangramento e óbito.

4.2 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

A inclusão dos participantes dos grupos COVID-19 e grupo-controle foram realizadas no período de abril de 2020 a julho de 2020 no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor/HCFMUSP) e no Hospital das Clínicas HCFMUSP. A inclusão de um terceiro grupo de participantes hospitalizados por sintomas respiratórios, mas com testes negativos para COVID-19 (grupo COVID-19 negativo) foi programada para ser realizada concomitantemente à inclusão dos grupos COVID-19 e grupo-controle; entretanto, devido à impossibilidade de importação dos reagentes para análise da RP, no contexto da pandemia da COVID-19, naquela ocasião (do início das inclusões), foram priorizadas as inclusões dos grupos COVID-19 e grupo-controle, pois correspondiam ao objetivo primário do estudo. Posteriormente, tentamos viabilizar o grupo com internação por sintomas respiratórios COVID-19 negativo, mas isso se mostrou de muito difícil exequibilidade na nossa instituição. Fizemos, então, uma tentativa adicional no sentido de equacionar o problema, incluindo como centros coparticipantes o Instituto de Infectologia Emílio Ribas e o Hospital Sírio Libanês. Entretanto, devido a problemas burocráticos que agregaram morosidade ao processo de inclusão dos centros coparticipantes, além de problemas operacionais na execução das inclusões nos centros coparticipantes, fomos obrigados a desistir da inclusão do terceiro grupo (objetivo secundário). A fim de demonstrar o empenho da equipe, anexamos a esta tese os Anexos A e B, nos quais constam os pareceres consubstanciados da aprovação da inclusão dos centros coparticipantes, bem como, histórico dos respectivos processos.

4.3 CÁLCULO AMOSTRAL

Para a realização do cálculo amostral, utilizou-se dados da literatura que demonstravam RP média pelo método MEA-ADP em indivíduos saudáveis sem uso de terapia antiplaquetária de $81 \pm 16,7$ AUC¹⁸. Para um aumento esperado de 20% na RP no grupo COVID-19, em relação ao grupo-controle, foi calculada a n de 46 pacientes em cada grupo, levando-se em conta poder de 98% e índice alfa bicaudal de 0,01. Considerando uma margem de segurança de 30%, foram incluídos 60 participantes no grupo COVID-19 e 60 voluntários para o grupo-controle (totalizando 120 participantes).

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade > 18 anos;
- Concordância em assinar o TCLE;
- Grupo COVID-19: pacientes com RT-PCR quantitativo ou sorologia positiva para COVID-19 com até 72 horas de hospitalização em enfermaria por sintomas respiratórios;
- Grupo-controle: voluntários sem histórico de doenças crônicas (exceto hipertensão arterial, obesidade dislipidemia), assintomáticos do ponto de vista respiratório e com sorologia negativa para COVID-19.

4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Disfunção plaquetária conhecida ou contagem plaquetária <100.000/ μ L ou >450.000/ μ L;
- Doença terminal definida como uma expectativa de vida de seis meses ou menos¹⁹;
- Hepatopatia ou distúrbio da coagulação conhecidos;
- Hematócrito menor que 34% ou maior que 55%;
- Uso prévio de antiplaquetários e/ou anticoagulantes (exceto ácido acetilsalicílico e heparina profilática);
- Pacientes em ventilação mecânica invasiva ou recebendo alto fluxo de oxigênio.

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados estão apresentados como número absoluto e percentual (variáveis categóricas), médias $\pm$ desvio padrão (variáveis contínuas de distribuição Gaussiana), ou medianas com percentis 25-75 (variáveis contínuas de distribuição não Gaussiana).

As variáveis categóricas foram analisadas com a utilização do teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando indicado. As variáveis contínuas foram analisadas pelo teste ANOVA e teste de Tukey (distribuição Gaussiana) ou por testes não paramétricos Kruskal-Wallis e teste de Dunn (distribuição não-Gaussiana). O Teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para analisar a distribuição (normal ou não) das variáveis contínuas. Quando necessário, foram desenvolvidos modelos ajustados para análises dos objetivos secundários,

utilizando-se testes de regressão logística ou linear. Foram considerados estatisticamente significantes os resultados com valor de p inferior a 0,05 bicaudal.

4.7 EXAMES E DESCRIÇÃO DA ANÁLISE DESSES

Todas as coletas sanguíneas para as dosagens laboratoriais citadas nos objetivos do estudo foram realizadas seguindo a seguinte rotina: após repouso de 15 minutos na posição sentada, com torniquetes leves e tempo de garroteamento curto (<1 minuto) da veia antecubital utilizando agulhas de borboleta 19G. Os primeiros 3 mL foram coletados em tubos hirudina S-Monovettes (Sarstedt, Nuembrecht, Alemanha). As análises de RP foram realizadas entre 30 minutos e 3:00 horas após a coleta da amostra sanguínea (mediana 115 minutos) (20).

4.7.1 Metodologia dos exames

- I. Agregometria de sangue total por Impedância elétrica pelo método *Multiplate*® (*Multiple Electrode Aggregometry – Roche Diagnostics*) – MEA: técnica que mede a agregometria do sangue total pela avaliação da impedância elétrica entre dois eletrodos imersos no sangue total após a adição de um agonista. Após 30 minutos de repouso, o MEA foi realizado em sangue total a 37°, no sistema *Multiplate*; conforme recomendado pelo fabricante, foram adicionados 0,3 mL de solução salina isotônica pré-aquecida (37°C) a 0,3 mL de sangue total na célula de teste do *Multiplate*, seguido por incubação por 3 minutos a 37°C. Em seguida, a agregação foi induzida pela adição dos agonistas: ácido araquidônico (ASPI), difosfato de adenosina (ADP) ou de peptídeo ativador do receptor de trombina (TRAP). Os resultados foram obtidos em velocidade de agregação ou área sob a curva (AUC) e, quanto maiores, maior a RP.
- II. Plaquetas imaturas; analisadas pelo Sysmex XN-2000®: medida da IPF (porcentagem de plaquetas com alta intensidade de fluorescência) no canal reticulócito/plaqueta por citometria de fluxo por meio de corante contendo polimetano e oxazine, o qual penetra na membrana celular e cora o RNA das plaquetas imaturas. As células marcadas passam por um cilindro de laser diodo semiconductor que mede a dispersão (volume celular) e a intensidade da fluorescência (conteúdo de RNA).

- III. Volume Plaquetário Médio (VPM): é determinado através da contagem de plaquetas com base na análise dimensional, em que as plaquetas são reconhecidas pelo seu tamanho. Durante essa análise, as plaquetas passam por um orifício que gera um pulso elétrico proporcional ao seu volume. Isso leva à criação de um histograma e de uma curva que classifica e distribui as plaquetas de acordo com o tamanho delas. O VPM é calculado a partir dessa curva, sendo obtido pela divisão do plaquetócrito.
- IV. Coagulograma: as amostras foram coletadas em tubos contendo citrato de sódio a 3,8% e foram centrifugadas a 3.000 rotações por minuto, por um período de 10 minutos. A análise foi conduzida utilizando um método coagulométrico empregando o equipamento TcoagDestinyMax e um kit específico (TcoagCLOT). O coagulograma engloba os testes de Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) e Tempo de Trombina (TT). Os resultados do TP são expressos em segundos, atividade da protrombina e a relação normalizada internacional (RNI). O RNI é calculado dividindo-se o TP do paciente pelo TP do controle normal, elevado ao índice de normalização internacional (ISI). Os resultados do TTPA são expressos em segundos e em relação (TTPA do paciente dividido pelo TTPA do controle normal), e os resultados do TT são reportados em segundos.
- V. Hemograma e contagem de plaquetas: a análise foi conduzida utilizando amostra coletada em um tubo contendo EDTA (sangue total) processada em um contador eletrônico automatizado, ADVIA 120 (*Siemens Healthcare Diagnostics*, Newark, USA), que emprega reações químicas (colorimétricas) e citoquímicas. O equipamento realiza a análise de todos os parâmetros por meio de laser (dispersão de luz), e para a diferenciação dos leucócitos, são empregadas duas metodologias distintas: o método de análise da peroxidase e o método basofilar ou basofilocitário.
- VI. PAI-1: inibe a serina protease uroquinase (uPA) e o ativador do plasminogênio tecidual (tPA), resultando na inibição da fibrinólise. A elevação do PAI-1 plasmático tem sido descrita como um fator protrombótico em distúrbios tromboembólicos arteriais e venosos¹³. Além disso, altos níveis de PAI-1 estão associados ao aumento da incidência de síndromes coronárias agudas. A determinação do PAI-1 plasmático foi realizada por ELISA.

- VII. P-Selectina: atua como um receptor que suporta a ligação de leucócitos a plaquetas ativadas e ao endotélio. A P-selectina é mediadora de interações adesivas célula-célula e, provavelmente, é importante nos processos hemostáticos e inflamatórios. A determinação da P-selectina foi realizada por ELISA.
- VIII. Fibrinogênio: quantificação do fibrinogênio plasmático segundo o método de Clauss. Para isso, foi utilizado o kit STA-R®, STA Compact® e STA Satellite®.
- IX. D- Dímero: a determinação do D- dímero plasmático foi realizada por ensaio imunoturbidimétrico. Para isso, foi utilizado o kit comercial STA® - Liatest® D-Di.
- X. IL-6. a quantificação de IL-6 *in vitro*, no soro ou plasma humano, foi realizada pelo ensaio ADVIA Centaur® Interleukin-6 usando o ADVIA Centaur XP e Sistemas ADVIA Centaur XPT.
- XI. As propriedades viscoelásticas do coágulo, como formação do coágulo (tempo de coagulação e tempo de formação do coágulo), força do coágulo (firmeza máxima do coágulo), ângulo alfa e lise do coágulo, foram determinadas usando o dispositivo delta ROTEM (*Instrumentation Laboratory*, Bedford, MA, EUA).

5 QUESTÕES ÉTICAS

5 QUESTÕES ÉTICAS

O presente estudo “Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros fatores da coagulação” foi um subprojeto do “Estudo diagnóstico e prognóstico de infecção por SARS-CoV-2 e Influenza vírus” número de processo FAPESP: 2020/04705-2, aprovado pela CONEP sob número CAAE 30299620.7.0000.0068.

O presente estudo “Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros fatores da coagulação” foi enviado para apreciação da (Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP - CAAE: 34121120.2.0000.0068) e foi registrado em ClinicalTrials.gov (NCT04447131). Este estudo também foi encaminhado para a Coordenação de Pós-Graduação em Cardiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por se tratar de um projeto de tese de doutorado (SDC 5089/20/118).

O estudo foi conduzido de acordo com as normas da Declaração de Helsinki. Todos os participantes assinaram o TCLE, antes da realização de qualquer procedimento, conforme as normas de boas práticas clínicas em pesquisa em seres humanos.

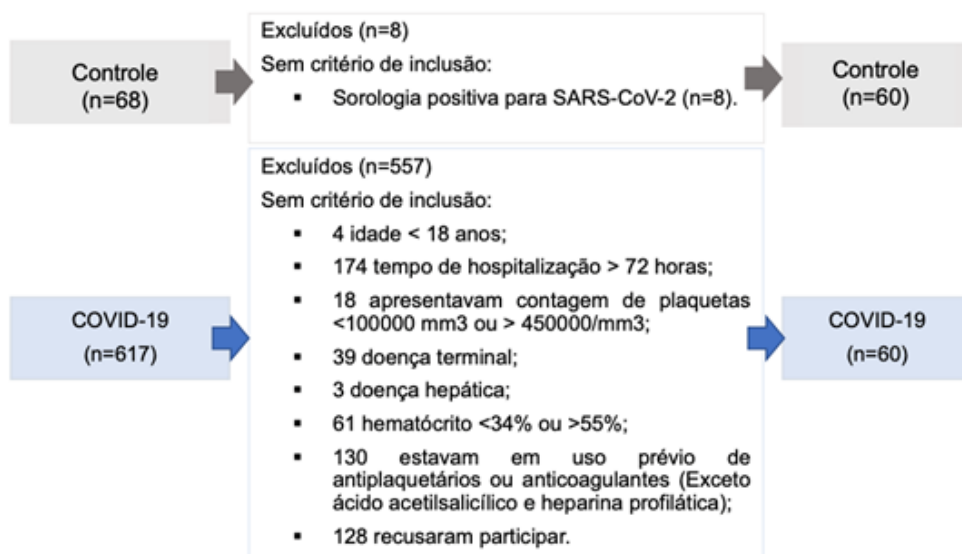
6 RESULTADOS

6 RESULTADOS

6.1 RESULTADOS GRUPO COVID-19 VS. GRUPO-CONTROLE (OBJETIVO PRIMÁRIO DO ESTUDO)

Como se nota na Figura 1, foram triados 617 pacientes hospitalizados no Instituto do Coração InCor/HCFMUSP e no Hospital das Clínicas/HCFMUSP por síndrome respiratória, entre abril e julho de 2020; destes, 60 pacientes foram incluídos no Grupo COVID-19. Os principais motivos de exclusão no grupo COVID-19 foram tempo de hospitalização >72 h (n = 174), uso de antiplaquetário/anticoagulante diferente de aspirina em baixa dose ou heparina profilática (n = 130) e recusa de consentimento (n = 128). No período de junho a julho de 2020, foram triados 68 voluntários, dentre os quais, 60 participantes foram incluídos no grupo-controle. O motivo de exclusão de 8 participantes foi a presença de IGM e/ou IGG positiva para SARS-COV-2.

Figura 1 - Fluxograma do estudo



Fonte: Produção da autora (2024).

As características basais da população estão descritas na Tabela 1. Como esperado pela técnica de pareamento aplicada, os grupos COVID-19 e controle se mostraram similares em relação ao sexo e à idade, mas diferenças significativas entre os grupos foram notadas em relação a diabetes, a índice de massa corporal e à doença arterial coronária.

