

Estudo ex vivo da ação do inibidor de poli (ADP-ribose) polimerase (PARP) em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com COVID-19 e sepse

Larissa de Oliveira Cavalcanti Peres Rodrigues¹, Sidnéia Sousa Santos¹, Flávio Geraldo Rezende de Freitas², Reinaldo Salomão¹

¹Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

²Unidade de Terapia Intensiva, Hospital SEPACO, São Paulo (SP), Brasil.

Objetivo: Avaliar a resposta biológica e os efeitos de olaparibe, inibidor de PARP em uso clínico oncológico, em células mononucleares isoladas a partir do sangue periférico de pacientes com sepse por SARS-CoV-2.

Métodos: Foram usadas células mononucleares de 22 indivíduos, sendo 16 pacientes com COVID-19 e sepse e 6 indivíduos saudáveis. As células foram estimuladas com LPS ou expostas ao H₂O₂ na presença de olaparibe, nas concentrações de 10 µM e 100 µM. Para avaliar a presença e atividade de PARP-1 foi realizada a técnica de *Western blotting*, utilizando anticorpos específicos anti-PARP-1 e anti-PAR. O potencial de membrana mitocondrial foi determinado utilizando kit *JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit – Flow Cytometry*. As citocinas inflamatórias IL-6, IL-8, TNF, IL-1β, G-CSF e IL-10 foram dosadas do sobrenadante de cultura das células mononucleares utilizando o sistema matriz de esferas citométricas (CBA). Foram utilizados testes Kruskal-Wallis, para comparação entre controle e amostras estimuladas, e Mann Whitney, para comparação entre pacientes e saudáveis. Diferenças foram consideradas significativas estatisticamente com p<0,05.

Resultados: A enzima PARP-1 íntegra foi detectada em indivíduos saudáveis (N=4), mas não em pacientes com sepse por SARS-CoV-2 (N=4). Foi detectado maior quantidade da enzima PARP clivada nos pacientes em comparação aos indivíduos saudáveis. Os pacientes apresentaram perfil de PARP clivada inferior aos saudáveis. O tratamento com olaparibe 100µM protegeu a membrana mitocondrial das células de pacientes (N=5) e saudáveis (N=5) contra a despolarização induzida por H₂O₂. O uso de LPS estimulou a

produção de citocinas dos pacientes com sepse por SARS-CoV-2 (N=9), mas o tratamento com olaparibe não resultou em uma diminuição da produção de citocinas.

Conclusão: PBMC de pacientes com COVID-19 e sepse possuem menor atividade de PARP- 1 que indivíduos saudáveis. O tratamento com olaparibe protegeu o potencial de membrana mitocondrial das células, no entanto não foi capaz de modular a produção de citocinas pelas células mononucleares dos pacientes com sepse por SARS-CoV-2.