

released from the droplets and fixed for cytometry analysis using P-selectin and PAC-1 end-points. For the small clinical study (chest infection and fractured neck of femur), ethics approvals were obtained (IRAS: 321105 /REC: 14/SC/0211) and droplets were generated only containing PRP and analyzed as described above. **Results and discussion:** We detected hyper-reactive platelets by comparing the responses of single platelets confined in droplets (single) with bulk platelet responses (collective) experiments. In bulk experiments, these hyper-reactive platelets cooperate by paracrine signalling to increase system-level sensitivity, highlighting the importance of hyper-reactive platelets. TPO priming increased platelet reactivity to ADP, but not to convulxin, implying the coupling of priming pathways with P2Y12 receptor activation by ADP, but not GPVI receptor activation by convulxin. By test-driving droplet cytometry with at-risk patient cohorts, we found one chest infection patient with elevated platelet reactivity and one fractured neck of the femur patient with increased platelet sensitivity. Bulk cytometry did not detect these characteristics, indicating that paracrine signalling masks hyper-reactive and hyper-sensitive platelets. **Conclusion:** Droplet cytometry can be used to detect hyper-reactive platelets by excluding paracrine signalling and warrants further investigation to assess the potential for predicting thrombosis risk in the clinic.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1011>

EXPLORATION OF PURINERGIC SIGNALING PATHWAYS AS A MECHANISM OF PLATELET ACTIVATION IN ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

BC Jacintho-Robison ^a, G Leonardi ^a,
BM Mazetto ^b, JD Oliveira ^a, FZ Monica ^a,
FA Orsi ^a

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Campinas, SP, Brazil

^b University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

Background: We have previously demonstrated hyperreactivity to ADP, overexpression of the P2Y12 receptor, and reduced intracellular levels of cAMP and cGMP in platelets from Antiphospholipid Syndrome (APS) patients, suggestive of purinergic signaling activation. A possible explanation could be impaired adenosine pathways, since adenosine limits platelet activation by increasing intracellular cAMP via its A2A and A2B receptors. **Aims:** To evaluate the action of Adenosine Receptors (AR) on platelet activity in thrombotic primary APS (t-PAPS). **Methods:** t-PAPS and healthy volunteers were included. Platelet-rich plasma was used to evaluate platelet aggregation (induced by ADP 3 μ M and collagen 1 μ g/mL). Washed platelets (1×10^8 platelets/mL) were used to assess platelet activity (CD62P expression and CD41/CD61) induced by thrombin 0.005U in flow cytometry. CD62P or P-selectin, plays a key role in cell adhesion during neutrophil rolling and interactions between platelets and neutrophils and monocytes. CD41/CD61 or PAC-1, is a ligand-binding site for fibrinogen, von Willebrand factor, fibronectin, and vitronectin.

Adenosine, NECA (stable adenosine analogue), CGS21680 (A2A receptor agonist) were used to evaluate adenosine pathway signaling. These are potent inhibitors of ADP-induced platelet aggregation and enhance the effects of P2Y12 antagonists. **Results:** A total of 53 t-APS and 63 controls were included, women were 74% of t-PAPS and 71% of controls. The median age was 46 years (IQR 37–55) for t-PAPS and 43 years (IQR 32–51) for controls ($p=0.16$). Notably, 25% of t-PAPS patients were triple-positive for antiphospholipid antibodies. Adenosine 1 μ M inhibited ADP-induced aggregation by 19% (IQR 7%–48%) in t-PAPS and 38% (IQR 17%–61%; $p=0.04$) in controls. Adenosine 10 μ M inhibited 75% (IQR 64%–88%) of ADP-induced aggregation in t-PAPS and 84% (IQR 76%–92%; $p=0.01$) in controls. Adenosine 10 μ M also inhibited collagen-induced platelet aggregation by 91% (IQR 73%–94%) in t-PAPS and 94% (IQR 88%–98%; $p=0.03$) in controls. CGS21680 1 μ M inhibited ADP-induced aggregation by 50% (IQR 28%–73%) in t-PAPS and 67% (IQR 41%–83%; $p=0.03$) in controls. CGS21680 10 μ M inhibited ADP-induced aggregation by 79% (IQR 69%–85%) in t-PAPS and 88% (IQR 79%–93%; $p=0.02$) in controls. In flow cytometry analysis, CGS21680 at 10 μ M inhibited P-selectin expression by 12% (IQR 3%–18%) in t-PAPS and 18% (IQR 9%–30%, $p=0.05$) in controls. NECA at 10 μ M inhibited P-selectin expression by 13% (IQR 6%–24%) in t-PAPS and 22% (IQR 11%–35%; $p=0.04$) in controls. CGS21680 at 10 μ M also inhibited PAC-1 expression by 25% (IQR 17%–37%) in t-PAPS and 30% (IQR 23%–52%; $p=0.02$) in controls. NECA at 10 μ M inhibited PAC-1 expression by 27% (IQR 18%–42%) in t-PAPS and 35% (IQR 27%–58%; $p=0.01$) in controls. **Discussion:** Platelets from patients with t-PAPS exhibited resistance to the inhibition effects of adenosine, CGS21680, and NECA. This resistance was observed in two distinct functional assays: platelet aggregation and cytometry. This observation raises the hypothesis that the activation of purinergic signaling in platelets from APS patients may be explained by a reduction in the regulatory activity of adenosine pathway. **Conclusion:** Platelets from patients with t-PAPS display resistance to platelet inhibition via the adenosine pathway. The stimulation of adenosine pathway may form a potential therapeutic option to control hypercoagulability in APS.