Tabela 1 - Características basais da população global

	COVID-19 (n=60)	Controle (n=60)	p valor
Idade (anos), média ($\pm$ DP)	52,41 ($\pm$ 15,09)	51,13 ($\pm$ 14,28)	0,63 ^a
Sexo masculino, n (%)	31 (51,67)	31 (51,67)	0,92 ^b
Oxigênio suplementar, n (%)	44 (73,3%)	NA	NA
FiO ₂ , mediana (P 25-75)	0,28 (0,25-0,34)	NA	NA
Hipertensão, n (%)	28 (46,6)	18 (30)	0,60 ^b
Diabetes, n (%)	18 (30)	1 (1,67)	<0,001 ^b
Dislipidemia, n (%)	10 (16,67)	5 (8,33)	0,16 ^b
IMC (Kg/m ²), média ($\pm$ SD)	31,9 ($\pm$ 6,4)	28,4 ($\pm$ 4,9)	0,001 ^a
IMC $\geq$ 30 (Kg/m ²), n (%)	33 (55)	21 (35)	0,02 ^b
DAC, n (%)	5 (8,3)	0 (0)	0,02 ^b
FA, n (%)	0 (0)	0 (0)	NA
Doença valvar, n (%)	0 (0)	0 (0)	NA
Insuficiência Cardíaca, n (%)	0 (0)	0 (0)	NA
Transplante cardíaco, n (%)	2 (3,33)	0 (0)	0,15 ^b
Acidente vascular cerebral, n (%)	0 (0)	0 (0)	NA
DAOP, n (%)	0 (0)	0 (0)	NA
DRC, n (%)	1 (1,67)	0 (0)	1,0 ^b

IMC, índice de massa corporal; DAC, doença arterial coronariana; FA, fibrilação atrial; DAOP, doença arterial obstrutiva periférica; DRC, doença renal crônica; FiO₂ = fração inspirada de oxigênio (variação de 0 a 1); P 25-75: percentis 25 e 75; SD, desvio padrão.

^a = Student T-test;

^b = Teste do qui-quadrado.

NA, não se aplica.

Todos os pacientes do grupo COVID-19 estavam em uso de heparina profilática e 7 estavam em uso de baixa dose de aspirina.

Os sintomas respiratórios mais frequentemente apresentados no grupo COVID-19 foram dispneia (80%) e tosse seca (70%). As taxas dos outros sintomas estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Frequência dos sintomas gripais nos pacientes COVID-19

Sintomas	COVID-19
Febre, n (%)	48 (80)
Dispneia, n (%)	48 (80)
Tosse seca, n (%)	42 (70)
Perda de paladar, n (%)	34 (56,7)
Mialgia, n (%)	34 (56,7)
Cefaleia, n (%)	27 (45)
Diarreia, n (%)	24 (40)
Anosmia, n (%)	22 (36,7)
Dor de garganta, n (%)	16 (26,7)
Congestão nasal, n (%)	16 (26,7)
Tosse produtiva, n (%)	13 (21,7)

6.2 REATIVIDADE PLAQUETÁRIA (RP)

Conforme demonstrado na Tabela 3, médias numericamente menores de RP foram observadas no grupo COVID-19 em relação ao grupo-controle (ao contrário do esperado), com diferenças significativas ($P < 0.001$) quando analisadas por MEA-ASPI e MEA-TRAP. Adicionalmente, médias numericamente maiores de plaquetas imaturas foram observadas no grupo COVID-19, porém sem atingir significância estatística.

Tabela 3 - Parâmetros de reatividade plaquetária

	N	COVID-19	N	Controle	p*
MEA-ADP (AUC), média ($\pm$ DP)	60	53,8 ($\pm$ 24,21)	60	54,4 ($\pm$ 20,45)	0,88*
MEA-ASPI (AUC). média ($\pm$ DP)	60	63,71 ($\pm$ 29,18)	60	87,46 ($\pm$ 25,52)	<0,001*
MEA-TRAP (AUC). média ($\pm$ DP)	56	72,23 ($\pm$ 20,97)	45	100 ($\pm$ 23,27)	<0,001*
Fração de plaqueta imatura (%), mediana (P 25-75)	52	4,0 (3,0 – 5,9)	56	3,55 (2,6 – 5,3)	0,17**
Contagem de plaquetas imaturas ($10^3/\text{mm}^3$), média ($\pm$ DP)	52	1098.6 ($\pm$ 569,1)	56	921.2 ($\pm$ 488,1)	0,08*

*Teste T de Student;

**Teste de Mann-Whitney MEA,

Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, ácido araquidônico; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; AUC, área sob a curva.

Os resultados de RP não mudaram substancialmente em um modelo de regressão linear multivariável (ajustados para as seguintes covariáveis: diabetes, obesidade e doença arterial coronariana) (Tabela 4).

Tabela 4 - Reatividade plaquetária no grupo COVID-19 e controle

	Diferença da média ajustada*	(95% IC)	p valor
MEA-ADP (AUC)	0,66	-8,22 a 9,53	0,89
MEA-ASPI (AUC)	- 18,78	-29,48 a -8,09	0,001
MEA-TRAP (AUC)	-27,20	-36,71 a - 17,69	<0,001*

* Diferença média = agregação plaquetária (AUC) no grupo COVID-19 menos o grupo-controle. Modelos ajustados por regressão linear, para as seguintes covariáveis: diabetes, presença de obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m²) e doença arterial coronariana.

PR, reatividade plaquetária; MEA, Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, ácido araquidônico; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; IC, intervalo de confiança; AUC, área sob a curva.

Não houve diferença nos valores medianos do MEA ADP com relação ao dia de coleta. No D1 (n=22), o valor mediano do MEA ADP foi 45,5 (33,5-63,8), no D2 (n=25), o valor mediano do MEA ADP foi 45,0 (38,0-68,0) e, no D3 (n=13), o valor mediano de MEA ADP foi 57,0 (33,5-67,0), p=0,88.

Como demonstrado na Tabela 5, os pacientes do grupo COVID-19 tiveram maior prevalência de baixa RP (baixa RP foi definida como valor abaixo da faixa normal, conforme especificado na bula do fabricante (MEA-ADP <53 AUC; MEA- ASPI <86 AUC e para MEA-TRAP <97 AUC). OS valores de RP baixa foram estatisticamente significativos para MEA-ASPI e MEA-TRAP, mas não para MEA-ADP. Os resultados não mudaram substancialmente em um modelo de regressão logística multivariável (ajustados para as seguintes covariáveis: diabetes, obesidade e doença arterial coronariana) (Tabela 6).

Tabela 5 - Reatividade plaquetária nos grupos COVID-19 e controle

	N	COVID-19	N	Controle	OR (95% IC)	p valor
Baixa RP pelo MEA-ADP ^a , n (%)	60	33 (55)	60	26 (43,33)	1,6 (0,80-3,30)	0,20*
Baixa RP pelo MEA- ASPI ^b , n (%)	60	45 (75)	60	27 (45)	3,67 (1,69-7,96)	<0,001*
Baixa RP pelo MEA-TRAP ^c , n (%)	56	49 (81,67)	45	19 (31,67)	9,58 (3,57-27,74)	<0,001*

^a MEA-ADP <53 AUC;^b MEA-ASPI <86 AUC;^c MEA-TRAP <97 AUC;

*Qui-quadrado;

RP, reatividade plaquetária; MEA, Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, ácido araquidônico; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; OR, razão de chances; IC, intervalo de confiança; AUC, área sob a curva.

Tabela 6 - Prevalência ajustada de baixa reatividade plaquetária nos grupos COVID-19 e Controle

	N	COVID-19	N	Controle	OR Ajustado (95% IC)	p valor
Baixa RP pelo MEA-ADP ^a , n (%)	60	33 (27,5)	60	26 (21,7)	1,26 (0,57-2,77)	0,57
Baixa RP pelo MEA- ASPI ^b , n (%)	60	45 (37,5)	60	27 (22,5)	2,52 (1,10-5,73)	0,028
Baixa RP pelo MEA-TRAP ^c , n (%)	56	49 (48,5)	45	19 (18,8)	9,70 (3,23-29,24)	<0,001

^a MEA-ADP <53 AUC;^b MEA-ASPI <86 AUC;^c MEA-TRAP <97 AUC.

* Modelos ajustados por regressão logística, para as seguintes covariáveis: diabetes, presença de obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) e doença arterial coronariana.

RP, reatividade plaquetária; MEA, Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, ácido araquidônico; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; OR, razão de chances; IC, intervalo de confiança; AUC, área sob a curva.

Oito pacientes tiveram COVID-19 confirmado por sorologia (a doença foi confirmada por RT-PCR quantitativo positivo nos 52 pacientes restantes); a exclusão desses 8 pacientes não alterou os resultados principais (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7 - Reatividade plaquetária ajustada em COVID-19 (confirmado por RT-PCR quantitativo positivo) e grupos Controle

	Diferença média ajustada*	(95% IC)	p valor
MEA-ADP (AUC)	0,32	-9,10 to 9,72	0,95
MEA-ASPI (AUC)	- 19,93	-31,05 to -8,81	0,001
MEA-TRAP (AUC)	-27,68	-37,70 to - 17,65	<0,001*

* Diferença média = agregação plaquetária em AUC no COVID-19 menos o grupo-controle. Modelos ajustados por regressão linear, para as seguintes covariáveis: diabetes, presença de obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) e doença arterial coronariana.

RP, reatividade plaquetária; MEA, Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, ácido araquidônico; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; IC, intervalo de confiança; AUC, área sob a curva.

Tabela 8 - Prevalência ajustada de baixa reatividade plaquetária em COVID-19 (confirmado por RT-PCR quantitativo positivo) e grupos Controle

	N	COVID-19	N	Controle	Ajustado OR (95% IC)	p valor
Baixa RP pelo MEA-ADP ^a , n (%)	60	33 (27,5)	60	26 (21,7)	1,42 (0,63-3,20)	0,41
Baixa RP pelo MEA- ASPI ^b , n (%)	60	45 (37,5)	60	27 (22,5)	2,73 (1,16-6,43)	0,022
Baixa RP pelo MEA-TRAP ^c , n (%)	56	49 (48,5)	45	19 (18,8)	11,52 (3,48-38,17)	<0,001

^a MEA-ADP <53 AUC;

^b MEA-ASPI <86 AUC;

^c MEA-TRAP <97 AUC.

* Modelos ajustados por regressão logística, para as seguintes covariáveis: diabetes, presença de obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) e doença arterial coronariana.

RP, reatividade plaquetária; MEA, Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, ácido araquidônico; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; OR, razão de chances; IC, intervalo de confiança; AUC, área sob a curva.

Além disso, após a exclusão de 7 participantes no grupo COVID-19 e 1 no grupo-controle em uso de ácido acetilsalicílico (AAS), os resultados permaneceram semelhantes: a RP mediana no grupo COVID-19 foi numericamente menor em relação ao grupo-controle, atingindo significância estatística para MEA-ASPI e MEA-TRAP. As tabelas 9, 10 e 11 mostram a RP nos dois grupos, excluindo o uso o AAS e dos demais medicamentos que poderiam influenciar a RP. Os resultados foram semelhantes aos obtidos para toda a população, evidenciando que as medicações listadas nas Tabelas 9, 10 e 11 não influenciaram a RP.

Tabela 9 - Valores de MEA-ADP excluindo medicamentos que poderiam influenciar a reatividade plaquetária

	N	COVID-19	N	Controle	p*
AAS ^a (-)	53	56,4 (±24,3)	59	54,7 (±20,5)	0,69*
BRAs ^b (-)	56	52,3 (±23,3)	53	56,9 (±20,0)	0,27*
IECA ^c (-)	58	54,5 (±24,2)	54	54,3 (±20,8)	0,96*
BB ^d (-)	55	54,4 (±24,6)	57	53,9 (±20,4)	0,90*
Ceftriaxone (-)	13	42 (26,5-56,0)	60	55,0 (38,8-70,8)	0,09**
Azitromicina (-)	23	45,0 (34,0-78,0)	60	55,0 (38,8-70,8)	0,70**
Claritromicina (-)	56	53,8 (±24,21)	60	54,4 (±20,45)	0,88*
Piperacilina Tazobactam (-)	56	54,2 (±25,0)	60	55,0 (38,8-70,8)	0,97*
Oseltamivir (-)	45	54,3 (±23,7)	60	54,4 (±20,45)	0,98*
Corticosteroides (-)	28	53,1 (±21,1)	60	54,4 (±20,45)	0,98*

^a AAS= ácido acetilsalicílico;^b BRAs = Bloqueadores dos receptores de angiotensina;^c IECA = Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina;^d BB = Betabloqueadores;

*Teste T-Student;

** Teste de Mann-Whitney.

Tabela 10 - Valores de MEA-ASPI excluindo medicamentos que podem influenciar a reatividade plaquetária

	N	COVID-19	N	Controle	p*
AAS ^a (-)	53	67,4 (±28,1)	59	88,1 (±25,3)	<0,001*
BRAs ^b (-)	56	62,3 (±27,8)	53	91,5 (±25,5)	<0,001*
IECA ^c (-)	58	64,7 (±29,2)	54	88,5 (±25,8)	<0,001*
BB ^d (-)	55	63,8 (±29,0)	57	87,0 (±25,9)	<0,001*
Ceftriaxone (-)	13	62,0 (35,0-75,5)	60	87,0 (73,0-105,0)	<0,001**
Azitromicina (-)	23	62,0 (39,0-83,0)	60	87,0 (73,0-105,0)	<0,001**
Claritromicina (-)	56	63,71 (±29,18)	60	87,46 (±25,52)	<0,001*
Piperacilina Tazobactam (-)	56	63,0 (±29,1)	60	87,46 (±25,52)	<0,001*
Oseltamivir (-)	45	66,4 (±30,0)	60	87,46 (±25,52)	<0,001*
Corticosteroides (-)	28	65,5 (±29,0)	60	87,46 (±25,52)	0,001*

^a AAS= ácido acetilsalicílico;^b BRAs = Bloqueadores dos receptores de angiotensina;^c IECA= Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina;^d BB = Betabloqueadores;

*Teste T-Student;

** Teste de Mann-Whitney.

Tabela 11 - Valores de MEA-TRAP excluindo medicamentos que podem influenciar a reatividade plaquetária

	N	COVID-19	N	Controle	p*
AAS ^a (-)	50	73,6 (±21,6)	44	100,8 (±22,8)	<0,001*
BRAs ^b (-)	52	72,9 (±20,6)	42	102,8 (±20,8)	<0,001*
IECA ^c (-)	54	72,8 (±21,0)	40	100,9 (±23,0)	<0,001*
BB ^d (-)	51	72,4 (±20,9)	44	99,3 (±23,1)	<0,001*
Ceftriaxone (-)	11	64,0 (51,0-87,0)	45	101,0 (88,5-118,0)	<0,001**
Azitromicina (-)	21	75,0 (55,0-91,5)	45	101,0 (88,5-118,0)	<0,001**
Claritromicina (-)	56	72,23 (±20,97)	45	100 (±23,27)	<0,001*
Piperacilina Tazobactam (-)	52	72,5 (±21,5)	45	100 (±23,27)	<0,001*
Oseltamivir (-)	42	72,8 (±21,8)	45	100 (±23,27)	<0,001*
Corticosteroides (-)	27	74,7 (±19,2)	45	100 (±23,27)	<0,001*

^a AAS= ácido acetilsalicílico;^b BRAs = Bloqueadores dos receptores de angiotensina;^c IECA= Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina;^d BB = Betabloqueadores;

*Teste T-Student;

** Teste de Mann-Whitney.

Na Tabela 12, são apresentados os resultados obtidos em diferentes subgrupos pré-especificados (sexo, idade, HAS, obesidade e estatina). Como se nota, apenas idade influenciou de forma significativa os resultados obtidos (p-interação=0,045), apesar de que o grupo COVID apresentou maior chance de baixa agregabilidade plaquetária tanto nos pacientes com <65 anos quanto naqueles com 65 anos ou mais.

