

ADENOSINE DIPHOSPHATE-INDUCED PLATELET AGGREGATION IS ENHANCED IN PLATELET-RICH PLASMA OBTAINED FROM PATIENTS WITH PRIMARY ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME WITH THROMBOSIS

GR Leonardi^a, CH Lescano^a, FA Orsi^b, FZ Monica^a

^a Department of Translation Medicine (Pharmacology area), Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Laboratory of Haemostasis, Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: The majority of the studies evaluated the direct effect of antiphospholipid antibodies isolated from APS patients in platelets obtained from healthy volunteers. The literature is scarce about platelet activity obtained from patients with primary antiphospholipid syndrome with thrombosis (t-PAPS). **Aims:** To evaluate platelet function in platelet-rich plasma (PRP) obtained from patients with t-PAPS or healthy volunteers. **Methods:** Forty patients with t-PAPS (62.5% females, mean age: 44 years) and 62 volunteers with no history of thrombosis (64.5% females, mean age: 38 years) were included. Firstly, PRP was obtained and stimulated with adenosine diphosphate (ADP, 3 or 10 μ M), collagen (1 μ g/mL) or arachidonic acid (AA, 300 μ M). Next, PRP was pre-incubated with platelet inhibitors, as nitric oxide donor, sodium nitroprusside (SNP, 3 or 10 μ M) or the stable analogue of prostacyclin, iloprost (ILO, 3 or 10 nM), and then stimulated with ADP 3 μ M. In another set of experiment, ticagrelor, a P₂Y₁₂ receptor antagonist (2 μ M) was also incubated in PRP. Second, washed platelet (WP) from t-PAPS patients was obtained for P₂Y₁₂ protein and cyclic nucleotides quantification. In another assay, WP from healthy volunteers was incubated with IgG antibodies (500 μ g/mL, 30 min) isolated from the serum of healthy volunteers or t-PAPS patients and then stimulated with ADP 30 μ M in the absence and in the presence of ticagrelor (2 μ M). **Results:** ADP-induced platelet aggregation was significantly higher in t-PAPS group than in controls (ADP 3 μ M: 69.3% $\pm$ 23.8% vs 57.8% $\pm$ 24.3%, p = 0.02). No difference in AA- (52% $\pm$ 33.2% vs 56% $\pm$ 29.1%, P = 0.95) or collagen- (72% $\pm$ 19.3% vs 72.4% $\pm$ 17.3%, p = 0.51) -induced aggregation was seen between groups. The amplitude of platelet inhibition induced by SNP 3 μ M (46.4% $\pm$ 25.8% vs 34.7% $\pm$ 20.9%, p = 0.02) and 10 μ M (31.4% $\pm$ 23.1% vs 18.8% $\pm$ 14.9%, p = 0.008) or ILO 3 nM (23.3% $\pm$ 23.3% vs 12.1% $\pm$ 14%, p = 0.02) was less prominent in platelets from t-PAPS than in control volunteers. The intraplatelet levels of cAMP (6.3 $\pm$ 5.1 pmol/10⁸ platelets vs 14.6 $\pm$ 8.1 pmol/10⁸ platelets, p = 0.01) and cGMP (2.3 $\pm$ 1.7 pmol/10⁸ platelets vs 4.6 $\pm$ 1.9 pmol/10⁸ platelets, p = 0.01) was significant reduced in platelets from t-PAPS than in healthy volunteers. In platelets from t-PAPS patients the protein expression for the P₂Y₁₂ receptor was significantly greater than in platelets from healthy volunteers (0.81 $\pm$ 0.23 vs 0.53 $\pm$ 0.24, p = 0.01). The IgG antibodies obtained from t-PAPS patients



produced greater amplitude of aggregation in ADP-stimulated platelet than in platelets stimulated with IgG antibodies obtained from healthy volunteers (66.2% $\pm$ 7.9% vs 52.2% $\pm$ 10.6%, P = 0.006). Ticagrelor practically abolished ADP-induced aggregation in both PRP from control and t-PAPS patients (12.9% $\pm$ 6.7% vs 10.2% $\pm$ 6.4%, p = 0.09) and in WP treated with IgG antibodies (0.3% $\pm$ 0.6% vs 0.0% $\pm$ 0.0%, p = 0.4). **Discussion:** Platelet activity from t-PAPS patients was enhanced upon ADP stimulation, but not by collagen or AA, mainly due to higher protein expression for P₂Y₁₂ receptor subtype and lower intraplatelet levels of cAMP and cGMP. **Conclusions:** Our findings suggest that ADP receptor antagonists can be considered as first-line therapy to treating patients with t-PAPS or in those who have contraindications to receiving aspirin.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.405>