Acknowledgments: Sao Paulo Research Foundation FAPESP (2023/07899-0).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1012>

RISCO TROMBÓTICO E MORTALIDADE EM PACIENTES COM SUSPEITA DE TROMBOCITOPENIA INDUZIDA PELA HEPARINA (HIT)

MVA Azevedo, MIG Migueis, B Stefanello,
C Rothschild, E Okazaki, POP Prestes,
PR Villaza, TRF Rocha, VG Rocha, FA Orsi

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP,
Brasil

Objetivo: Avaliar uma coorte de pacientes com suspeita de HIT, comparando ocorrência de trombose, sangramento ou morte entre pacientes com confirmação ou não diagnóstica.

Métodos: Estudo retrospectivo que avaliou pacientes com suspeita de HIT (escore 4T intermediário ou alto) que foram submetidos aos exames para o diagnóstico no Laboratório de Coagulação da Hematologia do HCFMUSP entre 2018 e 2024. **Critérios de exclusão:** Sem uso prévio de heparina, testes inconclusivos, ausência de informações clínicas. Para diagnóstico de HIT são realizados os testes imunoturbidimétrico e, caso este seja positivo, o teste funcional por agregação plaquetária induzida por heparina. Avaliada a incidência em 90 dias de trombose confirmada por imagem, sangramento ou morte. **Resultados:** Coorte de 118 pacientes, em que 81 tinham teste imunológico negativo (imuno neg.), 15 teste imuno positivo e funcional negativo (funcional neg.) e 22 tiveram HIT confirmada (imuno e funcional positivos). A mediana de idade foi 63 anos, sendo 53% do sexo masculino e 54% com comorbidades de risco cardiovascular e 5,6% com neoplasia. Não houve diferença basal entre os grupos. Heparina não fracionada em dose profilática foi a mais utilizada. 71% estavam em internação clínica e 29% cirúrgica. Internação clínica por COVID-19 foi predominante nos pacientes com teste imuno pos./funcional neg. ($p=0,03$) e internação para cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea foi predominante entre os pacientes com HIT confirmada ($p=0,04$). Todos os pacientes eram críticos, sendo que a maioria estava em uso de droga vasoativa e 43% em ventilação mecânica, sendo a frequência desta menor nos casos de HIT confirmada em comparação com os com teste imuno pos./funcional neg. (32 vs. 67%, $p=0,05$). A heparina foi suspensa em todos após a suspeita de HIT, sendo reintroduzida em 61% dos pacientes HIT negativos. Os demais pacientes reintroduziram anticoagulação com fondaparinux ou rivaroxaban. A maioria (83%) dos pacientes teve recuperação plaquetária, independente da confirmação da HIT. Complicações hemorrágicas ocorreram em 17% dos pacientes e foram semelhantes entre os grupos. Trombose ocorreu em 32% dos pacientes, sendo 19% entre os imuno neg., 53% entre os imuno pos./funcional neg. e 68% entre os HIT positivos ($p < 0,001$). A maioria das trombozes aconteceu em vigência de plaquetopenia (75%). Diferente dos demais grupos, os pacientes com HIT confirmada tiveram trombose logo após o início da plaquetopenia (mediana 1 dia vs. 6 e 11 dias nos demais grupos, $p=0,002$). A mortalidade em 90 dias foi de 29%, sendo semelhante entre os três grupos. A principal causa de óbito foi sepse (78%). **Discussão:** A incidência de trombose é alta em pacientes com suspeita de HIT, mesmo entre aqueles em que a doença não é confirmada. Entretanto, pacientes com HIT tiveram trombose muito próximo à queda da contagem plaquetária, o que reforça a correlação entre essas complicações. Nos pacientes em que HIT foi excluída, a gravidade do quadro clínico pode justificar a alta incidência de trombose, o que ressalta a importância da manutenção da profilaxia quando os níveis plaquetários forem permissivos uma vez que o risco hemorrágico foi baixo. **Conclusão:** Pacientes com suspeita de HIT têm alto risco trombótico, independente da confirmação da doença. Devido a rápida instalação do quadro, o diagnóstico e tratamento precoces da HIT são fundamentais para evitar a sobreposição de fatores que podem piorar o prognóstico do paciente.