Tabela 12 - Análises de subgrupo razões de chances para baixa reatividade plaquetária

Variáveis de interesse		OR (IC 95%)	p de interação*
Sexo	feminino (n=58)	2,07 (0,71 – 6,06)	0,12
	masculino (n=62)	1,30 (0,47– 3,58)	
Idade	< 65 anos (n=98)	1,37 (0,62 – 3,04)	0,045
	≥ 65 anos (n=22)	2,67 (0,42 – 16,83)	
HAS	Não (n=74)	2,00 (0,78 – 5,14)	0,17
	Sim (n=46)	0,77 (0,22 – 2,67)	
Obesidade	Não (n=65)	2,18 (0,79 – 5,99)	0,71
	Sim (n=54)	0,97 (0,32 – 2,89)	
Estatina	Não (n=104)	1,58 (0,73 – 3,43)	0,48
	Sim (n=16)	1,50 (0,19 – 11,54)	

* Regressão logística binária;

OR = “Odds-Ratio”; IC = Intervalo de confiança. As análises de subgrupos de acordo com uso de AAS e clearance de creatinina pelo MDRD, embora pré-especificadas, não foram realizadas, pois os 8 participantes que usavam AAS apresentaram baixa RP pelo MEA ADP e os dados de clearance de creatinina não foram coletados no grupo-controle; Baixa reatividade plaquetária pelo ADP foi definida como MEA-ADP <53 AUC.

6.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

A Tabela 13 mostra os resultados para as demais análises laboratoriais pré-especificadas. Pacientes com COVID-19 apresentaram níveis mais baixos de hemoglobina e linfócitos ($p < 0,001$ para ambos) em comparação ao grupo-controle; no entanto, maiores valores para VPM ($p < 0,001$), PAI-1 ($p = 0,02$), D-dímero ($p < 0,001$), fibrinogênio ($p < 0,001$) e interleucina-6 ($p < 0,001$) foram observados no grupo COVID-19 em comparação ao grupo-controle. Não houve diferenças significativas entre os grupos em relação às demais variáveis analisadas.

Tabela 13 - Análises laboratoriais

	N	COVID-19	N	Controle	p valor
Hemoglobina (g/dL), média ($\pm$ DP)	60	13,32 ($\pm$ 1,63)	60	14,35 ($\pm$ 1,56)	<0,001**
Leucócitos($10^3/\text{mm}^3$), mediana (P25-75)	60	6895 (5010-6895)	60	6595 (5530-7612)	0,33*
Linfócitos ($10^3/\text{mm}^3$), mediana (P25-75)	60	1091 (845-1424)	60	2088 (1604-2553)	<0,001*
Plaquetas($10^3/\text{mm}^3$), mediana (P25-75)	60	236,5 (170.1-314.5)	60	242.5 (206.8-292.3)	0,75*
VPM (fL), mediana (P25-75)	60	10,5 (9,6-10,9)	60	9,8 (9,1-10,4)	<0,001*
Fração de plaquetas imaturas (%), mediana (P25-75)	52	4,0 (3,0 - 5,9)	56	3,55 (2,6 - 5,3)	0,17*
Contagem de plaquetas imaturas ($10^3/\text{mm}^3$), média ($\pm$ DP)	52	1098.6 ($\pm$ 569.1)	56	921.2 ($\pm$ 488.1)	0,08**
P-selectina (ng/mL), mediana (P25-75)	55	79,9 (62,1-106,7)	57	80,7 (64,7-108,0)	0,53*
PAI-1 (ng/mL), mediana (P25-75)	52	595,4 (427,3-897,0)	57	478,8 (312,2-663,0)	0,02*
D-dímero (ng/mL), mediana (P25-75)	57	966,0 (624,0-1431,0)	56	270,0 (270,0-317,5)	<0,001*
Fibrinogênio (mg/dL), média ($\pm$ DP)	49	615,4 ($\pm$ 152,1)	58	326,3 ($\pm$ 74,1)	<0,001*
TTPa (s), mediana (P25-75)	58	35,2 (32,1-40,0)	60	34,8 (32,8-38,5)	0,72*
TP (s), mediana (P25-75)	59	13,6 (12,9-14,3)	60	13,5 (13,1-14,1)	0,89*
Interleucina-6 (pg/mL), mediana (P25-75)	57	7,90 (2,70-31,1)	55	2,70 (2,70-3,80)	<0,001*

VPM, volume plaquetário médio; PAI-1, inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1; TTPa, tempo de tromboplastina parcial ativado; TP, tempo de protrombina; DP, desvio padrão; P25-75, percentis 25-75.

* Teste de Mann-Whitney;

** Teste T-Student.

6.4 PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS

Conforme demonstrado na Tabela 14, os pacientes com COVID-19 apresentaram maiores tempos de coagulação ($p = 0,03$), provavelmente relacionados ao uso de heparina nesse grupo. Além disso, em comparação com o grupo-controle, o grupo COVID-19 apresentou menor tempo médio de formação do coágulo ($p = 0,04$), maior ângulo alfa ($p = 0,02$) e maior firmeza máxima do coágulo ($p = 0,03$).

Tabela 14 - Resultados de análises realizadas pelo ROTEM™

	N	COVID-19	N	Controle	p valor
TC ^a (s), mediana (P25-75)	21	103,0 (95,0 - 119,2)	14	91,0 (83,5 - 100,4)	0,035*
TFC ^b (s), mediana (P25-75)	21	64,0 (56,2 - 73,0)	14	78,0 (67,5 - 89,0)	0,047*
α^c , mediana (P25-75)	21	77,0 (75,0 - 81,0)	14	74,5 (72,7 - 77,2)	0,027*
FMC ^d , mediana (P25-75)	21	68,0 (64,0 - 72,5)	14	63,5 (60,7 - 67,7)	0,035*
ML ^e (%), mediana (P25-75)	21	14 (10 - 45,5)	14	36,5 (13,5 - 56,7)	0,092*
LI30 ^f (%), mediana (P25-75)	21	99,0 (80,5 - 100,0)	14	96,0 (82,7 - 100,0)	0,931*

^a TC, tempo de coagulação;^b TFC, tempo de formação do coágulo;^c α , ângulo alfa;^d FMC, firmeza máxima do coágulo;^e ML, lise máxima;^f LI30, índice de lise 30 mín após TC; P25-75, percentis 25-75;

*Teste de Mann-Whitney.

6.4 CORRELAÇÃO ENTRE RP E TEMPO DE HOSPITALIZAÇÃO OU RESULTADOS INTRA-HOSPITALARES

Os resultados da correlação entre os testes de RP e o tempo de hospitalização ≤ 7 versus > 7 dias são apresentados na Tabela 15. Correlações inversamente significativas foram observadas para MEA-ADP e MEA-TRAP, mas não para MEA-ASPI. Considerando o tempo de hospitalização como uma variável contínua, obteve-se resultado semelhante, com correlações significativas para MEA-ADP e MEA-TRAP, mas não para MEA-ASPI (Tabela 15). Não houve correlação entre função e contagem de plaquetas imaturas com o tempo de hospitalização (Tabela 16).

Tabela 15 - Correlação entre reatividade plaquetária e tempo de hospitalização ≤ 7 de > 7 dias

Tempo de hospitalização	MEA-ADP	MEA-ASPI	MEA-TRAP
≤ 7 dias (média $\pm$ DP)	65,92 $\pm$ 25,56 N=25	68,76 $\pm$ 26,18 N=25	82,96 $\pm$ 19,96 N=25
> 7 dias (média $\pm$ DP)	45,91 $\pm$ 19,0 N=34	61,29 $\pm$ 30,67 N=34	63,58 $\pm$ 17,74 N=31
p-valor	0,001	0,33	<0,001

MEA, Agregometria de múltiplos eletrodos; ADP, difosfato de adenosina; ASPI, aspirina; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina; DP, desvio padrão.

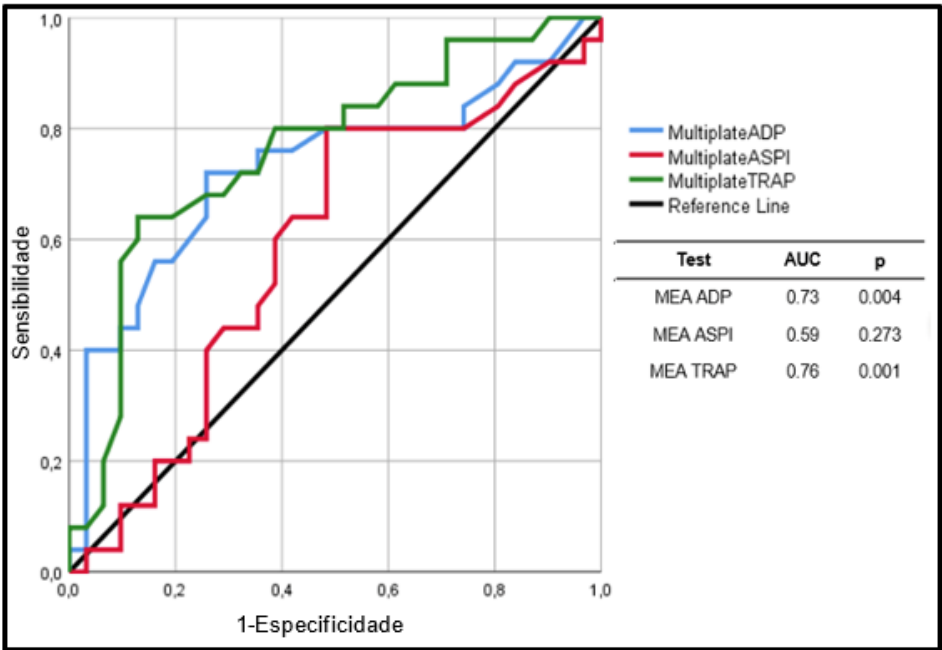
Tabela 16 - Correlação entre reatividade plaquetária e índice de plaquetas imaturas com duração da hospitalização

	r_s^*	P
MEA-ADP	-0,37	0,004
MEA-ASPI	-0,16	0,23
MEA-TRAP	-0,39	0,003
Fração de plaquetas imaturas	0,05	0,75
Contagem de plaquetas imaturas	-0,11	0,45

* Coeficiente de correlação de Spearman's.

A predição do tempo de hospitalização >7 dias com base na RP medida por MEA com diferentes agonistas é mostrada na Figura 2. MEA-ADP e MEA-TRAP tiveram valores preditivos bons e significativos para hospitalização mais curta, com AUCs de 0,73 ($p = 0,004$) e 0,76 ($p=0,001$), respectivamente. Por outro lado, o valor preditivo para MEA-ASPI foi pobre.

Figura 2 - Correlação entre reatividade plaquetária e tempo de hospitalização



Fonte: Produção da autora (2024).

Curva ROC (*Receiver Operating Curve*) para previsão do tempo de internação hospitalar superior a 7 dias com base na reatividade plaquetária medida pelo ensaio de Agregometria de múltiplos eletrodos (MEA). ADP, difosfato de adenosina; ASPI, aspirina; TRAP, peptídeo ativador do receptor de trombina.

A correlação entre RP e desfechos clínicos é demonstrada na Tabela 17. A RP foi consistentemente menor em pacientes com eventos, mas alcançou significância estatística apenas com MEA-ADP para o desfecho composto de mortalidade, eventos trombóticos e necessidade de internação em terapia intensiva ou ventilação mecânica. Por regressão logística multivariada, pacientes com baixa reatividade plaquetária por MEA-ADP apresentaram OR = 4,0 (IC 95% 0,99–16,25, $p = 0,053$) para a incidência do desfecho composto durante a hospitalização.

Tabela 17 - Desfechos clínicos e reatividade plaquetária no grupo COVID-19

		N	MEA-ADP (AUC), Mediana (P25-75)	N	MEA- ASPI (AUC), mediana (P25-75)	N	MEA-TRAP (AUC), mediana (P25-75)
Mortalidade intra-hospitalar	+	7	45,0 (34,0-52,0)	7	40,0 (31,0-78,0)	7	78,0 (44,0-85,0)
	-	53	50,0 (34,5-67,5)	53	62,0 (40,0-87,5)	49	68,0 (55,0-91,0)
	p		0,33*		0,32*		0,75*
Eventos trombóticos	+	2	43,5 (42,0-)	2	56,0 (22,0-)	2	65,0 (64,0-)
	-	58	50,0 (34,0-65,3)	58	61,5 (39,0-84,0)	54	72,0 (54,8-91,0)
	p		0,62*		0,76*		0,72*
Internação em terapia intensiva	+	11	38,0 (33,0-58,0)	11	50,0 (37,0-99,0)	10	78,0 (47,0-88,5)
	-	49	50,0 (35,5-71,5)	49	62,0 (40,0-85,0)	46	67,5 (55,8-91,0)
	p		0,17*		0,67*		0,91*
Ventilação mecânica	+	7	45,0 (34,0-52,0)	7	40,0 (22,0-78,0)	6	78,0 (60,8-88,5)
	-	53	50,0 (34,5-67,5)	53	62,0 (40,0-87,5)	50	67,5 (54,8-91,0)
	p		0,32*		0,30*		0,75*
Desfecho composto ^a	+	14	40,0 (32,8-53,5)	14	45,0 (32,5-92,3)	13	67,0 (47,0-82,0)
	-	46	54,0 (35,8-75,0)	46	62,0 (41,8-84,0)	43	72,0 (56,0-91,0)
	p		0,049*		0,34*		0,44*

^a Desfecho composto: Mortalidade intra-hospitalar, Eventos trombóticos, Unidade de Terapia Intensiva e Ventilação Mecânica;

*Teste de Mann-Whitney

A correlação entre plaquetas imaturas e desfechos clínicos é demonstrada na Tabela 18. A fração de plaquetas imaturas foi consistentemente menor em pacientes com óbito intra-hospitalar e maior nos que evoluíram com necessidade de ventilação mecânica com significância estatística. A contagem de plaquetas imaturas não alcançou significância estatística para nenhum dos desfechos clínicos.

