

Título: Obtenção de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) em um equino por técnica de centrifugação

Autor(es) Ursula Raquel do Carmo Fonseca da Silva*; Carla Ignez Ortega Schmitt; Elmo Correa Júnior

E-mail para contato: ursularaquel@ibest.com.br

IES: UNESA

Palavra(s) Chave(s): Plasma Rico em Plaquetas; Fatores de Crescimento; Equino

RESUMO

As plaquetas atuam na hemostasia, na cicatrização de feridas e na neovascularização. Elas liberam diversos fatores de crescimento que estimulam a angiogênese, promovendo crescimento vascular e proliferação de fibroblastos, que, por sua vez, proporcionam aumento na síntese de colágeno. Fatores de crescimento (FCs) são polipeptídeos específicos, presentes no plasma e em tecidos, que regulam a diferenciação e a proliferação celulares e, portanto, a regeneração de tecidos. Nos últimos anos tem surgido interesse crescente na utilização desses fatores de crescimento derivados das plaquetas, que são facilmente isolados a partir de uma amostra de sangue periférico do qual é retirado o plasma rico em plaquetas (PRP). As primeiras formas de extração do plasma rico em plaquetas foram desenvolvidas através do uso de "kits" próprios para obtenção de PRP, entretanto, os custos elevados dessa técnica, ainda limitam o seu uso como método viável de obtenção deste biomaterial. Recentemente, têm-se conseguido a obtenção do PRP com custos menores e utilizando-se de centrífugas convencionais. Embora mais trabalhosos, os protocolos simplificados permitem a preparação do PRP com custo dez vezes menor e em ambientes mais simples. Para ser considerado PRP, a concentração mínima deve ser de 500.000 a 1.000.000 plaquetas por μL , ou ainda, possuir aumento de 300 a 400% de plaquetas em relação à quantidade presente no sangue periférico. Com o objetivo de obter uma técnica de obtenção de PRP economicamente viável e confiável, inserindo o campus Vargem Pequena da UNESA, como um Centro de Referência na obtenção e fornecimento de PRP autólogo, reproduziu-se uma técnica de obtenção de PRP, através da metodologia de duas centrifugações, conforme descrito em alguns dos trabalhos pesquisados. Foram coletados 60 mL de sangue venoso de um equino atendido na Policlínica Escola de Medicina Veterinária da Universidade Estácio de Sá, campus Vargem Pequena/RJ, com histórico de uma grave ferida cutânea crônica na nuca, em decorrência de trauma. O animal foi devidamente atendido e a indicação terapêutica foi cirúrgica. A coleta de sangue ocorreu no dia da cirurgia, sendo o material coletado acondicionado em 20 tubos de citrato de sódio a 3,2% e submetido à análise quantitativa através do contador de células automático da marca ABX micros 60. De acordo com a análise, a plaquetometria do animal foi de 163.000/ μL . Em seguida, foi realizada a primeira centrifugação do sangue, a 2000 rpm durante 10 minutos, obtendo-se duas colunas, uma inferior de cor vermelha, contendo hemácias e outra superior, amarela, com plasma e plaquetas. Em seguida, a camada superior e a zona de névoa (estreita faixa esbranquiçada entre as duas colunas) foram aspiradas com auxílio de uma seringa de 10 mL com agulha 40x12mm e acondicionados em outro tubo estéril de 10 mL, sendo realizada uma nova análise quantitativa, com a qual obteve-se a contagem plaquetária de 149.00/ μL . O material foi novamente submetido a uma segunda centrifugação, a 3000 rpm durante 10 minutos, a fim de se obter o plasma pobre em plaquetas e um botão eritrocitário-plaquetário no fundo do tubo. Foram retirados dois terços do volume do plasma pobre em plaquetas e o material restante foi agitado, obtendo-se o plasma rico em plaquetas, que foi submetido a uma nova contagem plaquetária, obtendo-se como resultado 773.000/ μL , o que demonstrou um aumento porcentual da concentração plaquetária no PRP em relação ao sangue total de cerca de 470%. Conclui-se que, com a metodologia realizada, foi possível obter concentrações plaquetárias superiores a 500.000 plaquetas/ μL , o que para alguns autores são suficientes para o preparo do PRP, entretanto ainda não foi possível obter uma concentração plaquetária 6 a 7 vezes superior à da amostra de sangue, o que é obtido com os "kits" específicos de obtenção de PRP.