PROJETO FLUIR: ANÁLISE PRELIMINAR DO PERFIL DOS PACIENTES EM USO DE VARFARINA EM UM MUNICÍPIO DO SUL DE MINAS GERAIS

JC Sá^a, MVD Santos^b, YDS Louzano^b, KCCR Silva^b, CC Dutra^c, R Tognon-Ribeiro^d, IBR Gomes^e, TMD Reis^d, LS Nogueira^d

^a *Doutoranda em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, MG, Brasil*

^b *Graduandas em Farmácia, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, MG, Brasil*

^c *Mestranda em Assistência Farmacêutica, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, MG, Brasil*

^d *Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, MG, Brasil*

^e *Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, MG, Brasil*

Objetivos: A varfarina é um anticoagulante amplamente empregado na prevenção dos riscos primários e secundários de eventos tromboembólicos, sendo sua efetividade e segurança mensurada através da Razão Normalizada Internacional (RNI). Considerando as peculiaridades do tratamento com varfarina, devido ao seu baixo índice terapêutico e ocorrência de diversas interações medicamentosas e/ou alimentares, o acompanhamento multidisciplinar se torna relevante para estes pacientes. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi realizar uma avaliação preliminar do perfil dos pacientes usuários de varfarina atendidos no Projeto FLUIR.

Material e métodos: Trata-se de um estudo transversal que avaliou o perfil sociodemográfico e clínico de 23 pacientes, que realizaram a primeira consulta farmacêutica entre fevereiro e julho/2024, no serviço de gestão da anticoagulação ofertado na Farmácia Universitária de uma universidade pública do sul de Minas Gerais, Brasil. Foram coletadas as características sociodemográficas (sexo, idade e escolaridade) e história clínica (indicação e início do tratamento com varfarina, faixa terapêutica e resultados anteriores de RNI). Foi calculado o tempo de permanência na faixa terapêutica (TTR) nos seis meses anteriores à admissão dos pacientes e foram aplicados os seguintes instrumentos: *Short Assessment of Health Literacy for Portuguese-speaking Adults* (SAHLPA-18), para avaliar o letramento em saúde; *Measure Adherence to Treatment* (MAT), para avaliar adesão ao tratamento com varfarina; e *Oral Anti-coagulation Knowledge* (OAK), para avaliar o conhecimento sobre a anticoagulação. A análise estatística foi realizada no *GraphPad Prism 8*. **Resultados:** A maioria dos pacientes era do sexo feminino (52,2%), apresentava baixa escolaridade (52,2% – ≤ 8 anos de estudo), com idade média de 54,6 anos ($DP=13,5$) e com indicação de varfarina devido à trombose venosa profunda (30,4%). A mediana para o tempo de tratamento foi de 72,0 meses ($IQR=84$; $máx=348,0$, $min=4,0$) e a do TTR foi de 52,0% ($IQR=38,0$; $máx=100,0$, $min=17,1$), com 04 pacientes sem exames de RNI nos últimos 180 dias. Em relação ao testes SAHLPA-18, MAT e OAK, as medianas foram