Tabela 18 - Desfechos clínicos e plaquetas imaturas no grupo COVID-19

		N	Fração de plaquetas imaturas (%), mediana (P25-75)	Contagem de plaquetas imaturas (10 ³ /mm ³) mediana (P25-75)
Mortalidade intra-hospitalar	+	5	3,9 (2,9-5,8)	1201,5 (659,6-1533,9)
	-	47	8,2 (4,2-8,9)	1015,2 (688,6-1316,1)
	P		0,045*	0,58*
Eventos trombóticos	+	0	NA	NA
	-	52	4,0 (3,0-5,9)	1041,4 (701,0-1361,8)
	P		NA	NA
Internação em terapia intensiva	+	10	4,1 (2,7-8,4)	786,7 (602,8-1249,9)
	-	42	4,0 (3,2-5,9)	1090,0 (738,9-1379,4)
	P		0,95*	0,24*
Ventilação mecânica	+	5	8,2 (5,4-9,0)	1201,5 (856,6-1533,9)
	-	47	3,5 (2,9-9,0)	1015,2 (660,0-1316,1)
	P		0,008*	0,32*
Desfecho composto ^a	+	11	4,0 (2,9-8,2)	777,2 (548,1-1201,5)
	-	41	3,4 (3,2-5,9)	1130,7 (746,8-1381,8)
	P		0,83*	0,09*

^a Desfecho composto: Mortalidade intra-hospitalar, Eventos trombóticos, Unidade de Terapia Intensiva e Ventilação Mecânica;

*Teste de Mann-Whitney.

7 DISCUSSÃO

7 DISCUSSÃO

7.1 DESFECHO PRIMÁRIO

Neste estudo, ao contrário da hipótese inicial, observou-se menor RP em pacientes com COVID-19 em comparação com o grupo-controle.

Quando da publicação dos resultados do presente estudo, poucas publicações prévias haviam analisado o comportamento da RP na COVID-19.

O estudo de Manne et al.¹³ analisou RP em 10 indivíduos saudáveis em relação a 15 participantes hospitalizados por COVID-19 (enfermaria ou UTI) pelo método de agregometria ótica (Chrono-Log, Havertown, PA), e encontrou maiores valores de PR em pacientes com COVID-19, ao contrário do presente estudo. O estudo de Nicolai et al. demonstrou que os casos de COVID-19 com gravidade moderada ($n = 8$) apresentavam plaquetas esgotadas e um fenótipo de neutrófilos hiporreativos, enquanto os pacientes gravemente afetados ($n = 9$) apresentavam níveis mais altos de ativação de plaquetas e neutrófilos¹⁴. Já Zaid et al. encontraram hiperreatividade plaquetária avaliada, por agregometria ótica em resposta ao agonista plaquetário α -trombina em pacientes com COVID-19 ($n=10$), em comparação com pacientes com SDRA não relacionada à COVID-19 ($n=8$)²¹. Finalmente, Heinz et al. encontraram menor RP no COVID-19 ($n=27$) em comparação com controles saudáveis ($n=12$) pelo MEA ADP, 68 ± 37 U vs. 91 ± 29 U [-27 (Hodges-Lehmann 95% CI, -48 a -1 $P = 0,043$)]²².

Possíveis explicações para as diferenças observadas poderiam incluir o número de pacientes incluídos (o presente estudo é o que tem maior casuística), a heterogeneidade das populações estudadas (pacientes em enfermaria, UTI ou ambos) e as próprias metodologias utilizadas. De nota, o estudo de Heinz et al. foi o único entre os citados que utilizou MEA e, como no presente estudo, encontrou menores níveis de RP no grupo COVID-19. O método MEA mede a mudança na impedância elétrica secundária à agregação plaquetária induzida por agonista no sangue total, o que permite a avaliação da função plaquetária em condições mais fisiológicas do que outros métodos^{20,23}.

Posteriormente à publicação dos resultados do presente estudo, foram publicados outros que também abordaram o comportamento da RP na COVID-19: Barret et al. avaliaram a RP em pacientes hospitalizados por COVID-19 ($n=8$) e em Controles ($n=10$), usando um agregômetro por transmissão de luz (Helena AggRAM). A RP em resposta a doses submáximas dos agonistas (ADP, 1 μ M; epinefrina, 0,1 μ M; e colágeno, 0,2 μ M) revelou que as plaquetas de pacientes com COVID-19 eram hiperreativas em comparação com controles²⁴. Jakobs et al.

demonstraram que, na COVID-19 moderada a grave (n=50), em comparação com pacientes hospitalizados por síndrome respiratória com pesquisa negativa para COVID-19 (n=37), a RP avaliada pelo MEA TRAP, ADP e ASPI foi maior no grupo COVID-19²⁵. Tacquard et al. encontraram RP reduzida, avaliada por agregômetro por transmissão de luz (LTA – *Light Transmission Agregometry*), independentemente do agonista utilizado (ADP, 2,5 µg·mL⁻¹; colágeno, 2 µM; U46619 ou 50 µM TRAP) no grupo COVID-19 (n=6-8) em comparação com controle saudável (n=16-18)²⁶. Kalbhenn et al. avaliaram a RP por transmissão de luz utilizando o agregômetro APACT 4.0 (*Labor Biomedical Technologies*, Ahrensburg, Alemanha) e demonstraram que as plaquetas de pacientes com COVID-19 (n=13) apresentaram baixa RP após estimulação com ADP, colágeno ou epinefrina. A agregação com colágeno foi patológica em 92%, com ADP em 72% e com epinefrina em 55% de todos os casos analisados²⁷. Finalmente, Rieder et al. avaliaram a RP pelo MEA em pacientes COVID-19 positivos (n=20) moderado a grave em comparação com pacientes COVID-19 negativos (n=55) e controles saudáveis (n=15). Ao final, demonstraram que a maioria dos pacientes COVID-19 positivos apresentou valores de RP abaixo do intervalo de referência, com uma diminuição significativa em comparação com os controles saudáveis em resposta ao TRAP (CI, -70,8 a -32,9; P < 0,0001), ADP (IC, -57,7 a -14,9; P = 0,0002) e ASPI (IC, -72,2 a -16,9; P = 0,0005). As RP do grupo positivo para COVID-19 não foi apenas inferior às dos controles saudáveis, mas também foi menor em comparação com as dos pacientes negativos para COVID-19 após incubação com TRAP (IC, -45,7 para -8,9; P = 0,002), ADP (IC, -32,6 a 0,2; P = 0,05) e ASPI (IC, -50,3 a -8,0; P = 0,003)²⁸.

Em resumo, do que seja do nosso conhecimento, o presente estudo é o de maior casuística sobre o assunto. A demonstração de diminuição da RP em pacientes com COVID-19 vai de encontro à maioria dos resultados reportados, principalmente em pacientes não graves, e com a utilização do método MEA.

7.1.1 Possíveis explicações fisiopatológicas para os achados do presente estudo

A ocorrência de dano endotelial foi demonstrado na COVID-19, o que pode levar a um ambiente pró-trombótico na microcirculação e consequente ativação da cascata de coagulação e deposição de plaquetas²⁹. Assim, nossos achados de baixa RP observados em resposta ao ASPI e ao TRAP pelo MEA podem ser atribuídos ao fato de que as plaquetas, durante a COVID-19, estariam ativadas “in-vivo”, levando à refratariedade subsequente à exposição aos agonistas adicionados durante os testes de função plaquetária ex-vivo. Esse fenômeno

(chamado de plaquetas “exaustas”) foi descrito em pacientes com neoplasias sólidas, acidente vascular cerebral e sepse³⁰, e foi observado em pacientes com COVID-19 moderado a grave^{14,31}. Além disso, como a maioria das plaquetas reativas pode ser consumida na microcirculação durante a COVID-19, as plaquetas circulantes podem ser menos reativas. Na mesma direção, a diminuição da RP pelo MEA também é descrita em pacientes com sepse³². Portanto, os presentes resultados sugerem que, em pacientes com COVID-19, a ativação plaquetária contínua in-vivo pode levar a uma resposta reduzida aos agonistas ativadores ex-vivo.

O presente estudo sugere que idade pode influenciar a meta principal desse (comparação da RP entre os grupos COVID-19 e controle). Entretanto, saliente-se de que, apesar da significativa interação encontrada ($P=0,045$), tanto nos indivíduos mais jovens quanto nos mais idosos, a probabilidade de baixa RP foi maior no grupo COVID-19. A hipótese de plaquetas exaustas também poderia explicar esses achados, já que uma das alterações mais documentadas na função plaquetária durante o envelhecimento é a hiperatividade plaquetária³³ e o aumento da agregação em resposta a menores concentrações de ADP³⁴⁻³⁷. Assim, uma ativação plaquetária in-vivo mais sensível a menores concentrações de ADP e mais intensa poderia levar a uma resposta reduzida ex-vivo.

7.1.2 Implicações clínicas

Com base em nossas observações, não haveria benefício no uso de antiagregantes plaquetários em pacientes com COVID-19 internados em enfermaria, o que vem sendo corroborado por estudos clínicos recentes. Sahai et al. realizaram análises de correspondência de propensão para determinar se o tratamento com aspirina ou anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) influenciava a incidência de eventos trombóticos em pacientes com COVID-19. Foram analisados 22.072 pacientes sintomáticos, demonstrando-se que nem a aspirina nem os AINEs influenciaram eventos trombóticos adversos ou morte em pacientes com COVID-19. Esses resultados sugerem que a aspirina não parece prevenir trombose e morte na COVID-19, e que os mecanismos de trombose nessa doença parecem ser distintos³⁸. Na mesma direção, análise do estudo RECOVERY com 14.892 pacientes não encontrou benefício da aspirina adicionada à trombopprofilaxia padrão ou terapia anticoagulante em pacientes hospitalizados com COVID-19³⁹. Já estudo ACTIV-4a demonstrou que, em pacientes hospitalizados por COVID-19 com comprometimento moderado, a inibição adicional de P2Y₁₂ não diminuiu eventos clínicos⁴⁰. O estudo ACTIV-4b demonstrou que, em pacientes ambulatoriais

sintomáticos clinicamente estáveis com COVID-19, o tratamento com aspirina ou apixabana em comparação a placebo não reduziu a taxa de desfecho clínico composto⁴¹.

Finalmente, metanálise com 15.782 analisados encontrou que o uso de agentes antiplaquetários na COVID-19, em comparação a controles, não apresentou qualquer benefício clínico (RR = 0,97, IC 95% 0,90 a 1,04, I²=0%, p=0,38). Em relação ao risco de trombose, os agentes antiplaquetários resultaram em uma diminuição não significativa no risco correspondente em comparação com controles (RR=0,88, IC 95% 0,77 a 1,02, I²=0%, p=0,08), às custas de um aumento significativo no risco de sangramento maior no grupo que utilizou antiplaquetários (RR = 1,58, 95% IC 1,19 a 2,10, I²=0%, p=0,002)⁴².

7.2 DESFECHOS SECUNDÁRIOS

Distúrbios da cascata de coagulação foram relatados em pacientes com COVID-19^{43,44}. Semelhante a estudos anteriores, os presentes resultados demonstraram que pacientes com COVID-19 exibiram níveis mais altos de D-dímero e fibrinogênio em comparação a indivíduos saudáveis^{45,46}.

As análises realizadas pelo ROTEM evidenciaram diferenças significativas entre os grupos, com menor tempo de formação do coágulo, maior ângulo alfa e maior firmeza máxima do coágulo no grupo COVID-19, indicando um estado de hipercoagulabilidade que vem de encontro aos achados da literatura. Além disso, observou-se, numericamente, menor fibrinólise no grupo COVID-19, que, entretanto, não atingiu significância estatística; esse achado é sugestivo de desligamento da fibrinólise na COVID-19, conforme demonstrado anteriormente por diferentes metodologias^{45,47-49}.

Em relação ao PAI-1, observamos maiores níveis no marcador no grupo COVID-19. Análises anteriores no SARS-CoV-1 revelaram regulação positiva de genes associados à via de coagulação, como o PAI-1⁵⁰. A regulação positiva do gene PAI-1 demonstrou inibir a fibrinólise e promover a deposição de fibrina durante os estados inflamatórios⁵¹.

No que se refere à obesidade, publicações prévias demonstraram associação positiva do sobrepeso e da obesidade com RP^{52,53}, e associação negativa entre obesidade e ação antiagregante da aspirina⁵⁴. O fato de haver um número maior de pacientes obesos no grupo COVID-19 vai de encontro a essas publicações, uma vez que o grupo COVID-19 apresentou menor RP em relação ao grupo-controle.

Os eventos trombóticos são uma das principais preocupações em pacientes com COVID-19, sendo o risco proporcional à gravidade do quadro clínico (em 46% de 143 pacientes submetidos a exames rotineiros de ultrassonografia de extremidades inferiores houve diagnóstico de trombose venosa profunda), e a presença desses fenômenos se associam a pior prognóstico⁵⁵. Em nossa população, houve apenas 2 casos (3,3%) de eventos trombóticos diagnosticados clinicamente (Infarto agudo do miocárdio e tromboembolismo pulmonar), achado que pode estar relacionado a menor risco da nossa população e/ou ao fato de todos os pacientes estarem recebendo heparina profilática.