ANÁLISE DA ALTERAÇÃO DO D-DÍMERO EM PACIENTES COM COVID-19

BR Neri, ARJ Parente, ER Lima, MFB Almeida, MBM Picanço, PEBM Filho, TR Carvalho, VR Santiago

Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

Objetivos: Em março de 2020, foi descrito pelas autoridades de saúde brasileiras os primeiros casos de infecção pelo SARS-CoV-2, vírus responsável pela Covid-19, no Brasil. Desde então, houve uma intensa mobilização científica para descobrir cada vez mais sobre a doença e suas consequências a curto e longo prazo. Sob esse aspecto, levantou-se a hipótese de uma relação entre o aumento de marcadores da coagulação, como o d-dímero, e a severidade da doença. Diante disso, o presente estudo tem como intuito realizar uma revisão literária sobre as alterações da dosagem do d-dímero observadas em pacientes com Covid-19. **Materiais e métodos:** Foi realizado um estudo de revisão bibliográfica a partir da análise de 9 artigos científicos publicados entre os anos de 2020 e 2021. Os materiais foram selecionados utilizando os seguintes critérios de inclusão: abordagem do tema e disponibilidade em acesso aberto. Assim, foram selecionados 3 artigos na base de dados do PubMed, utilizando como termos de pesquisa: “Covid-19” e “Fibrin Fibrinogen Degradation Products”, terminologias de acordo com o sistema de Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). **Resultados:** De acordo com a literatura, a Covid-19, hoje reconhecida como uma desordem sistêmica e não mais somente uma síndrome respiratória aguda, pode levar à indução de um estado pró-trombótico. Nesse viés, segundo literatura, foi observado que a dosagem do d-dímero, produto de degradação da fibrina, era maior nos pacientes que não sobreviveram. Assim, pôde-se perceber que os níveis de d-dímero em pacientes hospitalizados com a doença é diretamente proporcional à mortalidade pela infecção, e o risco já se torna significativamente maior quando os níveis de d-dímero estão acima de 1,0 mg/L. Por isso, o d-dímero pode ser considerado um fator preditor independente da morte de pacientes hospitalizados com Covid-



19, assim como a idade e coagulopatia evidenciada por exames, como o Tempo de Protrombina (TP) prolongado. **Discussão:** Essa relação é explicada, por exemplo, porque o SARS-CoV-2 é responsável pela ativação de uma tempestade de citocinas, capaz de ativar fatores de coagulação e levar a um estado pró-trombótico. Além disso, um outro mecanismo responsável por essa ativação da cascata de coagulação é o aumento da concentração de Angiotensina-2 (Ang2) ainda no início da doença, devido à inibição do Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2) causada pela infecção do SARS-CoV-2, e consequente interrupção do metabolismo da Ang2, levando ao seu acúmulo no plasma. Por esses e outros achados, hoje é considerada uma doença de desordem sistêmica. **Conclusão:** A Covid-19 é uma patologia sistêmica que pode alterar a hemostasia humana, levando o paciente a um grave estado pró-trombótico. Dessa forma, de acordo com a literatura, esse desequilíbrio está associado a um aumento da mortalidade dessa doença, diretamente proporcional à dosagem do dímero à admissão hospitalar.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.406>

ATIVIDADE DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES EM PORTADORES DE ANTIFOSFOLÍPÍDES ASSINTOMÁTICOS E NA SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPÍDE PRIMÁRIA E SECUNDÁRIA COM TROMBOSE

APRD Santos, BC Jacintho, BW Hounkpe, CO Vaz, GLTV Mesquita, JD Oliveira, JM Annichino-Bizzacchi, S Appenzeller, BMM Fonseca, FLA Orsi

