



## 6016-4. EL RIVAROXABÁN PROTEGE DEL EFECTO PROOXIDANTE MITOCONDRIAL INDUCIDO EN CONDICIONES INFLAMATORIAS POR LAS SUBUNIDADES *SPIKE* DE LA COVID-19 EN EL ENDOTELIO HUMANO EN CULTIVO

Kahoula Zekri Nechar<sup>1</sup>, José Javier Zamorano León<sup>2</sup>, Miguel A. García Fernández<sup>1</sup>, Paloma Ramos Mogollón<sup>1</sup>, Laia Piñol<sup>1</sup>, Gala Freixer<sup>1</sup> y Antonio López Farré<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina; <sup>2</sup>Departamento de Salud Pública y Materno-Infantil, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid.

### Resumen

**Introducción y objetivos:** El estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria asociada al SARS-CoV-2 (COVID-19) favorece la aparición de eventos trombóticos. El rivaroxabán, inhibidor del factor Xa (FXa), ha demostrado efectos antioxidantes en la pared vascular. El objetivo fue estudiar si las subunidades *spike* (S1+S2) de la COVID-19 modifican la expresión de proteínas relacionadas con el estrés oxidativo en células endoteliales humanas, y los posibles efectos protectores de rivaroxabán.

**Métodos:** Una línea celular de endotelio humano se estimuló con 1 µg/ml de lipopolisacárido (LPS). Tras 24 h de incubación, se añadió en alguno de los cultivos proteínas *spike* (S1+S2 10 nmol/l) de la COVID-19 en presencia o ausencia de rivaroxabán (50 nmol/L), continuándose 24h la incubación. La expresión de diferentes proteínas relacionadas con estrés oxidativo se analizó mediante *Western blot*.

**Resultados:** En ausencia de LPS (en condiciones no inflamatorias), la presencia de S1+S2 no modificó la expresión de ninguna de las proteínas analizadas. El LPS aumentó el contenido de FXa en el endotelio en cultivo (tabla). Este efecto se observó significativamente más aumentado en el grupo LPS al que se añadió las proteínas S1+S2 de la COVID-19 (tabla). En presencia de LPS, las proteínas gp91-phox y gp67-phox, subunidades de la NADPH oxidasa mitocondrial, aumentaron significativamente respecto al control. Este efecto fue incrementado al añadir S1+S2 de la COVID-19 en las células incubadas con LPS (tabla). El contenido de superóxido dismutasa mitocondrial (SOD2) fue casi indetectable en las células incubadas en LPS o LPS+S1+S2 respecto al control. Este efecto fue parcialmente revertido en presencia de rivaroxabán (tabla). El potencial de membrana mitocondrial (Δψ<sub>m</sub>) aumentó significativamente al estimular las células endoteliales con trombina (0,025 U/ml) en presencia de LPS (1,4 veces) o LPS+S1+S2 (1,6 veces) respecto al control. rivaroxabán previno el aumento de Δψ<sub>m</sub> en las células estimuladas con trombina incubadas con LPS+S1+S2.

Expresión proteica en células endoteliales humanas

Proteínas                      Control (N = 3)      LPS (N = 3)      LPS+S1+S2 (N = 3)      LPS+S1+S2+RIVA (N = 3)

FXa (UA)	11,1 ± 2,1	32,1 ± 2,3*	216,5 ± 39,3*†	-
GP67-Phox (UA)	30,9 ± 7,8	40,6 ± 4,1	56,5 ± 4,0*†	38,1 ± 3,3‡
GP91-Phox (UA)	53,4 ± 5,2	60,7 ± 4,7	88,8 ± 4,9*†	54,9 ± 1,8‡
SOD2 (UA)	245,5 ± 10,6	0,7 ± 0,3*	0,6 ± 0,2*	52,8 ± 7,6*†‡

Resultados mostrados como media ± ESM. UA: unidades arbitrarias densitométricas \*p 0,05 respecto a control; †p 0,05 respecto a LPS; ‡p 0,05 respecto a LPS+S1+S2.

**Conclusiones:** Las proteínas *spike* S1+S2 de la COVID-19 inducen un fenotipo pro-oxidativo mitocondrial en el endotelio humano estimulado con LPS. El rivaroxabán revirtió los efectos prooxidativos generados por las proteínas *spike*.