A terapia antitrombótica na COVID-19 foi avaliada em estudos clínicos randomizados, incluindo estudos de doses terapêuticas de heparina e anticoagulantes orais de ação direta. Seus resultados, de forma resumida, evidenciaram que, em pacientes gravemente enfermos pela COVID-19, estes não se beneficiam de anticoagulação em doses terapêuticas⁵⁶⁻⁵⁸, ao contrário de pacientes com COVID-19 hospitalizados, mas não gravemente enfermos⁵⁹. Esses achados foram corroborados em metanálise que evidenciou que pacientes hospitalizados com COVID-19 moderadamente doentes podem se beneficiar de dose intermediária ou terapêutica anticoagulação, enquanto pacientes gravemente enfermos não se beneficiaram⁶⁰.

Finalmente, é importante salientar que, do que seja do nosso conhecimento, o presente estudo é o único estudo a correlacionar o tempo de hospitalização com RP em pacientes com COVID-19, mostrando que a RP baixa tem boa correlação e valor preditivo para hospitalização mais longa.

8 LIMITAÇÕES

No presente estudo, todos os pacientes com COVID-19 estavam recebendo heparina de baixo peso molecular em doses profiláticas, o que poderia ter influenciado nossos resultados. Entretanto, é importante salientar que publicação prévia do nosso grupo não encontrou associação significativa entre enoxaparina em dose terapêutica e níveis de RP⁶¹.

Além disso, outros medicamentos que também podem influenciar a RP foram utilizados em diferentes proporções na população com COVID-19; entretanto, a exclusão de cada um desses medicamentos não alterou os resultados demonstrados para o grupo geral.

9 CONCLUSÃO

9 CONCLUSÃO

Os achados do presente estudo sugerem menor RP no grupo de pacientes hospitalizados com COVID-19 não grave em comparação com controles, apesar de apresentarem níveis mais elevados de D-dímero, fibrinogênio e PAI-1, e estado de hipercoagulabilidade pela tromboelastometria. Esses dados são importantes no entendimento da fisiopatologia da COVID-19, com evidentes implicações clínicas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Kwong JC, Schwartz KL, Campitelli MA, Chung H, Crowcroft NS, Karnauchow T, Katz K, Ko DT, McGeer AJ, McNally D, Richardson DC, Rosella LC, Simor A, Smieja M, Zahariadis G, Gubbay JB. Acute myocardial infarction after laboratory-confirmed influenza infection. *N Engl J Med*. 2018 Jan 25;378(4):345-353. doi: 10.1056/NEJMoa1702090.
2. H Hottz ED, Bozza FA, Bozza PT. Platelets in immune response to virus and immunopathology of viral infections. *Front Med (Lausanne)*. 2018 Apr 30;5:121. doi: 10.3389/fmed.2018.00121.
3. McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis: the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2008 Jun;8(2):99-117. doi: 10.2174/187152908784533739.
4. Corrales-Medina VF, Madjid M, Musher DM. Role of acute infection in triggering acute coronary syndromes. *Lancet Infect Dis*. 2010 Feb;10(2):83-92. doi: 10.1016/S1473-3099(09)70331-7.
5. Rondina MT, Brewster B, Grissom CK, Zimmerman GA, Kastendieck DH, Harris ES, Weyrich AS. In vivo platelet activation in critically ill patients with primary 2009 influenza A(H1N1). *Chest*. 2012 Jun;141(6):1490-5. doi: 10.1378/chest.11-2860.
6. Lê VB, Schneider JG, Boergeling Y, Berri F, Ducatez M, Guerin JL, Adrian I, Errazuriz-Cerda E, Frasilho S, Antunes L, Lina B, Bordet JC, Jandrot-Perrus M, Ludwig S, Riteau B. Platelet activation and aggregation promote lung inflammation and influenza virus pathogenesis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 Apr 1;191(7):804-19. doi: 10.1164/rccm.201406-1031OC.
7. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054-62. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
8. Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol*. 2020 May;17(5):259-60. doi: 10.1038/s41569-020-0360-5.
9. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, Wang B, Xiang H, Cheng Z, Xiong Y, Zhao Y, Li Y, Wang X, Peng Z. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Mar 17;323(11):1061-9. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
10. Taus F, Salvagno G, Canè S, Fava C, Mazzaferri F, Carrara E, Petrova V, Barouni RM, Dima F, Dalbeni A, Romano S, Poli G, Benati M, De Nitto S, Mansueto G, Iezzi M, Tacconelli E, Lippi G, Bronte V, Minuz P. Platelets promote thromboinflammation in SARS-CoV-2 pneumonia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020 Dec;40(12):2975-2989. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315175.

11. Rapkiewicz AV, Mai X, Carsons SE, Pittaluga S, Kleiner DE, Berger JS, Thomas S, Adler NM, Charytan DM, Gasmi B, Hochman JS, Reynolds HR. Megakaryocytes and platelet-fibrin thrombi characterize multi-organ thrombosis at autopsy in COVID-19: A case series. *EClinicalMedicine*. 2020;24:100434. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100434.
12. Barrett TJ, Lee AH, Xia Y, Lin LH, Black M, Cotzia P, Hochman J, Berger JS. Platelet and vascular biomarkers associate with thrombosis and death in coronavirus disease. *Circ Res*. 2020 Sep 11;127(7):945-7. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317803.
13. Manne BK, Denorme F, Middleton EA, Portier I, Rowley JW, Stubben C, Petrey AC, Tolley ND, Guo L, Cody M, Weyrich AS, Yost CC, Rondina MT, Campbell RA. Platelet gene expression and function in patients with COVID-19. *Blood*. 2020 Sep 10;136(11):1317-29. doi: 10.1182/blood.2020007214.
14. Nicolai L, Leunig A, Brambs S, Kaiser R, Weinberger T, Weigand M, Muenchhoff M, Hellmuth JC, Ledderose S, Schulz H, Scherer C, Rudelius M, Zoller M, Höchter D, Keppler O, Teupser D, Zwißler B, von Bergwelt-Baildon M, Kääh S, Massberg S, Pekayvaz K, Stark K. Immunothrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure and coagulopathy. *Circulation*. 2020 Sep 22;142(12):1176-89. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048488.
15. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White WD. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(18):2231-64. doi: 10.1161/CIR.0000000000000617.
16. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing GJ, Harjola VP, Huisman MV, Humbert M, Jennings CS, Jiménez D, Kucher N, Lang IM, Lankeit M, Lorusso R, Mazzolai L, Meneveau N, Áinle FN, Prandoni P, Pruszczyk P, Righini M, Torbicki A, Van Belle E, Zamorano JL; The Task Force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC). 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): The Task Force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Respir J*. 2019 Oct 9;54(3):1901647. doi: 10.1183/13993003.01647-2019.
17. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. modification of diet in renal disease study group. *Ann Intern Med*. 1999 Mar 16;130(6):461-70. doi: 10.7326/0003-4819-130-6-199903160-00002.
18. Rubak P, Villadsen K, Hvas AM. Reference intervals for platelet aggregation assessed by multiple electrode platelet aggregometry. *Thromb Res*. 2012 Sep;130(3):420-3. doi: 10.1016/j.thromres.2012.06.017.
19. Hui D, Nooruddin Z, Didwaniya N, Dev R, De La Cruz M, Kim SH, Kwon JH, Hutchins R, Liem C, Bruera E. Concepts and definitions for "actively dying," "end of life," "terminally ill," "terminal care," and "transition of care": a systematic review. *J Pain Symptom Manage*. 2014 Jan;47(1):77-89. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2013.02.021.

20. Panicea R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag*. 2015 Feb 18;11:133-48. doi: 10.2147/VHRM.S44469.
21. Zaid Y, Guessous F, Puhm F, Elhamdani W, Chentoufi L, Morris AC, Cheikh A, Jalali F, Boilard E, Flamand L. Platelet reactivity to thrombin differs between patients with COVID-19 and those with ARDS unrelated to COVID-19. *Blood Adv*. 2021 Feb 9;5(3):635-9. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003513.
22. Heinz C, Miesbach W, Herrmann E, Sonntagbauer M, Raimann FJ, Zacharowski K, Weber CF, Adam EH. Greater fibrinolysis resistance but no greater platelet aggregation in critically ill COVID-19 patients. *Anesthesiology*. 2021 Mar 1;134(3):457-67. doi: 10.1097/ALN.0000000000003685.
23. McGlasson DL, Fritsma GA. Whole blood platelet aggregometry and platelet function testing. *Semin Thromb Hemost*. 2009 Mar;35(2):168-80. doi: 10.1055/s-0029-1220325.
24. Barrett TJ, Bilaloglu S, Cornwell M, Burgess HM, Virginio VW, Drenkova K, Ibrahim H, Yuriditsky E, Aphinyanaphongs Y, Lifshitz M, Xia Liang F, Alejo J, Smith G, Pittaluga S, Rapkiewicz AV, Wang J, Iancu-Rubin C, Mohr I, Ruggles K, Stapleford KA, Hochman J, Berger JS. Platelets contribute to disease severity in COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2021 Dec;19(12):3139-53. doi: 10.1111/jth.15534.
25. Jakobs K, Reinshagen L, Puccini M, Friebel J, Wilde AB, Alsheik A, Rroku A, Landmesser U, Haghighia A, Kränkel N, Rauch-Kröhnert U. Disease Severity in Moderate-to-severe COVID-19 is associated with platelet hyperreactivity and innate immune activation. *Front Immunol*. 2022 Mar 11;13:844701. doi: 10.3389/fimmu.2022.844701.
26. Tacquard C, Mouriaux C, Delabranche X, Bourdon C, Eckly A, Magnenat S, Sattler L, Gachet C, Mertes PM, Hechler B, Mangin PH. Platelet dysfunction and thrombus instability in flow conditions in patients with severe COVID-19. *Thromb Res*. 2023 Jan;221:137-48. doi: 10.1016/j.thromres.2022.11.004.
27. Kalbhenn J, Pooth JS, Trummer G, Kranzhöfer D, Schlagenhauf A, Zieger B. Pervasive platelet secretion defects in patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Cells*. 2023 Jan 3;12(1):193. doi: 10.3390/cells12010193.
28. Rieder M, Baldus N, Stallmann D, Jeserich M, Goller I, Wirth L, Pollmeier L, Hofmann M, Bode C, Busch HJ, Schmid B, Gauchel N, Scharf RE, Duerschmied D, Lothar A, Krauel K. Early SARS-CoV-2 infection: platelet-neutrophil complexes and platelet function. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023 Jan;7(1):100025. doi: 10.1016/j.rpth.2022.100025.
29. Roberts KA, Colley L, Agbaedeng TA, Ellison-Hughes GM, Ross MD. Vascular manifestations of COVID-19 - thromboembolism and microvascular dysfunction. *Front Cardiovasc Med*. 2020 Oct 26;7:598400. doi: 10.3389/fcvm.2020.598400.
30. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol*. 2019 Mar;16(3):166-79. doi: 10.1038/s41569-018-0110-0.

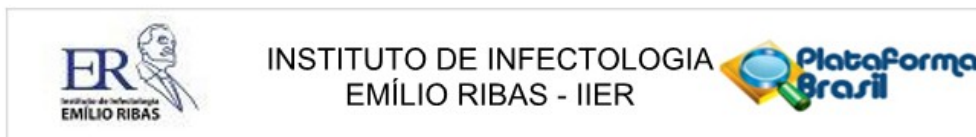
31. Ercan H, Schrottmaier WC, Pirabe A, Schmuckenschlager A, Pereyra D, Santol J, Pawelka E, Traugott MT, Schörghofer C, Seitz T, Karolyi M, Yang J-W, Jilma B, Zoufaly A, Assinger A, Zellner M. Platelet phenotype analysis of COVID-19 patients reveals progressive changes in the activation of integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$, F13A1, the SARS-CoV-2 Target EIF4A1 and Annexin A5. *Front Cardiovasc Med*. 2021 Nov. 11;8. doi:10.3389/fcvm.2021.779073.
32. Adamzik M, Görlinger K, Peters J, Hartmann M. Whole blood impedance aggregometry as a biomarker for the diagnosis and prognosis of severe sepsis. *Crit Care*. 2012 Oct 22;16(5):R204. doi: 10.1186/cc11816.
33. Le Blanc J, Lordkipanidzé M. Platelet function in aging. *Front Cardiovasc Med*. 2019 Aug 7;6:109. doi: 10.3389/fcvm.2019.00109.
34. Kasjanovová D, Baláz V. Age-related changes in human platelet function in vitro. *Mech Ageing Dev*. 1986 Dec;37(2):175-82. doi: 10.1016/0047-6374(86)90074-6.
35. Mohebbi D, Kaplan D, Carlisle M, Supiano MA, Rondina MT. Alterations in platelet function during aging: clinical correlations with thromboinflammatory disease in older adults. *J Am Geriatr Soc*. 2014 Mar;62(3):529-35. doi: 10.1111/jgs.12700.
36. Gnanenthiran SR, Pennings GJ, Reddel CJ, Campbell H, Kockx M, Hamilton JR, Chen VM, Kritharides L. Identification of a distinct platelet phenotype in the elderly: ADP Hypersensitivity Coexists with platelet PAR (Protease-Activated Receptor)-1 and PAR-4-mediated thrombin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022 Aug;42(8):960-72. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.316772.
37. Jones CI. Platelet function and ageing. *Mamm Genome*. 2016 Aug;27(7-8):358-66. doi: 10.1007/s00335-016-9629-8.
38. Sahai A, Bhandari R, Godwin M, McIntyre T, Chung MK, Iskandar JP, Kamran H, Hariri E, Aggarwal A, Burton R, Kalra A, Bartholomew JR, McCrae KR, Elbadawi A, Bena J, Svensson LG, Kapadia S, Cameron SJ. Effect of aspirin on short-term outcomes in hospitalized patients with COVID-19. *Vasc Med*. 2021 Dec;26(6):626-32. doi: 10.1177/1358863X211012754.
39. RECOVERY Collaborative Group. Aspirin in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. 2022 Jan 8;399(10320):143-51. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01825-0.
40. Berger JS, Kornblith LZ, Gong MN, Reynolds HR, Cushman M, Cheng Y, McVerry BJ, Kim KS, Lopes RD, Atassi B, Berry S, Bochicchio G, de Oliveira Antunes M, Farkouh ME, Greenstein Y, Hade EM, Hudock K, Hyzy R, Khatri P, Kindzelski A, Kirwan BA, Baumann Kreuziger L, Lawler PR, Leifer E, Lopez-Sendon Moreno J, Lopez-Sendon J, Luther JF, Nigro Maia L, Quigley J, Sherwin R, Wahid L, Wilson J, Hochman JS, Neal MD; ACTIV-4a Investigators. Effect of P2Y12 inhibitors on survival free of organ support among non-critically ill hospitalized patients with COVID-19: A Randomized Clinical trial. *JAMA*. 2022 Jan 18;327(3):227-36. doi: 10.1001/jama.2021.23605.