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

As células dendríticas plasmocitoides (pDCs) produzem grandes quantidades de interferon (IFN)-1, mediando a resposta imune. O papel das pDCs nos mecanismos patológicos associados aos anticorpos antifosfolípídes (aPL) não está elucidado. Esse estudo caso-controle determinou a frequência e atividade das pDCs em diferentes formas de síndrome antifosfolípíde (SAF), e avaliou a expressão relativa de cinco genes indutores de INF-1: ISG15, OASL, LY6E, MX1 e OAS1. Foram utilizadas amostras de 50 pacientes com SAF trombótica primária, 47 pacientes com SAF trombótica secundária, 19 portadores de aPL assintomáticos e 50 indivíduos sem trombose (controles). As pDCs e a expressão intracelular de IFN- α (com e sem estímulo de oligodesoxinucleotídeos [CPG]) foram quantificadas por citometria de fluxo. A expressão relativa em monócitos dos genes indutores de INF-1 foi quantificada por qPCR. A frequência de pDCs foi semelhante entre controles (mediana 0,2%, intervalo interquartil [IQR] 0,1-0,2), aPL+ assintomático (0,2%; 0,1-0,3) e SAF primária (0,1%; 0,1-0,2); porém, as pDCs estavam diminuídas na SAF secundária (0,1%; 0,1-0,1, $p < 0,0001$). A expressão basal de IFN- α intracelular esteve aumentada na SAF secundária (3,0%; 2,6-3,6) em relação a SAF primária (2,6%; 2,0-3,4), aPL+ (2,3%; 2,1-2,9), controles (2,5; 2,1-3,2; $p = 0,008$). Após estímulo com CPG, a mudança na expressão de IFN- α

intracelular foi maior na SAF primária (0,9%, 0,5-1,2), secundária (1,5%; 1,0-2,0), em comparação com aPL+ assintomático (0,6%; 0,4-0,8), controles (0,4%; 0,2-0,7; $p < 0,0001$). A expressão relativa dos genes indutores de INF-1 foi maior nos pacientes com SAF secundária, em relação aos outros grupos. A expressão relativa de ISG15 foi: 0,8% (0,3-4,6) em controles, 1,5% (0,5-9,7) em aPL+, 0,5% (0,4-2,9) na SAF primária, 4,8% (1,6-14,5) na SAF secundária; $p < 0,0001$. A expressão relativa de OASL foi: 0,5% (0,2-1,8) em controles, 0,9% (0,4-4,7) em aPL+, 0,4% (0,3-1,5) na SAF primária, 2,5% (0,8-7,8) na SAF secundária; $p < 0,0001$. O LY6E 0,7% (0,5-0,9) para controles, 1,1% (0,7-2,6) para portadores de aPL, 0,8% (0,6-1,1) em SAF primária e 3,3% (0,9-6,6) para SAF secundária; $p < 0,0001$. O MX1 0,7% (0,4-1,0) para controles 0,9% (0,5-2,5) para portadores de aPL, 0,6% (0,4-1,0) para SAF primária e 3,1% (1,1-8,2) para SAF primária; $p < 0,0001$. O OAS1 0,6% (0,3-4,2) nos controles, 1,3% (0,4-17,9) em aPL positivos, 0,6% (0,3-4,7) SAF primária, 2,2% (0,8-6,9) na SAF secundária; $P = 0,005$. Neste estudo, observamos aumento da expressão intracelular de IFN- α e dos genes indutores de INF-1 nos pacientes com SAF secundária, e maior reativação da via do IFN- α após estímulo em pacientes com SAF primária. Esses resultados confirmam a participação do sistema imune inato (SII) no processo patológico tanto nas doenças autoimunes sistêmicas, quanto nos casos primários. Entretanto, tal estímulo da imunidade inata parece não estar relacionado a presença isolada dos anticorpos, uma vez que a expressão do INF não estava aumentada nos aPL+ assintomáticos. O SII parece participar da patogênese da SAF por estímulos adicionais a presença de aPL. Os mecanismos que levam indivíduos aPL+ a desenvolverem SAF são pouco elucidados, e esses resultados sugerem que a atividade do SII pode ser um fator determinante nas manifestações clínicas de SAF nesses indivíduos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.407>

BUDD-CHIARI SYNDROME IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS: A SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW

TL Correa^a, MSTC Guelli^b

^a Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brazil

^b Centro Universitário de Volta Redonda (UniFOA), Volta Redonda, RJ, Brazil

Objective: Budd-Chiari syndrome (BCS) is characterized by hepatic venous outflow obstruction that can lead to hepatic congestion, portal hypertension, ascites, esophageal varices, and liver failure. This syndrome is deeply associated with acquired or inherited hypercoagulation states; such as myeloproliferative disorders, factor V Leiden, deficiency of protein C, pregnancy, and systemic inflammation. Ulcerative colitis (UC) is an inflammatory bowel disease that leads to chronic systemic inflammation. Therefore, the aim of this study was to conduct a systematic literature review to analyze the association between Budd-Chiari syndrome and ulcerative colitis. **Materials and methods:** A systematic literature review was conducted following the Preferred Reporting Items for