41. Connors JM, Brooks MM, Sciurba FC, Krishnan JA, Bledsoe JR, Kindzelski A, Baucom AL, Kirwan BA, Eng H, Martin D, Zaharris E, Everett B, Castro L, Shapiro NL, Lin JY, Hou PC, Pepine CJ, Handberg E, Haight DO, Wilson JW, Majercik S, Fu Z, Zhong Y, Venugopal V, Beach S, Wisniewski S, Ridker PM; ACTIV-4B Investigators. Effect of antithrombotic therapy on clinical outcomes in outpatients with clinically stable symptomatic COVID-19: The ACTIV-4B randomized clinical trial. *JAMA*. 2021 Nov 2;326(17):1703-12. doi: 10.1001/jama.2021.17272.
42. Patoulas D, Papadopoulos C, Doumas M. Meta-analysis addressing the efficacy and safety of antiplatelet agents in patients with COVID-19. *Am J Cardiol*. 2022 Jul 15;175:185-7. doi: 10.1016/j.amjcard.2022.04.038.
43. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol*. 2020 Jun;7(6):e438-e440. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30145-9.
44. Al-Samkari H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson JCT, Fogerty AE, Waheed A, Goodarzi K, Bendapudi PK, Bornikova L, Gupta S, Leaf DE, Kuter DJ, Rosovsky RP. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. *Blood*. 2020 Jul 23;136(4):489-500. doi: 10.1182/blood.2020006520.
45. Spiezia L, Boscolo A, Poletto F, Cerruti L, Tiberio I, Campello E, Navalesi P, Simioni P. COVID-19-related severe hypercoagulability in patients admitted to intensive care unit for acute respiratory failure. *Thromb Haemost*. 2020 Jun;120(6):998-1000. doi: 10.1055/s-0040-1710018.
46. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Fagot Gandet F, Fafi-Kremer S, Castelain V, Schneider F, Grunebaum L, Anglés-Cano E, Sattler L, Mertes PM, Meziani F; CRICS TRIGGERSEP Group (Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Trial Group for Global Evaluation and Research in Sepsis). High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2020 Jun;46(6):1089-98. doi: 10.1007/s00134-020-06062-x.
47. Wright FL, Vogler TO, Moore EE, Moore HB, Wohlaer MV, Urban S, Nydam TL, Moore PK, McIntyre RC Jr. Fibrinolysis shutdown correlation with thromboembolic events in severe COVID-19 infection. *J Am Coll Surg*. 2020 Aug;231(2):193-203.e1. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2020.05.007.
48. Pavoni V, Ganesello L, Pazzi M, Stera C, Meconi T, Frigieri FC. Evaluation of coagulation function by rotation thromboelastometry in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia. *J Thromb Thrombolysis*. 2020 Aug;50(2):281-6. doi: 10.1007/s11239-020-02130-7.
49. Yuriditsky E, Horowitz JM, Merchan C, Ahuja T, Brosnahan SB, McVoy L, Berger JS. Thromboelastography profiles of critically ill patients with coronavirus disease 2019. *Crit Care Med*. 2020 Sep;48(9):1319-26. doi: 10.1097/CCM.0000000000004471.
50. Tang BS, Chan KH, Cheng VC, Yuen KY. Comparative host gene transcription by microarray analysis early after infection of the Huh7 cell line by SARS coronavirus and human coronavirus 229E. *Hong Kong Med J*. 2009 Dec;15 Suppl 9:23-6.

51. Katayama S, Koyama K, Shima J, Tonai K, Goto Y, Koinuma T, Nunomiya S. Thrombomodulin, plasminogen activator inhibitor-1 and protein c levels, and organ dysfunction in sepsis. *Crit Care Explor.* 2019 May 23;1(5):e0013. doi: 10.1097/CCE.000000000000013.
52. Hall R, Suarez S, Majumdar M, Lee I, Zacharias N, Gee D, Dua A. Thromboelastography with platelet mapping identifies high platelet reactivity is associated with obesity, diabetes, and thrombotic events. *Ann Vasc Surg.* 2024 Jul;104:227-36. doi: 10.1016/j.avsg.2023.12.079.
53. Ranucci M, Aloisio T, Dedda UD, La Rovere MT, De Arroyabe BML, Baryshnikova E. Platelet reactivity in overweight and obese patients undergoing cardiac surgery. *Platelets.* 2019;30(5):608-14. doi: 10.1080/09537104.2018.1492108.
54. Mourikis P, Zako S, Dannenberg L, Helten C, Naguib D, Hohlfeld T, Petzold T, Levkau B, Zeus T, Kelm M, Polzin A. Aspirin antiplatelet effects are associated with body weight. *Vascul Pharmacol.* 2020 Feb-Mar;125-126:106635. doi: 10.1016/j.vph.2019.106635.
55. Zhang L, Feng X, Zhang D, Jiang C, Mei H, Wang J, Zhang C, Li H, Xia X, Kong S, Liao J, Jia H, Pang X, Song Y, Tian Y, Wang B, Wu C, Yuan H, Zhang Y, Li Y, Sun W, Zhang Y, Zhu S, Wang S, Xie Y, Ge S, Zhang L, Hu Y, Xie M. Deep vein thrombosis in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China: prevalence, risk factors, and outcome. *Circulation.* 2020 Jul 14;142(2):114-128. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046702.
56. INSPIRATION Investigators; Sadeghipour P, Talasaz AH, Rashidi F, Sharif-Kashani B, Beigmohammadi MT, Farrokhpour M, Sezavar SH, Payandemehr P, Dabbagh A, Moghadam KG, Jamalkhani S, Khalili H, Yadollahzadeh M, Riahi T, Rezaeifar P, Tahamtan O, Matin S, Abedini A, Lookzadeh S, Rahmani H, Zoghi E, Mohammadi K, Sadeghipour P, Abri H, Tabrizi S, Mousavian SM, Shahmirzaei S, Bakhshandeh H, Amin A, Rafiee F, Baghizadeh E, Mohebbi B, Parhizgar SE, Aliannejad R, Eslami V, Kashefzadeh A, Kakavand H, Hosseini SH, Shafaghi S, Ghazi SF, Najafi A, Jimenez D, Gupta A, Madhavan MV, Sethi SS, Parikh SA, Monreal M, Hadavand N, Hajighasemi A, Maleki M, Sadeghian S, Piazza G, Kirtane AJ, Van Tassell BW, Dobesh PP, Stone GW, Lip GYH, Krumholz HM, Goldhaber SZ, Bikdeli B. Effect of intermediate-dose vs standard-dose prophylactic anticoagulation on thrombotic events, extracorporeal membrane oxygenation treatment, or mortality among patients with COVID-19 admitted to the intensive care unit: The INSPIRATION Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2021 Apr 27;325(16):1620-30. doi: 10.1001/jama.2021.4152.
57. The REMAP-CAP, ACTIV-4a, and ATTACC Investigators. Therapeutic anticoagulation with heparin in critically ill patients with Covid-19. *New Engl J Med.* 2021;385(9):777-89. doi: 10.1056/NEJMoa2103417.
58. Lopes RD, de Barros ESPGM, Furtado RHM, Macedo AVS, Bronhara B, Damiani LP, et al. Therapeutic versus prophylactic anticoagulation for patients admitted to hospital with COVID-19 and elevated D-dimer concentration (ACTION): an open-label, multicentre, randomised, controlled trial. *Lancet.* 2021;397(10291):2253-63. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01203-4.

59. The REMAP-CAP, ACTIV-4a, and ATTACC Investigators. Therapeutic anticoagulation with heparin in noncritically ill patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(9):790-802. doi: 10.1056/NEJMoa2105911.
60. Reis S, Faske A, Monsef I, Langer F, Müller OJ, Kranke P, Meybohm P, Weibel S. Anticoagulation in COVID-19 patients - an updated systematic review and meta-analysis. *Thromb Res*. 2024 Jun;238:141-50. doi: 10.1016/j.thromres.2024.04.007.
61. Arantes FBB, Menezes FR, Franci A, Barbosa CJDG, Dalçoquio TF, Nakashima CAK, Baracioli LM, Furtado RHM, Nomelini QSS, Ramires JAF, Kalil Filho R, Nicolau JC. Influence of direct thrombin inhibitor and low molecular weight heparin on platelet function in patients with coronary artery disease: a prospective interventional trial. *Adv Ther*. 2020 Jan;37(1):420-30. doi: 10.1007/s12325-019-01153-8.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO INSTITUTO DE INFECTOLOGIA EMÍLIO RIBAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros parâmetros da coagulação.

Pesquisador: José Carlos Nicolau

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 34121120.2.3002.0061

Instituição Proponente: Instituto de Infectologia Emílio Ribas

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.092.135

Apresentação do Projeto:

Há forte evidência de que a infecção pelo SARS-CoV-2 se associa a fenômenos aterotrombóticos. Entretanto, do que seja do nosso conhecimento, a atividade plaquetária na COVID-19 ainda não foi estudada. Assim, o objetivo principal deste projeto é avaliar a agregação plaquetária pelo método MultiplateADP em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19, em comparação com a agregação plaquetária avaliada pelo mesmo método em controles saudáveis. Entre os objetivos secundários, destacam-se a avaliação de parâmetros relacionados à coagulação, à inflamação, e variáveis de desfecho clínico. Trata-se de um estudo mecanístico, observacional, prospectivo, do tipo caso e controle, em que serão incluídos 52 pacientes que se apresentarem com sintomas respiratórios com menos de 72 horas de hospitalização e confirmação do diagnóstico de COVID-19 por método laboratorial (RT-PCR e/ou sorologia positiva para SARS-CoV-2 – grupo COVID); esse grupo será comparado a 52 indivíduos saudáveis (assintomáticos e com sorologia negativa para SARS-CoV-2), pareados por sexo e idade ao grupo prévio. Estudo mecanístico observacional, prospectivo, de caso e controle, pareado por sexo e idade. Trata-se de um estudo prospectivo, de caso e controle, pareado por sexo e idade através de coleta de amostras de sangue e lavado nasal internados no com quadro respiratório, com objetivo de Comparar agregação plaquetária em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19 versus controles saudáveis.

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165

Bairro: Cerqueira César

CEP: 01.246-900

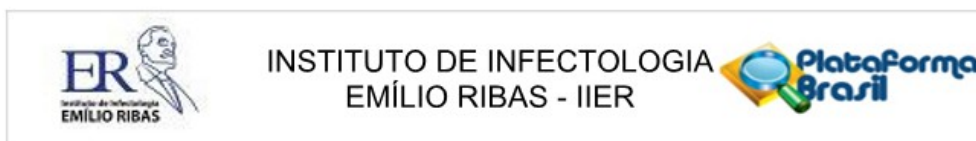
UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3896-1406

Fax: (11)3896-1406

E-mail: comiteetica@emilioribas.sp.gov.br



Continuação do Parecer: 6.092.135

Metodologia: Estudo prospectivo, de caso e controle, pareado por sexo e idade. Número de participantes incluídos: 180.

Critério de Inclusão:

- o Idade > 18 anos; o Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).
- o Grupo caso: pacientes com até 72 horas de hospitalização por sintomas respiratórios.
- o Grupo controle: voluntários saudáveis, definidos como com ausência de história (confirmada ou suspeita) de COVID-19 ou de doenças crônicas (exceto hipertensão arterial, obesidade dislipidemia) ou o Grupo controle: Pacientes com até 72 horas de hospitalização por sintomas respiratórios, porém com pesquisa para COVID-19 negativa.

Critério de Exclusão:

- o Disfunção plaquetária conhecida ou contagem plaquetária $<100.000/\mu\text{L}$ ou $>450.000/\mu\text{L}$; o Doença terminal;
- o Hepatopatia ou distúrbio da coagulação conhecidos;
- o Hematócrito menor que 34% ou maior que 55%;
- o Uso prévio de antiplaquetários e/ou anticoagulantes (exceto ácido acetilsalicílico e heparina profilática);
- o Pacientes em ventilação mecânica invasiva ou recebendo alto fluxo de oxigênio.

Centros:

- IIER
- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
- Hospital Sirio Libanês.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar agregação plaquetária em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19 versus controles saudáveis.

Objetivo Secundário:

-Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus controles saudáveis.

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165
Bairro: Cerqueira César **CEP:** 01.246-900
UF: SP **Município:** SÃO PAULO
Telefone: (11)3896-1406 **Fax:** (11)3896-1406 **E-mail:** comiteetica@emilioribas.sp.gov.br



INSTITUTO DE INFECTOLOGIA
EMÍLIO RIBAS - IIER



Continuação do Parecer: 6.092.135

- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus controles saudáveis.
- Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ADP, Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID19 versus pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios porém negativos para pesquisa de Influenza e COVID-19.
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios porém negativos para pesquisa de influenza ou COVID-19.
- Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ADP, MultiplateASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por Influenza.
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por Influenza.
- Comparar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) em pacientes com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI, necessidade de intubação durante a hospitalização;
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI, necessidade de intubação durante a hospitalização;
- Comparar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI; o Correlacionar os níveis da fração de plaquetas reticuladas com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI;
- Correlacionar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) e da fração de plaquetas reticuladas com pontuação máxima obtida na escala ordinal de desfechos da OMS para COVID-19 em até 28 (± 3 dias) da inclusão: Escala ordinal OMS: Não infectado (sem evidência clínica ou virológica de infecção)
- Pontuação = 0 Tratamento ambulatorial SEM limitação das atividades
- Pontuação = 1 Tratamento ambulatorial COM limitação das atividades
- Pontuação = 2 Hospitalizado SEM necessidade de oxigenioterapia
- Pontuação = 3 Hospitalizado COM necessidade oxigenioterapia (cateter ou máscara)
- Pontuação = 4 Hospitalizado COM necessidade de Ventilação não-invasiva ou cateter de alto fluxo
- Pontuação = 5 Hospitalizado + Intubação e Ventilação Mecânica

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165

Bairro: Cerqueira César

CEP: 01.246-900

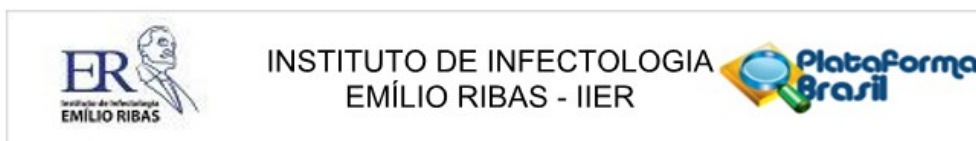
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3896-1406

Fax: (11)3896-1406

E-mail: comiteetica@emilioribas.sp.gov.br



Continuação do Parecer: 6.092.135

-Pontuação = 6 Hospitalizado, Intubação e Ventilação Mecânica mais um dos seguintes: uso de vasopressores (p.ex. noradrenalina), diálise ou ECMO.

-Pontuação = 7 Óbito -Pontuação = 8

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Devido a coleta de sangue o participante sentirá uma pequena picada da agulha na veia do braço, que pode ficar roxo, mas que sumirá em poucos dias. Na conta da coleta do lavado nasal, o potencial desconforto que poderá ocorrer será engolir, por acidente, o soro injetado na narina, porém a fim de evitar esse desconforto o (a) Sr. (a) será orientado a pronunciar a sílaba "Gue", para movimentar os músculos da faringe e impedi-lo de engolir o soro. Também há o risco é mínimo e se trata da perda de confidencialidade, contudo, o(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. O seu nome ou o material que identifique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Benefícios:

Não existem benefícios diretos ao participante em participar da pesquisa. Mas os resultados deste estudo poderão embasar outras pesquisas para avaliar novas abordagens terapêuticas da COVID-19.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Emenda

Justificativa: solicita a inclusão da Instituição coparticipante Hospital Sirio Libanês sob responsabilidade do Dr Andre Fanci.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Verificar conclusões.

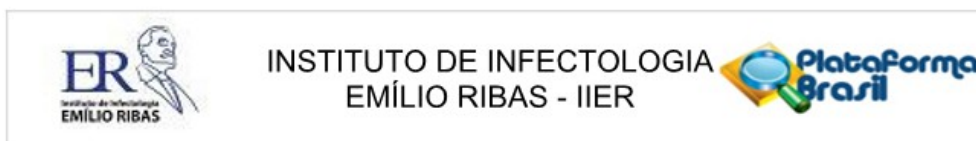
Recomendações:

Verificar conclusões.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP toma ciência e manifesta-se pela aprovação da emenda referente a inclusão de Instituição coparticipante Hospital Sirio Libanês.

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165
Bairro: Cerqueira César **CEP:** 01.246-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3896-1406 **Fax:** (11)3896-1406 **E-mail:** comiteetica@emilioribas.sp.gov.br



Continuação do Parecer: 6.092.135

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v1_0_22fev23_COVID_SIRIO_LI BANES.docx	04/05/2023 17:10:04	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	lista_centros.pdf	04/05/2023 17:08:10	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_aceite_coparticipacao_projeto_2872.pdf	04/05/2023 17:08:00	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_sirio.pdf	04/05/2023 17:07:31	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_dez21_tracked.docx	04/01/2022 14:56:33	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_dez21_clean.pdf	04/01/2022 14:56:16	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_dez21_clean.docx	04/01/2022 14:55:53	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_nov_rascunho_2021.docx	04/01/2022 14:55:43	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_nov_2021_Clean.pdf	04/01/2022 14:55:35	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_nov_2021_Clean.docx	04/01/2022 14:55:12	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulaArio_emenda_nov21.pdf	04/01/2022 14:54:44	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulaArio_emenda_nov21.doc	04/01/2022 14:54:31	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	DECLARACAO_CONFIDENCIALIDADE_EMILIO_RIBAS_Protocolo_32_2021.pdf	04/01/2022 14:53:58	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_ajustes_EMILIORIBAS_5089_20_118.pdf	04/01/2022 14:53:48	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165

Bairro: Cerqueira César

CEP: 01.246-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3896-1406

Fax: (11)3896-1406

E-mail: comiteetica@emilioribas.sp.gov.br



INSTITUTO DE INFECTOLOGIA
EMÍLIO RIBAS - IIER



Continuação do Parecer: 6.092.135

Outros	carta_emenda_ajustes_EMILIORIBAS_5089_20_118.docx	04/01/2022 14:53:37	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_inclusao_HC.docx	24/09/2021 12:30:30	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_INCOR_HC_AGO17.pdf	24/09/2021 12:27:29	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_INCOR_HC_AGO17.docx	24/09/2021 12:27:20	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_AGO17.pdf	24/09/2021 12:27:10	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_AGO17.docx	24/09/2021 12:27:01	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_covid_12_08_21.pdf	24/09/2021 12:26:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_covid_12_08_21.docx	24/09/2021 12:26:41	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_avalicao_antecipada.pdf	24/09/2021 12:26:05	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_avalicao_antecipada.docx	24/09/2021 12:25:51	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_inclusao_HC.pdf	24/09/2021 12:25:39	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_inclusao_emilio.pdf	24/09/2021 12:25:26	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	Carta_Inclusao_emilio.docx	24/09/2021 12:25:15	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	anuenciaEmilioRibas.pdf	24/09/2021 12:25:01	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	anuencia_HC.pdf	24/09/2021 12:24:46	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	rel_parcial.docx	24/09/2021 12:13:20	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_emenda.pdf	24/09/2021 12:12:57	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_emenda.doc	24/09/2021 12:12:44	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de	1_TCLE_COVID19_HCUSP_1_1_Corrig	25/06/2020	Elaine Lagonegro	Aceito

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165

Bairro: Cerqueira César

CEP: 01.246-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3896-1406

Fax: (11)3896-1406

E-mail: comiteetica@emilioribas.sp.gov.br



INSTITUTO DE INFECTOLOGIA
EMÍLIO RIBAS - IIER



Continuação do Parecer: 6.092.135

Assentimento / Justificativa de Ausência	ida.pdf	21:22:50	Santana Martinho	Aceito
Outros	TERMO_OUTORGA.pdf	25/06/2020 21:22:09	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	parecerdadosdigitais.pdf	25/06/2020 21:21:29	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	orcamento.docx	25/06/2020 21:21:12	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cronograma_final.docx	25/06/2020 21:20:57	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CORRIGIDO_POS.docx	25/06/2020 21:20:32	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cartapos.pdf	25/06/2020 21:19:50	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	FR_SGP_assinada.pdf	25/06/2020 21:19:26	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

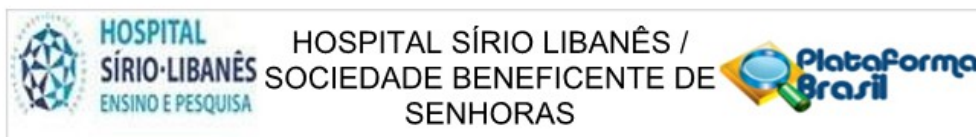
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 31 de Maio de 2023

Assinado por:
Catia de Lima Carvalho
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida Dr. Arnaldo 165
Bairro: Cerqueira César **CEP:** 01.246-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3896-1406 **Fax:** (11)3896-1406 **E-mail:** comiteetica@emilioribas.sp.gov.br

Anexo B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da infecção por SARS-CoV-2 na agregação plaquetária e outros parâmetros da coagulação.

Pesquisador: José Carlos Nicolau

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 34121120.2.3003.5461

Instituição Proponente: Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.115.147

Apresentação do Projeto:

Desenho:

Estudo observacional de caso-controle em que serão comparados três grupos (pareados por sexo e idade): 1) pacientes hospitalizados com SARSCov2 positivo; 2) pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios mas com testes negativos para COVID-19; 3) controles saudáveis. Pacientes que se apresentarem com menos de 72 horas de hospitalização por sintomas respiratórios e que se enquadrem em 1 dos grupos de interesse serão avaliados para elegibilidade e, após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), serão submetidos a coleta de sangue para avaliação laboratorial. Os exames a serem realizados são descritos na sequência.

Resumo:

Há forte evidência de que a infecção pelo SARS-CoV-2 se associa a fenômenos aterotrombóticos. Entretanto, do que seja do nosso conhecimento, a atividade plaquetária na COVID-19 ainda não foi estudada. Assim, o objetivo principal deste projeto é avaliar a agregação plaquetária pelo método Multiplate-ADP em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19, em comparação com a agregação plaquetária avaliada pelo mesmo método em controles saudáveis. Entre os objetivos secundários, destacam-se a avaliação de parâmetros relacionados à coagulação, à inflamação, e variáveis de desfecho clínico. Trata-se de um estudo mecanístico, observacional, prospectivo, do tipo caso e controle, em que serão incluídos 52 pacientes que se apresentarem com sintomas

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

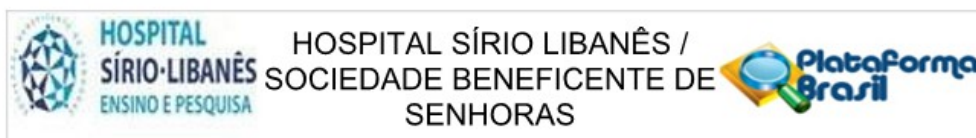
CEP: 01.308-000

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

respiratórios com menos de 72 horas de hospitalização e confirmação do diagnóstico de COVID-19 por método laboratorial (RT-PCR e/ou sorologia positiva para SARS-CoV-2 – grupo COVID); esse grupo será comparado a 52 indivíduos saudáveis (assintomáticos e com sorologia negativa para SARS-CoV-2), pareados por sexo e idade ao grupo prévio.

Introdução:

É demonstrado que após infecção viral há aumento do risco de infarto agudo do miocárdio (IAM)(1). O mecanismo pelo qual a infecção aguda pode ocasionar eventos cardiovasculares isquêmicos pode ser explicado pelo próprio aumento do estado inflamatório e dos níveis de catecolaminas, levando a maior vasoconstrição, lesão endotelial e chance de ruptura da placa aterosclerótica. Também é demonstrado aumento na ativação plaquetária, tanto por ativação direta por patógenos (2,3), quanto pelo estado inflamatório secundário à infecção (4). Adicionalmente, o processo infeccioso agudo gera um desbalanço no sistema de coagulação com alterações na atividade da antitrombina, e nas concentrações de proteína C ativada e inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1) (4). Com isso, o estado hiperdinâmico, associado a lesão endotelial e microambiente pró-trombótico levariam, em última análise, à instabilização da placa aterosclerótica e formação do trombo, principais responsáveis pelo desencadeamento do evento isquêmico agudo. Em pacientes com infecções por influenza A H1N1 complicadas por síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), demonstrou-se maior ativação plaquetária e formação de agregados leuco-plaquetários quando comparados a pacientes internados por pneumonias bacterianas em unidade terapia intensiva (UTI) (5). Esse achado é de extrema relevância, uma vez que estudos histopatológico documentaram a presença frequente de trombose microvascular em áreas de perda da integridade da membrana alvéolo-capilar de pacientes com H1N1, mecanismo diretamente envolvido com disfunção orgânica e óbito nesses pacientes (2). Nesse contexto, demonstrou-se em modelo animal que o uso de antiplaquetários, como inibidor da glicoproteína IIb/IIIa ou clopidogrel, reduziram a incidência de formas graves de injúria pulmonar causadas por influenza (6). Na infecção pelo SARS-CoV-2, apesar dos sintomas iniciais serem majoritariamente respiratórios, demonstrouse que pacientes com doença cardiovascular (DCV) pré-existente, incluindo doença arterial coronariana (DAC), apresentaram pior prognóstico (7–9). Nesses casos, a injúria miocárdica é apontada como um dos mecanismos responsáveis pelo pior desfecho (8). Por outro lado, há forte evidência de que a infecção pelo SARS-CoV-2 também se associa a fenômenos aterotrombóticos. Assim como observado em outras etiologias infecciosas, demonstrou-se elevação de d-dímero associado à COVID-19 e níveis mais elevados se associaram a maior

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

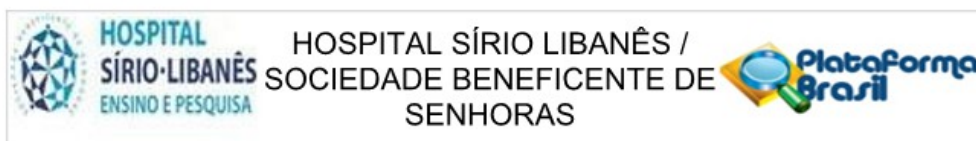
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

CEP: 01.308-000

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

necessidade de UTI (9) e maior mortalidade (7). Do que seja do nosso conhecimento, entretanto, não há qualquer publicação que tenha analisado especificamente a atividade plaquetária na COVID-19, objetivo principal do presente projeto. O impacto dessa avaliação pode ser enorme já que, na dependência dos resultados, alicerçaria uma base sólida para a utilização de terapêuticas com potenciais implicações prognósticas.

Hipótese:

A infecção pelo SARS-CoV-2 aumenta a agregação plaquetária.

Metodologia Proposta:

Estudo mecanístico observacional, prospectivo, de caso e controle, pareado por sexo e idade.

Critério de Inclusão:

- Idade > 18 anos;
- Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).
- Grupo caso: pacientes com até 72 horas de hospitalização por sintomas respiratórios.
- Grupo controle: voluntários saudáveis, definidos como com ausência de história (confirmada ou suspeita) de COVID-19 ou de doenças crônicas (exceto hipertensão arterial, obesidade dislipidemia) ou
- Grupo controle: Pacientes com até 72 horas de hospitalização por sintomas respiratórios, porém com pesquisa para COVID-19 negativa.

Critério de Exclusão:

- Disfunção plaquetária conhecida ou contagem plaquetária <100.000/ μ L ou >450.000/ μ L; - Doença terminal;
- Hepatopatia ou distúrbio da coagulação conhecidos;
- Hematócrito menor que 34% ou maior que 55%;
- Uso prévio de antiplaquetários e/ou anticoagulantes (exceto ácido acetilsalicílico e heparina profilática);
- Pacientes em ventilação mecânica invasiva ou recebendo alto fluxo de oxigênio.

Metodologia de Análise de Dados:

Os resultados serão apresentados como número absoluto e percentual (variáveis categóricas), médias $\pm$ desvio padrão (variáveis contínuas de distribuição Gaussiana), ou medianas com

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

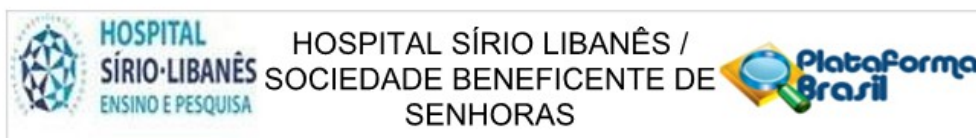
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

CEP: 01.308-000

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

percentis 25-75 (variáveis contínuas de distribuição não-Gaussiana. As variáveis categóricas serão analisadas com a utilização do teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando indicado. As variáveis contínuas serão analisadas pelo teste tStudent (distribuição Gaussiana) ou por testes não paramétricos (distribuição não-Gaussiana). O Teste de Kolmogorov-Smirnov será utilizado para analisar a distribuição (normal ou não) das variáveis contínuas. Quando necessário serão desenvolvidos modelos ajustados para análises das metas secundárias, utilizando-se testes de regressão logística ou linear. Serão considerados estatisticamente significativos os resultados com valor de p inferior a 0,05 bicaudal.

Desfecho Primário:

Comparar agregação plaquetária analisada pelo Multiplate-ADP em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19 versus controles saudáveis.

Desfecho Secundário:

- Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus controles saudáveis.
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus controles saudáveis.
- Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ADP, Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios porém negativos para pesquisa de COVID-19.
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios porém negativos para pesquisa de COVID-19.
- Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ADP, Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por Influenza.
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por Influenza.
- Comparar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) em pacientes com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI, necessidade de intubação durante a hospitalização;
- Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI, necessidade de

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

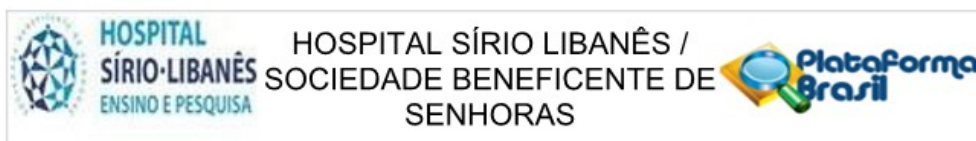
CEP: 01.308-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

intubação durante a hospitalização;

- Comparar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI;
- Correlacionar os níveis da fração de plaquetas reticuladas com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI;

2.2.1) Outros objetivos secundários:

- Comparar os seguintes parâmetros em pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios com diagnóstico de COVID-19 ou Influenza, com pacientes negativos para pesquisa de influenza ou COVID-19 e controles saudáveis:

- Contagem plaquetária;
- Volume plaquetário médio (VPM);
- P-selectina;
- D-dímero;
- PAI-1;
- Fibrinogênio;
- Tempo de Tromboplastina Parcial ativado (PTTa);
- Tempo de protrombina (TP);
- Parâmetros de tromboelastografia;
- Peptídeo natriuretico tipo B (BNP);
- Troponina ultrasensível. Interleucina-6 (IL-6)
- Pró-calcitonina (PCT)
- Proteína de ligação a lipopolissacarídeos (LPB)
- Tromboelastograma (ROTEM)
- Analisar o objetivo primário do estudo nos seguintes subgrupos (avaliação basal, levando-se em conta parâmetros obtidos na hospitalização):
- Sexo (masculino/feminino);
- Idade 65 anos ou < 65 anos;
- História de hipertensão arterial (presença ou não);
- Uso de estatina (sim ou não);
- Uso de AAS (sim ou não);
- IMC <30 ou 30kg/m²;
- Clearance de creatinina (MDRD) (10) < 60ml/min/m² ou 60ml/min/m²;
- Tabagismo atual (sim ou não).

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

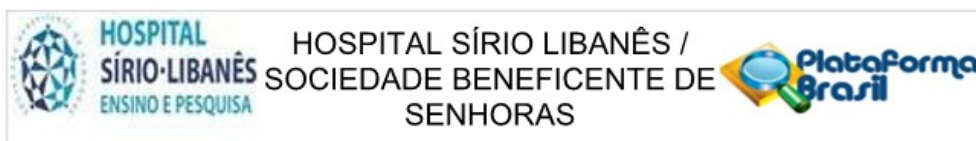
CEP: 01.308-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar agregação plaquetária em pacientes hospitalizados com diagnóstico de COVID-19 versus controles saudáveis.

Objetivo Secundário:

- Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus controles saudáveis. Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus controles saudáveis. Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ADP, Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios porém negativos para pesquisa de Influenza e COVID-19. o Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por sintomas respiratórios porém negativos para pesquisa de influenza ou COVID-19. o Comparar a agregação plaquetária pelo Multiplate-ADP, Multiplate-ASPI e Multiplate-TRAP em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por Influenza. Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes hospitalizados por COVID-19 versus pacientes hospitalizados por Influenza. Comparar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) em pacientes com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI, necessidade de intubação durante a hospitalização; o Comparar os níveis da fração de plaquetas reticuladas em pacientes com ou sem o desfecho composto de óbito por qualquer causa, eventos trombóticos, necessidade de UTI, necessidade de intubação durante a hospitalização; o Comparar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI; o Correlacionar os níveis da fração de plaquetas reticuladas com o tempo (dias) de hospitalização total e em UTI; o Correlacionar os níveis de agregação plaquetária (pelo Multiplate ADP, ASPI e TRAP) e da fração de plaquetas reticuladas com pontuação máxima obtida na escala ordinal de desfechos da OMS para COVID-19 em até 28 (± 3 dias) da inclusão: Escala ordinal OMS: Não infectado (sem evidência clínica ou virológica de infecção) - Pontuação = 0 Tratamento ambulatorial SEM limitação das atividades - Pontuação = 1 Tratamento ambulatorial COM limitação das atividades - Pontuação = 2 Hospitalizado SEM necessidade de oxigenioterapia - Pontuação = 3 Hospitalizado COM necessidade oxigenioterapia (cateter ou máscara) - Pontuação = 4 Hospitalizado COM necessidade de Ventilação não-invasiva ou cateter de alto fluxo - Pontuação = 5 Hospitalizado + Intubação e

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

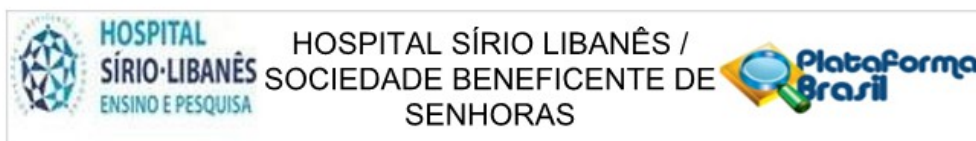
CEP: 01.308-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

Ventilação Mecânica - Pontuação = 6 Hospitalizado, Intubação e Ventilação Mecânica mais um dos seguintes: uso de vasopressores (p.ex. noradrenalina), diálise ou ECMO. - Pontuação = 7 Óbito - Pontuação = 8

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Devido a coleta de sangue o participante sentirá uma pequena picada da agulha na veia do braço, que pode ficar roxo, mas que sumirá em poucos dias. Não são esperados riscos ao participante por conta da coleta do lavado nasal.

Benefícios:

Não existem benefícios diretos ao participante em participar da pesquisa. Mas os resultados deste estudo poderão embasar outras pesquisas para avaliar novas abordagens terapêuticas da COVID-19.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está claramente descrito e delineado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentação apresentada conforme legislação vigente e normas da instituição.

Trata-se da inclusão do Hospital Sírio-Libanês como coparticipante no estudo.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto cadastrado no CEPesq como HSL 2023-52, APROVADO nesta data conforme o protocolo e o TCLE apresentados.

- Protocolo de Pesquisa

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

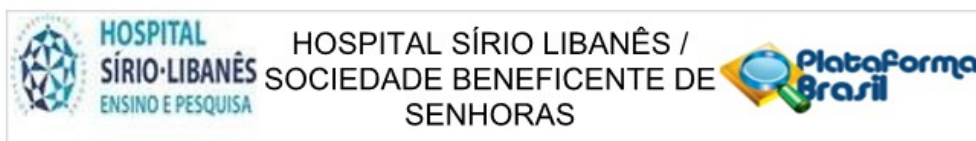
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

CEP: 01.308-000

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Lembramos que, conforme o item XI.2.d da Res. 466/2012 o pesquisador deverá manter o CEPesq informado sobre o andamento de sua pesquisa através do envio de relatórios parciais (semestrais) e final. De acordo com o cronograma apresentado, está previsto a entrega do relatório parcial em 06 meses após a data da aprovação. Caso haja alterações no cronograma do estudo, por favor, submeter atualização.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	MTA_Nacional_HSL_EstudolD2872.pdf	29/05/2023 16:29:47	Mirian de Freitas Dal Ben Corradi	Aceito
Declaração de concordância	AutorizacaodeArea_DrAndre.PDF	29/05/2023 16:29:18	Mirian de Freitas Dal Ben Corradi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermodeCompromisso_DrAndre.PDF	29/05/2023 16:29:06	Mirian de Freitas Dal Ben Corradi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_DrAndre.pdf	29/05/2023 16:28:57	Mirian de Freitas Dal Ben Corradi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v1_0_22fev23_COVID_SIRIO_LI BANES.docx	04/05/2023 17:10:04	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	lista_centros.pdf	04/05/2023 17:08:10	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_aceite_coparticipacao_projeto_2872.pdf	04/05/2023 17:08:00	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_sirio.pdf	04/05/2023 17:07:31	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_dez21_tracked.docx	04/01/2022 14:56:33	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_dez21_clean.pdf	04/01/2022 14:56:16	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

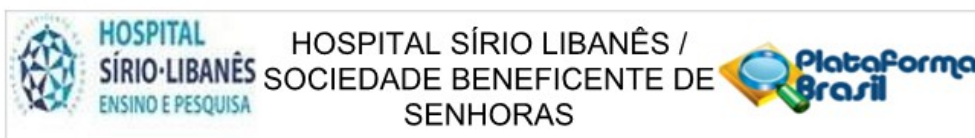
CEP: 01.308-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

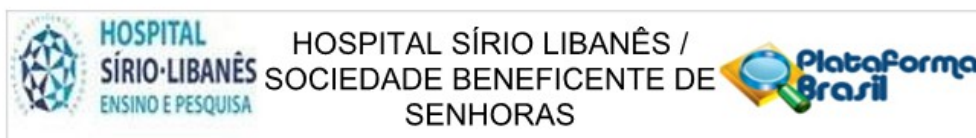
E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_dez21_clean.docx	04/01/2022 14:55:53	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_nov_rascunho_2021.docx	04/01/2022 14:55:43	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_nov_2021_Clean.pdf	04/01/2022 14:55:35	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_nov_2021_Clean.docx	04/01/2022 14:55:12	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulaArio_emenda_nov21.pdf	04/01/2022 14:54:44	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulaArio_emenda_nov21.doc	04/01/2022 14:54:31	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	DECLARACAO_CONFIDENCIALIDADE_EMILIO_RIBAS_Protocolo_32_2021.pdf	04/01/2022 14:53:58	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_ajustes_EMILIORIBAS_5089_20_118.pdf	04/01/2022 14:53:48	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_ajustes_EMILIORIBAS_5089_20_118.docx	04/01/2022 14:53:37	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_inclusao_HC.docx	24/09/2021 12:30:30	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_INCOR_HC_AGO17.pdf	24/09/2021 12:27:29	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_INCOR_HC_AGO17.docx	24/09/2021 12:27:20	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_AGO17.pdf	24/09/2021 12:27:10	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IIER_AGO17.docx	24/09/2021 12:27:01	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_covid_12_08_21.pdf	24/09/2021 12:26:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto_covid_12_08_21.docx	24/09/2021 12:26:41	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269**Bairro:** Bela Vista**CEP:** 01.308-000**UF:** SP**Município:** SAO PAULO**Telefone:** (11)3394-5701**E-mail:** cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

Investigador	Projeto_covid_12_08_21.docx	24/09/2021 12:26:41	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_avalicao_antecipada.pdf	24/09/2021 12:26:05	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_avalicao_antecipada.docx	24/09/2021 12:25:51	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_inclusao_HC.pdf	24/09/2021 12:25:39	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_inclusao_emilio.pdf	24/09/2021 12:25:26	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	Carta_Inclusao_emilio.docx	24/09/2021 12:25:15	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	anuenciaEmilioRibas.pdf	24/09/2021 12:25:01	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	anuencia_HC.pdf	24/09/2021 12:24:46	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	rel_parcial.docx	24/09/2021 12:13:20	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_emenda.pdf	24/09/2021 12:12:57	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_emenda.doc	24/09/2021 12:12:44	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	1_TCLE_COVID19_HCUSP_1_1_Corrigida.pdf	25/06/2020 21:22:50	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	TERMO_OUTORGA.pdf	25/06/2020 21:22:09	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	parecerdoadosdigitais.pdf	25/06/2020 21:21:29	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	orcamento.docx	25/06/2020 21:21:12	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cronograma_final.docx	25/06/2020 21:20:57	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CORRIGIDO_POS.docx	25/06/2020 21:20:32	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cartapos.pdf	25/06/2020 21:19:50	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	FR_SGP_assinada.pdf	25/06/2020 21:19:26	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269

Bairro: Bela Vista

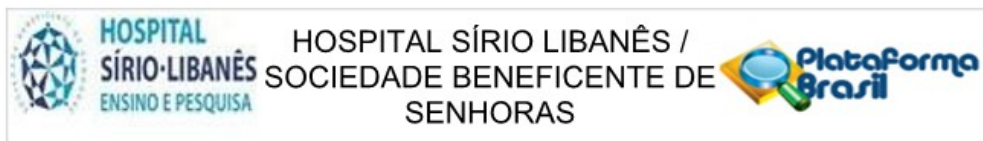
CEP: 01.308-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3394-5701

E-mail: cepesq@hsl.org.br



Continuação do Parecer: 6.115.147

Não

SAO PAULO, 13 de Junho de 2023

Assinado por:
Mirian de Freitas Dal Ben Corradi
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Barata Ribeiro, nº 269
Bairro: Bela Vista **CEP:** 01.308-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3394-5701 **E-mail:** cepesq@hsl.org.br